

本文引用: 李泽威, 汤 洋, 宋 浩, 黄 仪, 谭 洋, 邝 鸣, 裴 刚. 从程序性细胞死亡的分子机制中探讨中药活性成分干预肝纤维化研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(10): 2007–2020.

从程序性细胞死亡的分子机制中探讨中药活性成分干预肝纤维化研究

李泽威^{1,2}, 汤 洋^{1,2}, 宋 浩^{1,2}, 黄 仪¹, 谭 洋^{1,2}, 邝 鸣^{1,2*}, 裴 刚^{1,2*}

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南省普通高等学校中药现代化研究重点实验室, 湖南 长沙 410208

〔摘要〕肝纤维化是多种慢性肝病进展至肝硬化乃至肝癌的关键病理环节,其特征是细胞外基质的过度沉积。相关研究表明,肝细胞经历不同形式的程序性细胞死亡(PCD),包括凋亡、坏死性凋亡、自噬、焦亡、铁死亡、铜死亡等,这些死亡方式加剧炎症反应与纤维化进程。而中药活性物质在调控 PCD 干预肝纤维化方面有着显著疗效。因此,本文总结了不同 PCD 通路的发生机制和中药活性成分干预的机制研究进展,以期中药活性物质调节各 PCD 治疗纤维化的研究提供科学依据。

〔关键词〕程序性细胞死亡;肝纤维化;分子机制;中药;活性成分

〔中图分类号〕R285

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.10.030

Exploring the intervention of active ingredients from Chinese medicines in liver fibrosis through the molecular mechanisms of programmed cell death

LI Zewei^{1,2}, TANG Yang^{1,2}, SONG Hao^{1,2}, HUANG Yi¹, TAN Yang^{1,2}, KUANG Ming^{1,2*}, PEI Gang^{1,2*}

1. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Key Laboratory of Modern Research of TCM, Education Department of Hunan Province, Changsha, Hunan 410208, China

〔Abstract〕Liver fibrosis is a key pathological link in the progression of various chronic liver diseases to cirrhosis and even liver cancer, characterized by excessive deposition of extracellular matrix. Studies have shown that hepatocytes undergo different forms of programmed cell death (PCD), including apoptosis, necroptosis, autophagy, pyroptosis, ferroptosis, and cuproptosis, which exacerbate the inflammatory responses and accelerate the fibrotic process. Active ingredients derived from Chinese medicines have shown significant efficacy in regulating PCD to intervene in liver fibrosis. Therefore, this paper summarizes the mechanistic roles of the aforementioned PCD forms in the progression of liver fibrosis and reviews recent research progress on active ingredients derived from Chinese medicines that target these pathways. The aim is to offer a scientific basis for the prevention and treatment of fibrosis using Chinese medicine.

〔Keywords〕programmed cell death; liver fibrosis; molecular mechanism; Chinese medicines; active ingredients

肝纤维化是慢性肝病损伤的特征性病理过程,其根源在于慢性病毒性肝炎、酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)以及与肥胖相关的非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)等

〔收稿日期〕2025-05-02

〔基金项目〕国家自然科学基金面上项目(82174271);湖南省教育厅科学研究项目(24B0336)。

〔通信作者〕*裴 刚,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:002173@hnuem.edu.cn;邝 鸣,男,博士,讲师,E-mail:004956@hnuem.edu.cn。

持续性肝损伤,激活静止的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)转化为纤维细胞分泌大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM),尤其是 I 型和 III 型胶原蛋白在细胞外间质中过度沉积使肝实质结构发生变化,破坏肝脏正常的组织结构,损害肝脏功能。除了 HSC,肝细胞、库普弗细胞(Kupffer cells, KCs)和肝窦内皮细胞之间的复杂相互作用构成肝纤维化的细胞网络^[1]。如果治疗不当,肝纤维化可能导致肝衰竭和肝细胞癌。

然而,临床上公认有效的肝纤维化治疗药物较少^[2],因此阐明其分子机制并确定新的候选药物至关重要。程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)作为调控细胞死亡的一个亚群,包括发育和组织稳态背景下的经典细胞凋亡,以及发生在外源性或内源性扰动微环境下的其他形式,极大地有助于宿主免受病原体的侵害、维持体内平衡和参与病理过程^[3-4]。肝纤维化中不同类型的细胞死亡表明,PCD 可能是肝纤维化形成和进展的原因。而中药活性物质抑制 HCS 转化为非活化状态,缓解肝脏损伤,促进 ECM 的降解和吸收,逆转肝纤维化。因此,本文对肝纤维化中 PCD 最新进展进行总结,以期对阐明中药活性物质调控 PCD 治疗肝纤维化过程提供新思路。

1 凋亡与肝纤维化

1.1 凋亡

凋亡的概念早在 20 世纪 70 年代就被 KERR 等提出^[5],发生凋亡的细胞形态表现为细胞整体收缩、核固缩和核分裂,形成膜包裹的凋亡小体,最终被常驻的吞噬细胞吞噬,而不影响细胞质膜的完整性^[6]。细胞凋亡的中心信号通路包括一组被称为半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspases)的半胱氨酸蛋白酶,促凋亡信号触发的蛋白水解和加工级联反应激活 Caspase。Caspase 分为 3 类:凋亡效应酶(Caspase-3、6、7)、凋亡启动酶(Caspase-2、8、9、10)和炎性Caspases。前两组 Caspase 相互作用并决定细胞凋亡,启动 Caspase-8、9、10 响应上游适配器分子的信号被激活时,效应物 Caspase-3 和 7 介导某些底物的切割。

凋亡发生的外源途径通过激活由肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)超家族细胞因子包括TNF、Fas 配体(fas ligand, FasL)、TNF 相关的凋亡诱导配

体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)与各自的死亡受体肿瘤坏死因子受体 1(tumor necrosis factor receptor 1, TNFR1)、Fas 受体(fas receptor, Fas)和死亡受体 4(death receptor 4, DR4)或死亡受体 5(death receptor 5, DR5)结合产生一系列信号转导引发外源性细胞凋亡^[7]。经典信号通路为 TNF 与 TNFR1 的结合形成含有 TNFR1 的膜信号转导 Complex I (Complex I),由肿瘤坏死因子受体相关死亡结构域蛋白(TNF receptor-associated death domain protein, TRADD)^[8]、肿瘤坏死因子受体相关因子 2 (TNF receptor associated factor 2, TRAF2)、细胞凋亡蛋白的细胞抑制剂(cellular inhibitor of apoptosis proteins, cIAP),以及受体相互作用蛋白激酶 1(receptor-interacting protein kinase 1, RIPK1)组成。膜信号转导Complex I 具有促进核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号通路激活诱导编码抗凋亡蛋白^[9],促存活因子和细胞型 Fas 相关死亡域样白细胞介素-1 β 转换酶抑制蛋白(cellular FLICE-like inhibitory protein, c-FLIP)^[10]和抗凋亡蛋白(Bcl-2 家族成员)^[11]基因转录,抑制细胞凋亡的发生。为了启动 TNFR1 介导的细胞凋亡,膜相关 Complex I 必须转化为细胞溶质信号Complex II。细胞溶质信号Complex II 包括 Fas 相关死亡域蛋白(Fas-associating via death domain, FADD)、RIPK1 和Caspase-8^[12]。激活的Caspase-8 会切割Caspase-3/7 以启动细胞凋亡^[13]。细胞凋亡内源途径为线粒体途径,是由细胞内部干扰(如氧化应激、DNA 或线粒体损伤)激活的。内源性细胞凋亡是由线粒体释放到细胞质中的凋亡蛋白,包括 Bax 家族(Bax、Bak、Bok)以及 BH3 家族(Bid、Bim、Bik、Bad、Bmf、Hrk、Noxa 和 PUMA)和抗凋亡蛋白(包括 Bcl-2 家族(Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-W、Mcl-1 和 A1)的平衡被破坏,与下游分子作用而引发的^[14]。在线粒体的膜间隙中的细胞色素 c 协同线粒体依赖性中枢介质,诱导凋亡酶激活因子(apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1)变构激活和寡聚化,特异性激活 Caspase-9 形成凋亡体,标志着Caspase 级联反应的起始^[15]。在缺乏抗凋亡蛋白的情况下,包括 Bid、Bim 和 PUMA 在内的凋亡激活剂可以直接结合并激活 Bax 和 Bak^[16]。虽然细胞凋亡被认为是一种程序性死亡途径,然而,凋亡信号通路的异常会导致

或加剧多种疾病,例如癌症、感染性疾病、心血管疾病以及神经退行性疾病和自身免疫性疾病^[17]。在 DNA 损伤及其他不利环境刺激下,正常细胞可启动凋亡程序,进行自我清除^[18]。细胞凋亡机制的总结见图1。

1.2 通过作用凋亡影响肝纤维化的中药活性物质研究

在各类 PCD 过程中,凋亡是清除活化 HSC 最重要和最自然的方式。白藜芦醇(resveratrol, RSV)减少 CCl₄ 诱导的肝纤维化大鼠肝组织胶原沉积,降低 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)和炎症因子表达,RSV 显著降低了切割的Caspase-3、Caspase-7 和 Caspase-12、Bax 和 Bak 的水平,同时促进抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,缓解肝纤维化进程^[19]。四逆散降低了肝纤维化小鼠血清中的天冬氨酸氨基转移酶、丙氨酸氨基转移酶和总胆红素水平,降低 Caspase-8 和 Bcl-2/Bax 蛋白表达的比例,并改善了肝纤维化小鼠的细胞凋亡情况,缓解肝纤维化^[20]。其中,四逆散中活性成分异鼠李素抑制人肝癌细胞系 HepG2 发挥抗凋亡作用逆转肝损伤^[20]。黄芪多糖减少肝癌细胞内 O-乙酰葡萄糖胺糖基化翻译后修饰水平,增强内质网应激,激活凋亡通路,抑制肿瘤生长^[21];川芎嗪抑制 Bcl-2 的表达,促进 Bax

增加线粒体外膜通透性,细胞色素 c 激活 Caspase 级联反应,诱导肝细胞凋亡^[22]。鳖甲煎改良方诱导 HSC 细胞周期停滞于 G₁ 期,这不仅抑制了细胞增殖以及诱导其凋亡,阻断了转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)信号通路,最终减少 ECM 的合成^[23]。

2 坏死性凋亡与肝纤维化

2.1 坏死性凋亡

坏死性凋亡以 TNF- α 为代表的 TNF 家族细胞因子与其相应的膜受体结合,进而激活胞内受体相互作用丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1 (receptor-interacting protein 1, RIP1)/RIP3 激酶及其下游的混合谱系激酶结构域样蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL),并最终导致细胞坏死的一种死亡信号通路^[24]。TNF- α 与细胞膜表面 TNF 受体 TNFR1 相结合,通过其死亡结构域 DD 和 TRADD 的死亡结构域 DD 相互作用^[25],然后募集 RIP1^[26]、cIAP1/cIAP2^[27]、TRAF2/TRAF5^[27]以及线性泛素连接酶复合体(the linear ubiquitin chain assembly complex, LUBAC),形成 Complex I。Complex I 会进一步结合转化生长因子激酶 1(transforming growth factor- β -activated kinase 1, TAK1)-TAB(TAK1-binding protein)复合物以及 I κ B 激酶(inhibitor of kappa B kinase, IKK)复合物,激活 NF- κ B 相关信号通路以及

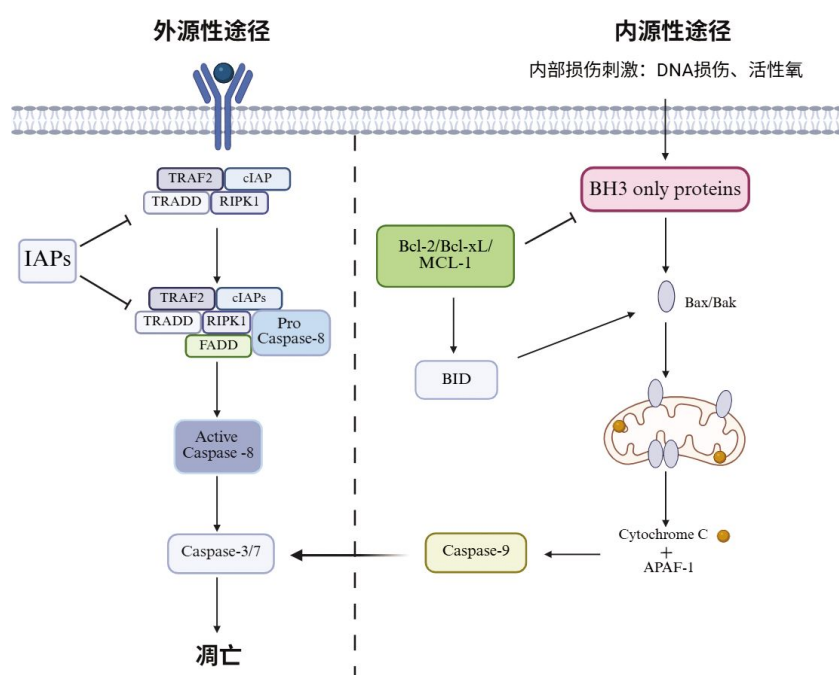


图1 细胞凋亡的机制

Fig.1 Mechanism of apoptosis

释放炎症因子,抑制细胞免凋亡^[28]。在 Complex I 中, RIP1 会被 E3 泛素化酶 TRAF2/3/5/6 介导 K63 泛素化, cIAPs 也能够泛素化 RIP1, 使 RIP1 形成 K48 链, 而 Smac 或其类似物可以诱导 cIAP 降解进而导致 RIPK1 的去泛素化。RIP1 被泛素化修饰酶切割是细胞进入死亡通路的前提^[29], 影响 Complex I 的稳定, 刺激 RIP1 从细胞膜进入胞质与 TRADD、FADD 和 Caspase-8 的前体重新组合形成 Complex II, 这一蛋白复合体会进一步使 Caspase-8 的前体成为激活的 Caspase-8, 开启细胞凋亡通路^[30]。然而, 当 Caspase-8 被敲除或被 Caspase 抑制剂 z-VAD 抑制, 导致受体结合丝氨酸苏氨酸激酶 3 (receptor-interacting serine-threonine kinase 3, RIPK3) 寡聚化和自身磷酸化作为坏死性凋亡的关键步骤进一步募集其下游靶标 MLKL^[31]。MLKL 是具有激酶样结构域但长期处于无活性状态的假激酶^[32], 与活化的 RIPK3 结合使其位点发生磷酸化^[33], 这些磷酸化位点位于其假激酶结构域的一个 α -螺旋 (α -helix) 上。磷酸化的 MLKL 使得其 N 端的 α -helix 得以释放, MLKL 的氨基末端四螺旋束暴露出来, 进一步导致了 MLKL23 的寡聚化^[34-35]。寡聚化的 MLKL 能够与带负电荷的磷脂结合, 包括心磷脂和高度磷酸化的邻苯二酚磷酸酯分子 IP6, 这导致磷酸化的 MLKL 与膜结合并将其氨基末端插入各种细胞器膜和质膜^[36-37], 促进细胞膜穿孔并最终导致坏死性凋亡^[38-39]。因此, RIPK3 激活 MLKL 是坏死性凋亡的关键调控途径, MLKL 的磷酸化已成为坏死性凋亡的生物标志物。最近的研究表明, Caspase-8 不仅在控制凋亡和坏死性凋亡的过程中起作用, 还能通过激活焦亡通路诱发炎症发生, 该激活过程并不需要 Caspase-8 的酶活性, 从而产生成熟并且具有强烈促炎作用的细胞因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和白细胞介素-18 (interleukin-18, IL-18), 并将其通过焦亡执行蛋白 Gasdermin D (GSDMD) 孔道释放到细胞外, 引发焦亡^[40]。在坏死性凋亡细胞死亡中, 免疫细胞识别损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs), 从而引发炎症以消除有害细胞并修复受损细胞。如果炎症通路失控, 则可能导致长期不必要的炎症, 引发癌症、帕金森病、多发性硬化症以及肺部、肝脏和心脏疾病等^[41]。与凋亡细胞死亡可以在不破坏质膜的情况下有效去除死细胞不同的是,

坏死性细胞死亡会导致“渗漏”并随后释放细胞内成分。接种坏死性癌细胞的小鼠可激发免疫细胞抗肿瘤反应。坏死性凋亡细胞死亡期间 RIPK1 表达以及 NF- κ B 激活是其发挥抗肿瘤免疫所必需的^[42]。目前已经鉴定出多种靶向 RIPK1 和 RIPK3 的小分子, 包括一些经临床批准用于癌症治疗药物^[43]。细胞坏死性凋亡机制的总结见图 2。

2.2 通过作用坏死性凋亡影响肝纤维化的中药活性物质研究

坏死性凋亡中 DAMPs 激活肝脏 Kupffer 细胞分泌大量 TNF- α 、IL-1 β 和 TGF- β 等刺激 HSC 活化促纤维化因子, 加重 ECM 沉积。在 NASH、ALD 等多种慢性肝病模型中, 坏死性凋亡核心分子 RIPK3、p-MLKL 的表达显著上调, MLKL 通过调控 TGF- β /Smad 直接促进 HSC 的活化^[44]。姜黄醇抑制 HSC 增殖和激活, 通过 JNK1/2 增加线粒体活性氧 (reactive oxygen, ROS) 和线粒体去极化促进 RIPK1/RIPK3 坏死小体的组装, 最终导致 HSC 的坏死性凋亡^[45]。此外, 姜黄醇还能通过沉默信息调节因子 1 (sirtuin 1, SIRT1) 通路诱导内质网应激, 清除被激活的 HSC^[46]。益气健脾可以下调急慢性肝衰竭细胞模型中 RIPK1、RIPK3 和 MLKL 的表达, 抑制 RIPK1/RIPK3 进入坏死小体的迁移, 减少线粒体 ROS 的产生来阻断坏死性凋亡信号, 减轻肝细胞死亡和炎症反应^[47]。

3 自噬与肝纤维化

3.1 自噬

自噬是细胞内部的一种“自我消化”普遍过程, 通过溶酶体依赖性清除途径选择性降解细胞内大分子复合物及亚细胞结构, 以实现循环利用、维持细胞稳态和应对各种应激中发挥着核心作用^[48]。自噬分子能直接与细胞死亡分子相互作用, 或自噬通过动态自噬功能引发细胞凋亡、坏死和铁死亡^[49-50]。当细胞处于营养匮乏、缺氧或接收到其他应激信号时, 激活 unc-51 样激酶 1 复合物和 I 类磷脂酰肌醇 3-激酶协同形成隔离膜。依赖于自噬相关蛋白 12-自噬相关蛋白 5 复合物和微管相关蛋白轻链 3 (microtubule-associated-protein light-chain-3, LC3) 两个泛素样结合系统形成一个封闭的双层膜结构, 称为自噬体^[51]。成熟的自噬体随后与溶酶体融合, 形成自噬溶酶体 (autolysosome)^[52]。溶酶体内的蛋白酶、

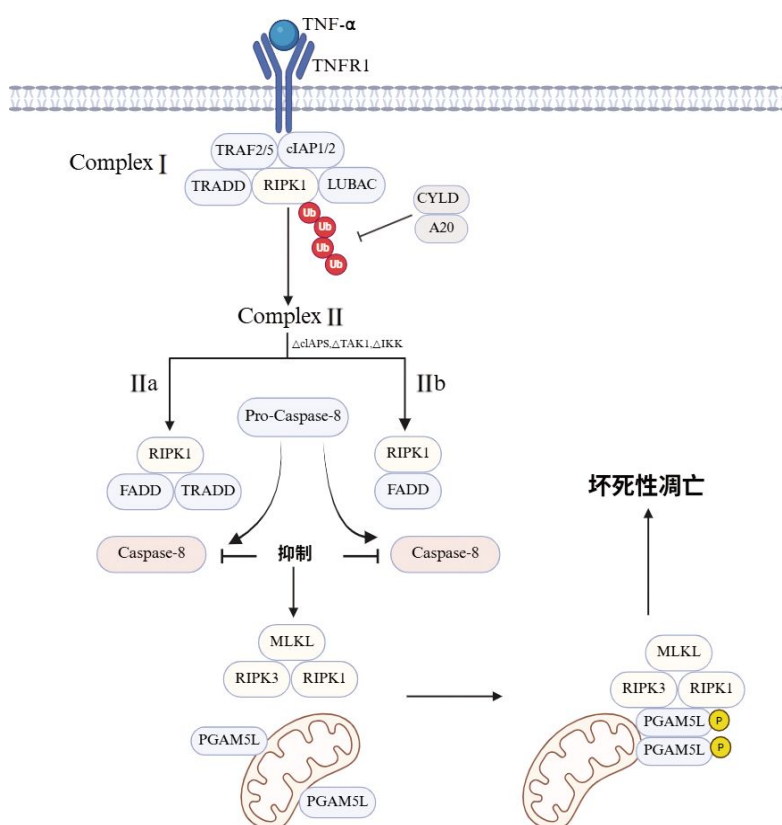


图 2 细胞坏死性凋亡的机制

Fig.2 Mechanism of necroptosis

核酸酶等水解酶类将自噬体内的内容物降解成氨基酸、脂肪酸、核苷酸等生物小分子,并将这些物质转运到细胞质中,供细胞重新利用,合成新的分子或产生能量,以上将细胞内物质运送至溶酶体途径称为巨自噬。自噬还分为以溶酶体膜直接内陷,包裹并吞噬细胞质中的物质进行降解的微自噬和具有特定序列蛋白质直接运送到溶酶体膜上进行转运和降解的分子伴侣介导的自噬^[53]。不仅如此,自噬降解关键促存活蛋白(如 Bcl-2 或 c-FLIP),削弱细胞对凋亡信号的抵抗能力,或选择性降解抗氧化酶如谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)加剧细胞内脂质过氧化物积累,释放大量 Fe^{2+} 引发芬顿(Fenton)反应积累增加 ROS 水平激活铁死亡^[54]。此外,自噬体膜破裂释放的溶酶体酶(如组织蛋白酶)可直接破坏细胞质基质,而自噬相关蛋白(如 Beclin-1)与凋亡信号分子(如 Bax/Bak)的相互作用可能形成正反馈环路,进一步放大死亡信号^[55]。自噬引发细胞死亡的分子特征区别于凋亡或坏死性凋亡,其不依赖 Caspase 激活或 MLKL 磷酸化,而是通过自噬特异性标志物(如 LC3-II 积累和 p62 降解受阻)及形态学特征(如空泡化细胞质和自噬体

包裹的细胞器残留)被识别^[56]。线粒体自噬是能清理功能受损线粒体和老化线粒体的选择性过程,保证线粒体质量,高效维持线粒体代谢稳定^[57]。当线粒体处于氧化应激、营养物质供应不足的状态下,被自噬体识别并包围,进一步与溶酶体融合降解受损线粒体内容物^[58]。其中,PTEN 诱导激酶(PTEN induced kinase 1, PINK1)及 E3 泛素连接酶(Parkin)蛋白及其通路是线粒体自噬最重要的途径^[59]。线粒体膜电位丧失造成 PINK1 降解受阻,时期积累在线粒体外膜(outer mitochondrial membrane, OMM)招募 Parkin 与泛素化 OMM 蛋白转位至线粒体,激活自噬受体连接 LC3-II,包裹线粒体形成自噬体,与溶酶体融合降解。线粒体自噬还受其他非泛素化通路调控, Bcl-2/腺病毒 E1B19kD 结合蛋白 3(Bcl-2/adenovirus E1B 19 kD-interacting protein 3, BNIP3)拥有 LC3 结合区域直接与 LC3 结合,促进线粒体自噬^[60]。自噬细胞死亡机制的总结见图 3。

3.2 通过作用自噬影响肝纤维化的中药活性物质研究

自噬在肝纤维化中的功能呈现出高度的细胞异质性。在肝细胞中特异性敲除自噬关键基因 Atg5 小

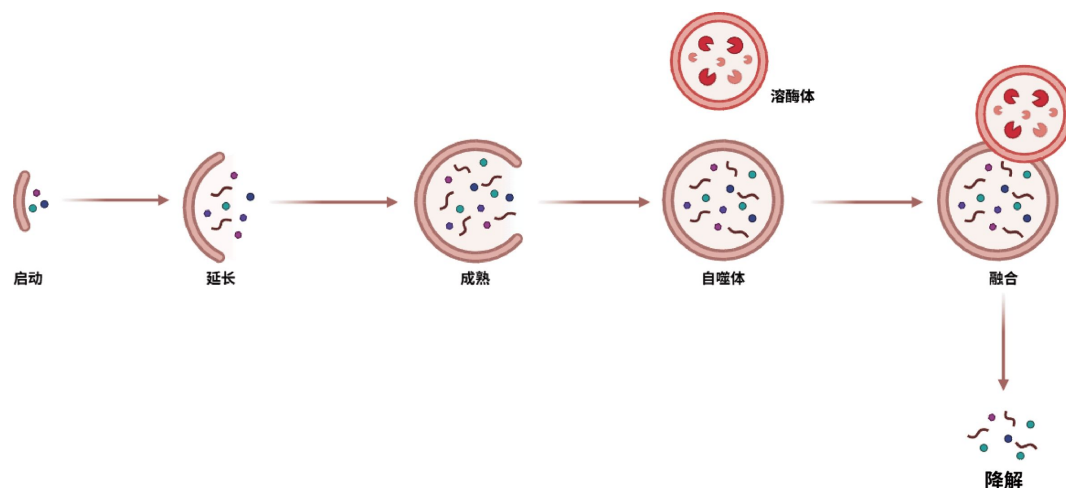


图 3 自噬细胞死亡的机制

Fig.3 Mechanisms of autophagic cell death

鼠 p62 蛋白积累,炎症反应加剧,表明肝细胞自噬功能缺陷促进肝纤维化进展。然而,HSC 中,自噬却扮演着截然相反的促纤维化角色。RSV 通过激活自噬正反馈因子 AMP 激活的蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)和 SIRT1 改善肝功能指标,减少脂质积累,缓解肝纤维化程度^[61]。人参皂苷通过抑制 Akt/mTOR 介导的自噬来改善肝纤维化^[62]。

4 焦亡与肝纤维化

4.1 焦亡

细胞焦亡是由炎性 Caspase 诱导的一种坏死和炎性 PCD,炎性 Caspase 在执行细胞焦亡时的需求使其与另一种称为坏死性凋亡的 PCD 的坏死和炎性形式区分开来^[63-65]。经典途径由 Caspase-1 依赖性信号通路主导,其核心机制始于病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)或 DAMPs 对模式识别受体如 NLR 家族含有热蛋白结构域3(NLR family pyrin domain containing 3, NLRP3)、黑色素瘤缺失因子 2(absent in melanoma 2)的激活。当这些受体感知危险信号后,凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD)招募并组装炎症小体复合物,进而激活 Caspase-1 前体使其自剪切为活性形式^[66-67]。活化的 Caspase-1 具有双重功能:一方面,它特异性切割 GSDMD 的 C 端自抑制结构域,释放出具有膜穿孔活性的 N 端结构域,该结构域在细胞膜上寡聚化形成直径 10~20 nm 的孔道,导致细胞渗透压失衡、肿胀破裂及内容物泄漏^[68];另一方面,Caspase-1 通过剪切 pro-IL-1 β 和 pro-IL-18 前体,产生大量

具有生物活性的促炎因子,这些因子通过 GSDMD 孔道释放至胞外,进一步招募免疫细胞并放大炎症级联反应^[69]。此外,非经典途径则绕过炎症小体组装过程,由胞内脂多糖直接结合并激活 Caspase-4/5/11(小鼠中为 Caspase-11),后者同样切割 GSDMD 触发焦亡,同时激活 NLRP3 炎症小体与经典途径形成协同调控网络,显著增强炎症信号输出^[70]。近年研究发现焦亡的分子机制存在多样性扩展:在化疗药物或 DNA 损伤压力下,Caspase-3 可切割 GSDME 的 C 端,释放其 N 端结构域诱导膜孔形成,但由于缺乏 IL-1 β /IL-18 的成熟释放,此类焦亡表现为“不完全”的促死效应^[71-72]。活化的 Caspase-3 切割 GSDME 的效率更高,被切割后的 GSDME 释放出其 N 端结构域,进一步这个结构域会转移到细胞膜上出现孔洞,导致细胞肿胀、破裂,并释放大量的炎性内容物(如 DAMPs),使细胞从凋亡迅速转入焦亡的进程^[71]。而在抗肿瘤免疫过程中,细胞毒性 T 细胞释放的颗粒酶 A 可直接切割 GSDMB,绕过 Caspase 依赖的经典通路,在靶细胞膜上形成孔道并引发快速焦亡,这一机制为肿瘤免疫治疗的精准调控提供了新靶点^[73]。肿瘤细胞释放危险信号,通过细胞焦亡招募抗肿瘤免疫细胞,而免疫细胞则诱导肿瘤细胞焦亡,从而建立正反馈循环。此外,核程序性死亡受体-配体 1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)能够调节 Gasdermin C(GSDMC)/Caspase-8 介导的非经典焦亡途径,在缺氧条件下诱导癌细胞发生肿瘤坏死^[74]。核 PD-L1 家族可以通过上调 GSDMC 的表达,将 TNF- α 诱导的细胞凋亡转变为细胞焦亡,

导致肿瘤坏死,促进肿瘤生长^[75]。除了 GSDM 家族蛋白在抗肿瘤免疫反应中的重要作用外,炎症小体也是关键的参与者。通过 NLRP3 炎症小体诱导的 IL-18 促进肝脏自然杀伤细胞成熟,死亡配体 FasL 的表达,以及对 FasL 敏感的肿瘤的致死率^[76]。细胞焦亡机制的总结见图 4。

4.2 通过作用焦亡影响肝纤维化的中药活性物质研究

人和小鼠原代肝细胞在 NLRP3 炎症小体被激活时会发生焦亡,促进并扩大炎症小体驱动的肝纤维化过程。通过阻断 Caspase-1 和 GSDMD 的激活,抑制肝细胞焦亡减轻肝脏损伤和肝纤维化严重程度^[77]。黄芪甲苷还可以通过提高 AMPK/SIRT1 信号通路的表达和促进巨噬细胞 M1 向 M2 型转化,抑制巨噬细胞的焦亡来改善肝损伤^[78]。茯苓多糖减少由肠道血管屏障的破坏和高脂肪饮食引起的内毒素易位,抑制焦亡减少内毒素转移和 NAFLD 进展的减缓^[79]。

5 铁死亡与肝纤维化

5.1 铁死亡

铁死亡是一种铁依赖性的,以脂质过氧化物积累为特征的细胞死亡方式^[80]。铁死亡既不呈现典型

坏死相关的细胞质渗透压失衡和细胞器水肿现象,也缺乏凋亡过程中特有的细胞膜起泡、核固缩以及凋亡小体生成等特征性改变。相较于自噬过程标志性的自噬体形成阶段,铁死亡发生时未见特征性的双层膜包裹的自噬泡结构生成。

铁死亡的经典分子机制由铁依赖性脂质过氧化驱动,其核心始于细胞内铁代谢失衡与氧化还原稳态崩溃的协同作用。在铁过载状态下,游离的二价铁离子(Fe^{2+})通过 Fenton 反应催化产生 ROS,直接攻击细胞膜中富含多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)的磷脂结构,胞内外氧化还原反应失衡。这一过程因铁代谢调控异常而加剧,铁蛋白自噬通过核受体共激活因子 4 介导铁蛋白降解,释放大量游离铁^[81]。同时,膜铁转运蛋白功能抑制或铁调素异常上调导致铁外排受阻^[82],进一步推高铁池。脂质过氧化不仅由脂氧合酶和细胞色素 P450 氧化还原酶直接催化 PUFA 氧化生成脂质过氧化物(如脂质氢过氧化物),还因线粒体功能障碍引发的电子传递链漏电子而放大 ROS 积累^[83]。抗氧化防御系统的失能则成为致命转折点,铁死亡关键抗氧化酶 GPX4 依赖上游谷胱甘肽(glutathione, GSH)降低细胞内脂质过氧化物的积累,但当由溶质载体家族 7 成员 11(solute carrier family 7 member 11, SLC 7A11)和

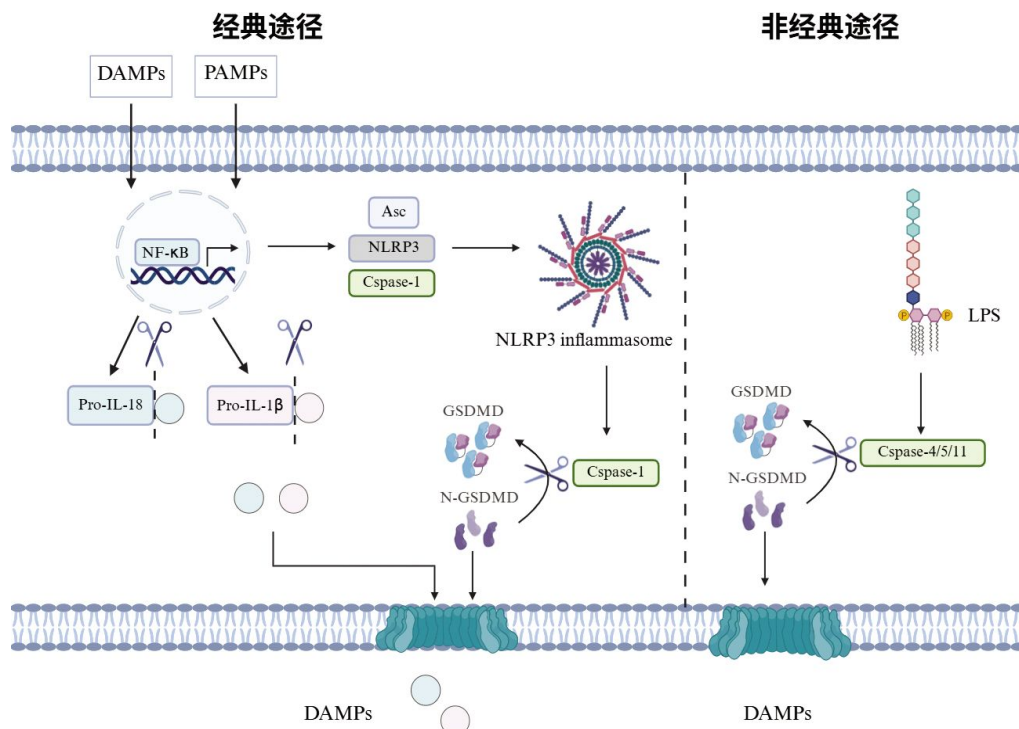


图 4 细胞焦亡的机制

Fig.4 Mechanism of pyroptosis

溶质载体家族 3 成员 2 组成的胱氨酸/谷氨酸逆向转运蛋白功能受抑导致胱氨酸摄取不足时, GSH 合成中断, GPX4 活性丧失^[80]。此外, 甲羟戊酸途径异常会阻碍硒代半胱氨酸 tRNA 成熟, 直接削弱 GPX4 的合成与功能^[84]。p53 通过抑制 SLC7A11 表达降低 GSH 水平促进铁死亡, 而核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 则通过激活血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 和 SLC7A11 等基因增强抗氧化防御^[85]; 不同于 SLC7A11/GPX4 信号通路, 铁死亡抑制蛋白 1 通过还原泛醌清除脂质过氧化物, 形成第二道保护屏障^[86]; Hippo-Yes 相关蛋白信号通路则通过上调酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 促进 PUFA 磷脂合成和转铁蛋白受体 1 增强铁摄取形成正反馈环路, 将代谢重编程与氧化损伤紧密关联, 最终导致细胞膜系统崩解和促进铁死亡。细胞铁死亡机制的总结见图 5。

5.2 通过作用铁死亡影响肝纤维化的中药活性物质研究

汉黄芩苷(wogonoside, WG)是一种从黄芩中提取的黄酮类化学成分, WG 通过减少 SLC7A11、GPX4 和 GSH 表达, 增加铁离子、脂质 ROS 和 MDA 含量, 促进铁死亡显著降低了纤维化标志物 α -SMA 和 I 型胶原 $\alpha 1$ 链[$\alpha 1$ (I)collagen, COL1 $\alpha 1$]的水平, 逆转肝纤维化^[87]。

NASH 存在铁代谢紊乱和脂质积累异常诱导肝细胞对铁死亡敏感性增加。松香酸降低了甘油三酯、总胆固醇, 促进抗氧化 Nrf2 易位至细胞核, 促进 GPX4、HO-1 等抗铁死亡基因表达, 有效清除 ROS, 减轻铁死亡, 改善了 NAFLD^[88]。槲皮素在 NAFLD 模型中显示出强大的肝细胞铁死亡抑制作用, 其独特的化学结构直接螯合细胞内不稳定的铁离子, 从源头上减少了 ROS 的产生^[89]。在 ALD 的治疗中最直接的治疗方法减轻乙醇及其代谢产物(如乙醛和 ROS)对肝细胞的直接毒性作用。小檗碱能够减少 MDA 含量增加 GPx 保护肝脏的酶活性大鼠乙醇给药引起的肝毒性具有显著的保护和防止乙醇引起的组织病理学损伤^[90]。丹参酮 II A 能够有效保护肝细胞和 KCs 免受乙醇诱导的 ROS 损伤和随后的细胞死亡^[91]。

6 双硫死亡

双硫死亡是一种由二硫键应激引发的细胞死亡新形式^[92], 一项研究表明使用铁死亡、凋亡、自噬等死亡抑制剂对葡萄糖饥饿条件下 SLC7A11 过表达的细胞并没有挽救作用, 而使用防止二硫键应激的还原剂处理, 如二硫苏糖醇, β -巯基乙醇完全抑制葡萄糖饥饿诱导的 SLC7A11 高表达的细胞死亡^[93], 高表达细胞内二硫化物的异常积累可诱导一种不同于凋亡和铁死亡的新型程序性死亡, 即双硫死亡。以葡萄糖饥饿诱导肌动蛋白细胞骨架蛋白中的异常二

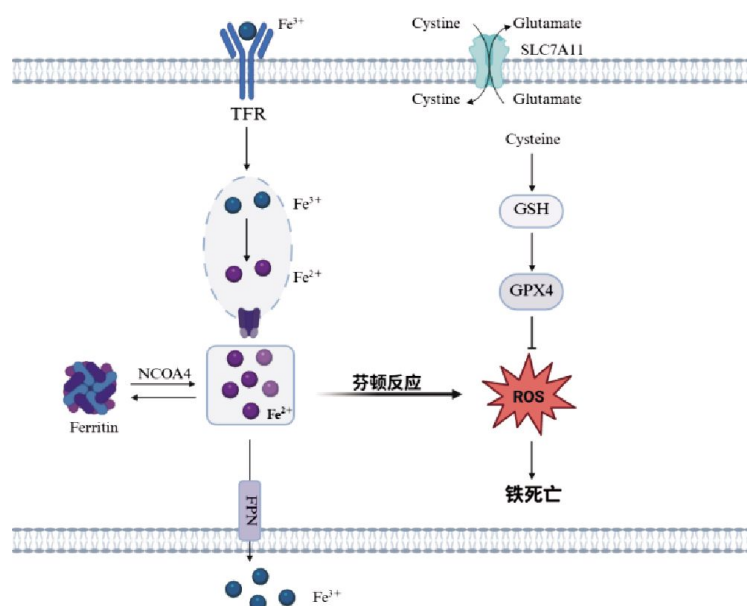


图 5 细胞铁死亡的机制

Fig.5 Mechanism of ferroptosis

硫键和 F-肌动蛋白崩溃为特征^[94]。双硫死亡主要发生在以下情况:与铁死亡不同的是,SLC7A11 过量表达时,抑制铁死亡,摄取胱氨酸效率高促进双硫死亡。当细胞内发生葡萄糖饥饿时,磷酸戊糖途径受阻。将耗尽烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH),过度的胱氨酸转化半胱氨酸过程受损,引起二硫化物压力激活一些信号通路,导致肌动蛋白细胞骨架通过二硫键连接,随后发生收缩并与质膜分离,这一过程最终引发细胞萎缩及死亡^[93]。相反,葡萄糖充足时,SLC7A11 高效表达促进NADPH 和 GSH 生成,抑制细胞铁死亡。双硫死亡与铜死亡通过 GSH 动态相互关联,GSH 耗竭会增加游离 Cu^{2+} ,促进铜死亡,铜过载则抑制 GPX4,加剧铁死亡并间接促进双硫死亡^[95]。双硫死亡与凋亡也存在一定联系,硫醇氧化剂能破坏氧化还原平衡触发半胱天冬酶激活^[96]。

总之,当细胞处于葡萄糖饥饿状态时,NADPH 合成减少。SLC7A11 的高表达导致 NADPH 耗竭, NADH⁺增加。由于 NADPH 的减少,胱氨酸不能被分解成半胱氨酸,过高的胱氨酸含量最终诱导二硫化物应激。双硫死亡机制的总结见图 6。

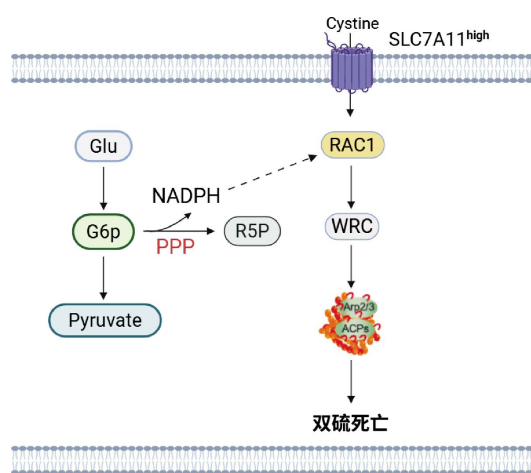


图 6 细胞双硫死亡的机制
Fig.6 Mechanism of disulfidptosis

7 铜死亡与肝纤维化

7.1 铜死亡

铜死亡的概念最早由 Peter Tsvetkov 在 2022 年提出^[95],铜是生命必需的微量元素之一^[97],当铜离子

水平突破由进化保守机制设定的安全界限时,将触发特定的细胞程序性死亡过程,这种现象被定义为铜死亡。铜依赖性死亡是通过铜与三羧酸(tricarboxylic acid, TCA)循环的脂化成分直接结合而发生^[95]。TCA 循环活性细胞的脂酰化 TCA 酶(特别是丙酮酸脱氢酶复合物)水平升高,脂酰部分作为直接的铜结合剂,脂酰化蛋白聚集,以及随后的铁硫簇蛋白损失,导致蛋白质毒性应激和细胞死亡^[98]。铜是能量代谢、线粒体呼吸和抗氧化等多种生理过程的催化辅助因子^[99],当细胞内铜水平升高时,过量的铜离子会与线粒体蛋白质结合,导致蛋白毒性应激介导的细胞死亡^[95]。TCA 循环通过级联酶促反应实现乙酰辅酶 A 的彻底氧化。在此过程中,乙酰辅酶 A 和草酰乙酸缩合形成柠檬酸,随后经历四次氧化脱羧反应,产生两个 CO₂ 分子,并再生草酰乙酸^[100]。其代谢过程与氧化磷酸化代谢途径为铜死亡提供了能量基础^[101]。

铜死亡其发生机制主要涉及四大核心路径:(1)铜离子($\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$)通过 Fenton-like 反应催化羟基自由基生成,引发氧化还原稳态失衡。过量 ROS 导致线粒体 DNA 断裂、脂质过氧化及蛋白质氧化修饰,进而激活线粒体凋亡通路(如 Bax/Bak 依赖性细胞色素 c 释放及 Caspase-9/3 级联活化),该过程与经典凋亡存在交叉但具有独特的铜依赖性特征;(2)铜特异性结合硫辛酰化修饰的线粒体代谢酶如丙酮酸脱氢酶复合体(pyruvate dehydrogenase complex)、 α -酮戊二酸脱氢酶(α -ketoglutarate dehydrogenase complex),通过形成铜-硫辛酸共价复合物引发酶蛋白构象异常聚集,导致 TCA 循环代谢流中断及线粒体呼吸链电子泄漏,这种蛋白质稳态崩溃直接触发非凋亡性死亡程序^[95];(3)铜稳态调控系统包括铜转运蛋白、铜转运 ATP 酶 α 和 β (ATPase copper transporting alpha and beta)及金属硫蛋白功能失调导致细胞内游离铜池(labile copper pool, LCP)异常升高,细胞色素 c 氧化酶铜分子伴侣 17(cytochrome c oxidase copper chaperone 17)介导的铜超载可诱导线粒体膜通透性转换孔(mPTP)持续开放^[102],同时通过抑制铜锌超氧化物歧化酶(copper-zinc superoxide dismutase)活性加剧氧化损伤,形成“铜蓄积-氧化应激”恶性循环;(4)铜离子载体(如 elesclomol、disulfiram)通过螯合-转运机制靶向富集铜离子至线粒体基质,其选择性细胞毒性依赖于线粒体呼吸活性——

呼吸链复合体 I/II 抑制剂(如鱼藤酮、马拉酸)可阻断铜死亡,而解偶联剂 FCCP 无效,证实该死亡模式与氧化磷酸化耦联而非 ATP 生成相关^[103-104]。机制研究表明,铜离子载体阻断 TCA 循环和电子传递链,干扰铁氧还蛋白 1(ferredoxin 1, FDX1)依赖性硫辛酰化修饰过程,瓦解线粒体代谢酶复合体组装,呼吸储备能力完全耗尽和代谢重编程,最终引发不可逆的细胞呼吸功能崩溃。电子传递链功能损伤也会导致电子泄漏,积累大量 ROS,与 Cu^+ 产生的 ROS 一起,加重细胞氧化损伤,进一步诱导 DNA、蛋白质等物质损伤,最终触发细胞凋亡或铁死亡。对于癌细胞而言往往更倾向更高的能量和增殖需求,对以上线粒体能量起伏和功能损伤更为敏感。细胞铜死亡机制的总结见图 7。

7.2 通过作用铜死亡影响肝纤维化的中药活性物质研究

在临床中肝豆状核变性(威尔逊病)由于 ATP7B 基因突变导致肝细胞无法将铜排入胆汁,在肝细胞内大量蓄积引起铜过载造成持续的肝细胞死亡会触发强烈的炎症反应,进而激活 HSC 引起严重肝纤维化甚至引起肝硬化^[105]。而铜缺乏可能与 NAFLD 发展有关,NAFLD 患者和动物模型的肝脏及血清铜水平均显著降低,缺乏铜严重损害线粒体的形态和功能,尤其是脂肪酸的 β -氧化能力导致脂质在肝细

胞内异常堆积,形成脂肪肝变性引起 NAFLD。铜缺乏会削弱肝脏的抗氧化防御能力,使肝细胞更容易受到氧化应激的攻击,加剧炎症反应进一步加重肝纤维化^[106]。

黄芩苷激活铜外排蛋白 ATP7B 的表达,促进胆汁铜排泄,并减少铜离子内流,缓解铜蓄积性肝损伤^[107];大蒜素会诱导脂质代谢有关蛋白 RAB18 相分离,特异性保护肝细胞同时上调铜死亡标志物 FDX1,破坏铜-硫辛酸共价化合物激活 HSC 铜死亡抗肝纤维化^[108]。

8 结语

PCD 作为细胞生物学中的核心机制,在维持组织稳态、调节发育以及应对外界应激中发挥着不可替代的作用,无论过度激活或抑制均是驱动肝纤维化发生发展的关键病理环节。本文系统阐述了 PCD 包含凋亡、坏死性凋亡、焦亡等多种程序性死亡形式的分子机制及其在肝纤维化进程中的作用,揭示了不同死亡形式之间存在着复杂的信号串扰与协同作用。选择中药活性成分治疗 PCD 来改善肝纤维化的核心逻辑在于其“多源性-安全”特性,契合复杂疾病的异质性需求。然而,已确定的在细胞凋亡途径中被激活或失活的关键细胞凋亡蛋白分子作用机制仍需进一步阐释。

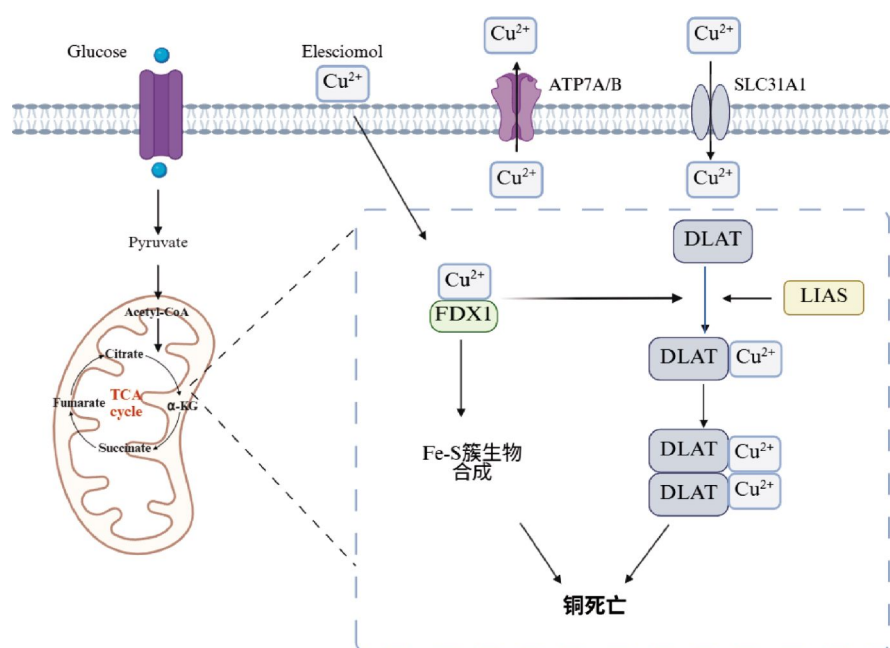


图 7 细胞铜死亡的机制

Fig.7 Mechanism of cuproptosis

参考文献

- [1] IREDALE J P. Models of liver fibrosis: Exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2007, 117(3): 539–548.
- [2] WANG F D, ZHOU J, CHEN E Q. Molecular mechanisms and potential new therapeutic drugs for liver fibrosis[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 787748.
- [3] GALLUZZI L, VITALE I, AARONSON S A, et al. Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(3): 486–541.
- [4] FUCHS Y, STELLER H. Programmed cell death in animal development and disease[J]. *Cell*, 2010, 147(4): 742–758.
- [5] KASHYAP D, GARG V K, GOEL N. Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: Role in cancer development and prognosis[J]. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 2021, 125: 73–120.
- [6] TANG D L, KANG R, BERGHE T V, et al. The molecular machinery of regulated cell death[J]. *Cell Research*, 2019, 29(5): 347–364.
- [7] MUSTAFA M, AHMAD R, TANTRY I Q, et al. Apoptosis: A comprehensive overview of signaling pathways, morphological changes, and physiological significance and therapeutic implications[J]. *Cells*, 2024, 13(22): 1838.
- [8] PREEDY M K, WHITE M R H, TERGAONKAR V. Cellular heterogeneity in TNF/TNFR1 signalling: Live cell imaging of cell fate decisions in single cells[J]. *Cell Death & Disease*, 2024, 15(3): 202.
- [9] AI Y W, MENG Y T, YAN B, et al. The biochemical pathways of apoptotic, necroptotic, pyroptotic, and ferroptotic cell death[J]. *Molecular Cell*, 2024, 84(1): 170–179.
- [10] KIM H J, SEO B G, KIM K D, et al. C5, a cassaine diterpenoid amine, induces apoptosis via the extrinsic pathways in human lung cancer cells and human lymphoma cells[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(4): 1298.
- [11] TAMATANI M, CHE Y H, MATSUZAKI H, et al. Tumor necrosis factor induces Bcl-2 and Bcl-x expression through NF- κ B activation in primary hippocampal neurons[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(13): 8531–8538.
- [12] LU H Q, CHEN N N, YANG X, et al. BECN1 regulates FADD/RIPK1/Caspase-8 complex formation via RIPK1 ubiquitination by downregulating OTUD1 in MI/R induced myocyte apoptosis[J]. *International Journal of Cardiology*, 2024, 408: 132158.
- [13] ORNING P, LIEN E. Multiple roles of caspase-8 in cell death, inflammation, and innate immunity[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2021, 109(1): 121–141.
- [14] ROUFAYEL R, YOUNES K, AL-SABI A, et al. BH3-only proteins Noxa and Puma are key regulators of induced apoptosis[J]. *Life*, 2022, 12(2): 256.
- [15] GONZÁLEZ-ARZOLA K, VELÁZQUEZ-CRUZ A, GUERRA-CASTELLANO A, et al. New moonlighting functions of mitochondrial cytochrome c in the cytoplasm and nucleus[J]. *FEBS Letters*, 2019, 593(22): 3101–3119.
- [16] JENG P S, INOUE-YAMAUCHI A, HSIEH J J, et al. BH3-dependent and independent activation of BAX and BAK in mitochondrial apoptosis[J]. *Current Opinion in Physiology*, 2018, 3: 71–81.
- [17] XU X B, LAI Y Y, HUA Z C. Apoptosis and apoptotic body: Disease message and therapeutic target potentials[J]. *Bioscience Reports*, 2019, 39(1): BSR20180992.
- [18] DANIAL N N, KORSMEYER S J. Cell death: critical control points[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 205–219.
- [19] MA Z Y, SHENG L L, LI J, et al. Resveratrol alleviates hepatic fibrosis in associated with decreased endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis and inflammation[J]. *Inflammation*, 2022, 45(2): 812–823.
- [20] JIANG M J, HUANG C M, WU Q, et al. Sini San ameliorates CCL₄-induced liver fibrosis in mice by inhibiting AKT-mediated hepatocyte apoptosis[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 303: 115965.
- [21] LI M Z, DUAN F F, PAN Z Q, et al. Astragalus polysaccharide promotes doxorubicin-induced apoptosis by reducing O-GlcNAcylation in hepatocellular carcinoma[J]. *Cells*, 2023, 12(6): 866.
- [22] CHEN R J, CHEN M C, TSAI B C, et al. Ligustrazine improves the compensative effect of Akt survival signaling to protect liver Kupffer cells in trauma-hemorrhagic shock rats[J]. *Chemical Biology & Drug Design*, 2023, 102(6): 1399–1408.
- [23] BAI G P, YAN G H, WANG G J, et al. Anti-hepatic fibrosis effects of a novel turtle shell decoction by inhibiting hepatic stellate cell proliferation and blocking TGF- β 1/Smad signaling pathway in rats[J]. *Oncology Reports*, 2016, 36(5): 2902–2910.
- [24] YUAN J Y, AMIN P, OFENGEIM D. Necroptosis and RIPK1-mediated neuroinflammation in CNS diseases[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2019, 20(1): 19–33.
- [25] FEOKTISTOVA M, MAKAROV R, YAZDI A S, et al. RIPK1 and TRADD regulate TNF-induced signaling and ripoptosome formation[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(22): 12459.
- [26] HU S P, CHANG X X, ZHU H B, et al. PI3K mediates tumor necrosis factor induced-necroptosis through initiating RIP1-RIP3-MLKL signaling pathway activation [J]. *Cytokine*, 2020, 129: 155046.
- [27] ZADOROZNYJ A, DUBREZ L. Cytoplasmic and nuclear functions of cIAP1[J]. *Biomolecules*, 1979, 12(2): 322.
- [28] XU Y R, LEI C Q. TAK1-TABs complex: A central signalosome in inflammatory responses[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 608976.

- [29] VARFOLOMEEV E, VUCIC D. RIP1 post-translational modifications[J]. *The Biochemical Journal*, 2022, 479(9): 929–951.
- [30] ZHANG W, ZHU C L, LIAO Y, et al. Caspase-8 in inflammatory diseases: A potential therapeutic target[J]. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2024, 29(1): 130.
- [31] YE K, CHEN Z M, XU Y F. The double-edged functions of necroptosis[J]. *Cell Death & Disease*, 2023, 14(2): 163.
- [32] PEFANIS A, BONGONI A K, MCRAE J L, et al. Dynamics of necroptosis in kidney ischemia-reperfusion injury[J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1251452.
- [33] KARLOWITZ R, VAN WIJK S J L. Surviving death: Emerging concepts of RIPK3 and MLKL ubiquitination in the regulation of necroptosis[J]. *The FEBS Journal*, 2023, 290(1): 37–54.
- [34] ZHANG Y, LIU J, YU D D, et al. The MLKL kinase-like domain dimerization is an indispensable step of mammalian MLKL activation in necroptosis signaling[J]. *Cell Death & Disease*, 2021, 12(7): 638.
- [35] ROS U, MARTINEZ-OSORIO V, VALIENTE P A, et al. MLKL activity requires a splicing-regulated, druggable intramolecular interaction[J]. *Molecular Cell*, 2025, 85(8): 1589–1605.e12.
- [36] MCNAMARA D E, DOVEY C M, HALE A T, et al. Direct activation of human MLKL by a select repertoire of inositol phosphate metabolites[J]. *Cell Chemical Biology*, 2019, 26(6): 863–877.e7.
- [37] DOVEY C M, DIEP J, CLARKE B P, et al. MLKL requires the inositol phosphate code to execute necroptosis[J]. *Molecular Cell*, 2018, 70(5): 936–948.e7.
- [38] HE S D, WANG L, MIAO L, et al. Receptor interacting protein kinase-3 determines cellular necrotic response to TNF- α [J]. *Cell*, 2009, 137(6): 1100–1111.
- [39] KASOF G M, PROSSER J C, LIU D, et al. The RIP-like kinase, RIP3, induces apoptosis and NF- κ B nuclear translocation and localizes to mitochondria[J]. *FEBS Letters*, 2000, 473(3): 285–291.
- [40] FRITSCH M, GÜNTHER S D, SCHWARZER R, et al. Caspase-8 is the molecular switch for apoptosis, necroptosis and pyroptosis[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 683–687.
- [41] LIU X X, XIE X, REN Y Y, et al. The role of necroptosis in disease and treatment[J]. *MedComm*, 2021, 2(4): 730–755.
- [42] YAN J, WAN P X, CHOKSI S, et al. Necroptosis and tumor progression[J]. *Trends in Cancer*, 2022, 8(1): 21–27.
- [43] MARTENS S, HOFMANS S, DECLERCQ W, et al. Inhibitors targeting RIPK1/RIPK3: Old and new drugs[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2020, 41(3): 209–224.
- [44] YAN M L, LI H, XU S Y, et al. Targeting endothelial necroptosis disrupts profibrotic endothelial-hepatic stellate cells crosstalk to alleviate liver fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(14): 11313.
- [45] JIA Y, WANG F X, GUO Q, et al. Curcumin induces RIPK1/RIPK3 complex-dependent necroptosis via JNK1/2-ROS signaling in hepatic stellate cells[J]. *Redox Biology*, 2018, 19: 375–387.
- [46] SUN S M, HUAN S, LI Z H, et al. Curcumin alleviates liver fibrosis by inducing endoplasmic reticulum stress-mediated necroptosis of hepatic stellate cells through Sirt1/NICD pathway[J]. *PeerJ*, 2022, 10: e13376.
- [47] WANG F X, TANG L, LIANG B Y, et al. Yi-qi-Jian-pi formula suppresses RIPK1/RIPK3-complex-dependent necroptosis of hepatocytes through ROS signaling and attenuates liver injury in vivo and in vitro[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 658811.
- [48] OHSUMI Y. Historical landmarks of autophagy research[J]. *Cell Research*, 2014, 24(1): 9–23.
- [49] YOUNG M M, TAKAHASHI Y, KHAN O, et al. Autophagosomal membrane serves as platform for intracellular death-inducing signaling complex (iDISC)-mediated caspase-8 activation and apoptosis[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(15): 12455–12468.
- [50] JUNG S, JEONG H, YU S W. Autophagy as a decisive process for cell death[J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2020, 52(6): 921–930.
- [51] WEI F, WANG Y, YAO J, et al. ZDHHC7-mediated S-palmitoylation of ATG16L1 facilitates LC3 lipidation and autophagosome formation[J]. *Autophagy*, 2024, 20(12): 2719–2737.
- [52] CHUN Y, KIM J. Autophagy: An essential degradation program for cellular homeostasis and life[J]. *Cells*, 2018, 7(12): 278.
- [53] ICHIMIYA T, YAMAKAWA T, HIRANO T, et al. Autophagy and autophagy-related diseases: A review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(23): 8974.
- [54] LIU S, YAO S, YANG H, et al. Autophagy: Regulator of cell death[J]. *Cell Death & Disease*, 2023, 14(10): 648.
- [55] QUARATO G, MARI L, BARROWS N J, et al. Mitophagy restricts BAX/BAK-independent, parkin-mediated apoptosis[J]. *Science Advances*, 2023, 9(21): eadg8156.
- [56] WANG X T, LI X J, XIA Y, et al. Hernandezine regulates proliferation and autophagy-induced apoptosis in melanoma cells[J]. *Journal of Natural Products*, 2022, 85(5): 1351–1362.
- [57] PALIKARAS K, TAVERNARAKIS N. Mitophagy in neurodegeneration and aging [J]. *Front Genet*, 2012, 3: 297.
- [58] ONISHI M, YAMANO K, SATO M, et al. Molecular mechanisms and physiological functions of mitophagy[J]. *The EMBO Journal*, 2021, 40(3): e104705.
- [59] OKATSU K, OKA T, IGUCHI M, et al. PINK1 autophosphorylation upon membrane potential dissipation is essential for Parkin recruitment to damaged mitochondria[J]. *Nature Communications*, 2012, 3: 1016.
- [60] ZHU Y Y, MASSEN S, TERENCE M, et al. Modulation of

- serines 17 and 24 in the LC3-interacting region of Bnip3 determines pro-survival mitophagy versus apoptosis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(2): 1099–1113.
- [61] ZHU L L, MOU Q J, WANG Y H, et al. Resveratrol contributes to the inhibition of liver fibrosis by inducing autophagy via the microRNA-20a-mediated activation of the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2020, 46(6): 2035–2046.
- [62] HE Z W, CHEN S Y, PAN T T, et al. Ginsenoside Rg2 ameliorating CDAHFD-induced hepatic fibrosis by regulating AKT/mTOR-mediated autophagy[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(6): 1911–1922.
- [63] WEINLICH R, OBERST A, BEERE H M, et al. Necroptosis in development, inflammation and disease[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2017, 18(2): 127–136.
- [64] VERCAMMEN D, BEYAERT R, DENECKER G, et al. Inhibition of caspases increases the sensitivity of L929 cells to necrosis mediated by tumor necrosis factor[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 1998, 187(9): 1477–1485.
- [65] HOLLER N, ZARU R, MICHEAU O, et al. Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule[J]. *Nature Immunology*, 2000, 1(6): 489–495.
- [66] SHARMA D, KANNEGANTI T D. The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation[J]. *Journal of Cell Biology*, 2016, 213(6): 617–629.
- [67] MARTINON F, BURNS K, TSCHOPP J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-1 β [J]. *Molecular Cell*, 2002, 10(2): 417–426.
- [68] BROZ P, PELEGRIŃ P, SHAO F. The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2020, 20(3): 143–157.
- [69] TSUCHIYA K, HOSOJIMA S, HARA H, et al. Gasdermin D mediates the maturation and release of IL-1 α downstream of inflammasomes[J]. *Cell Reports*, 2021, 34(12): 108887.
- [70] RUAN J W, WANG S J, WANG J B. Mechanism and regulation of pyroptosis-mediated in cancer cell death[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2020, 323: 109052.
- [71] 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.
- [72] KOVACS S B, MIAO E A. Gasdermins: Effectors of Pyroptosis[J]. *Trends in Cell Biol*, 2017, 27(9): 673–684.
- [73] ZHANG Z B, ZHANG Y, XIA S Y, et al. Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity[J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 415–420.
- [74] YU L, HUANG K, LIAO Y, et al. Targeting novel regulated cell death: Ferroptosis, pyroptosis and necroptosis in anti-PD-L1 cancer immunotherapy[J]. *Cell Proliferation*, 2024, 57(8): e13644.
- [75] 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]. *Nature Cell Biology*, 2020, 22(10): 1264–1275.
- [76] GAO W T, WANG X Y, ZHOU Y, et al. Autophagy, ferroptosis, pyroptosis, and necroptosis in tumor immunotherapy[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022, 7: 196.
- [77] GAUL S, LESZCZYŃSKA A, ALEGRE F, et al. Hepatocyte pyroptosis and release of inflammasome particles induce stellate cell activation and liver fibrosis[J]. *Journal of Hepatology*, 2021, 74(1): 156–167.
- [78] KUANG G, ZHAO Y S, WANG L Y, et al. Astragaloside IV alleviates acute hepatic injury by regulating macrophage polarization and pyroptosis via activation of the AMPK/SIRT1 signaling pathway[J]. *Phytotherapy Research*, 2025, 39(2): 733–746.
- [79] YE H X, MA S Y, QIU Z T, et al. Poria cocos polysaccharides rescue pyroptosis-driven gut vascular barrier disruption in order to alleviates non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 296: 115457.
- [80] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060–1072.
- [81] MANCIAS J D, WANG X X, GYGI S P, et al. Quantitative proteomics identifies NCOA4 as the cargo receptor mediating ferritinophagy[J]. *Nature*, 2014, 509(7498): 105–109.
- [82] DING H, YAN C Z, SHI H, et al. Hepsidin is involved in iron regulation in the ischemic brain[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25324.
- [83] HIRSCHHORN T, STOCKWELL B R. The development of the concept of ferroptosis[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2019, 133: 130–143.
- [84] WARNER G J, BERRY M J, MOUSTAFA M E, et al. Inhibition of selenoprotein synthesis by selenocysteine tRNA^[Ser] lacking isopentenyladenosine[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(36): 28110–28119.
- [85] JIANG T, CHU J, CHEN H, et al. Gastrodin inhibits H₂O₂-induced ferroptosis through its antioxidative effect in rat glioma cell line C6[J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2020, 43(3): 480–487.
- [86] DOLL S, FREITAS F P, SHAH R, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 693–698.
- [87] LIU G F, WEI C, YUAN S Y, et al. Wogonoside attenuates liver fibrosis by triggering hepatic stellate cell ferroptosis through SOCS1/P53/SLC7A11 pathway[J]. *Phytotherapy Research*, 2022, 36(11): 4230–4243.
- [88] GAO G, XIE Z S, LI E W, et al. Dehydroabietic acid im-

- proves nonalcoholic fatty liver disease through activating the Keap1/Nrf2-ARE signaling pathway to reduce ferroptosis[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2021, 75(3): 540-552.
- [89] HUANG T W, ZHANG K, WANG J Q, et al. Quercetin alleviates acrylamide-induced liver injury by inhibiting autophagy-dependent ferroptosis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(19): 7427-7439.
- [90] MAHBOUBI KANCHA M, ALIZADEH M, MEHRABI M. Comparison of the protective effects of CS/TPP and CS/HPMCP nanoparticles containing berberine in ethanol-induced hepatotoxicity in rat[J]. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 2024, 24(1): 39.
- [91] CHEN F Q, ZHANG J M, HE Y, et al. Glycyrrhetic acid-decorated and reduction-sensitive micelles to enhance the bioavailability and anti-hepatocellular carcinoma efficacy of tanshinone IIA[J]. *Biomaterials Science*, 2016, 4(1): 167-182.
- [92] ZHENG T J, LIU Q B, XING F Y, et al. Disulfidptosis: A new form of programmed cell death[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2023, 42(1): 137.
- [93] LIU X G, NIE L T, ZHANG Y L, et al. Actin cytoskeleton vulnerability to disulfide stress mediates disulfidptosis[J]. *Nature Cell Biology*, 2023, 25(3): 404-414.
- [94] ZHENG P J, ZHOU C T, DING Y M, et al. Disulfidptosis: A new target for metabolic cancer therapy[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2023, 42(1): 103.
- [95] TSVETKOV P, COY S, PETROVA B, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins[J]. *Science*, 2022, 375(6586): 1254-1261.
- [96] 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.
- [97] CHEN L Y, MIN J X, WANG F D. Copper homeostasis and cuproptosis in health and disease[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022, 7: 378.
- [98] CHAN W Y, GARNICA A D, RENNERT O M. Cell culture studies of menkes kinky hair disease[J]. *Clinica Chimica Acta*, 1978, 88(3): 495-507.
- [99] CHEN J, JIANG Y H, SHI H, et al. The molecular mechanisms of copper metabolism and its roles in human diseases[J]. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 2020, 472(10): 1415-1429.
- [100] HE H, PAN T, SHI X, et al. An integrative cellular metabolomic study reveals downregulated tricarboxylic acid cycle and potential biomarkers induced by tetrabromobisphenol A in human lung A549 cells[J]. *Environmental Toxicology*, 2023, 38(1): 7-16.
- [101] ZHANG Q, MA L P, ZHOU H Y, et al. A prognostic signature of cuproptosis and TCA-related genes for hepatocellular carcinoma[J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 1040736.
- [102] DE ROMAÑA D L, OLIVARES M, UAUY R, et al. Risks and benefits of copper in light of new insights of copper homeostasis[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology: Organ of The Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 2011, 25(1): 3-13.
- [103] KAHLSON M A, DIXON S J. Copper-induced cell death[J]. *Science*, 2022, 375(6586): 1231-1232.
- [104] TANG D L, CHEN X, KROEMER G. Cuproptosis: A copper-triggered modality of mitochondrial cell death[J]. *Cell Research*, 2022, 32(5): 417-418.
- [105] MA Y, PU Y, CHEN H, et al. Mechanistic insights into the therapeutic effects on liver fibrosis in Wilson's disease: A transcriptomic and network pharmacology-based approach[J]. *Frontiers in Medicine*, 2025, 12: 1581623.
- [106] MAO Y, CHEN H L, ZHU W H, et al. Cuproptosis cell death molecular events and pathways to liver disease[J]. *Journal of Inflammation Research*, 2025, 18: 883-894.
- [107] 张明昊, 张家乐, 吴星霏, 等. 黄芩苷通过铜代谢途径干预铜负荷肝豆状核变性大鼠的作用机制研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(9): 1211-1218.
- [108] TIAN H Y, SUN S J, QIU X R, et al. Diallyl trisulfide from garlic regulates RAB18 phase separation to inhibit lipophagy and induce cuproptosis in hepatic stellate cells for antifibrotic effects[J]. *Advanced Science*, 2025, 12(21): e2415325.

(本文编辑 苏 维)