

[文章编号] 1000-4718(2019)11-1974-07

大黄酸通过抑制 NF-κB 通路促进 DLBCL 细胞 OCI-LY8 凋亡*

胡施炜, 楼恩哲[▲], 王 瑜, 应佳豪, 柯瑞君[△], 陈佳玉[△]
(绍兴文理学院医学院, 浙江 绍兴 312000)

[摘 要] 目的: 探讨大黄酸对弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) OCI-LY8 细胞凋亡的影响, 并探究其作用的相关机制。方法: 通过 MTS 实验和小鼠抑瘤实验观察大黄酸对 DLBCL 细胞生长的作用; 流式细胞术结合 Hoechst 33342 染色证实大黄酸对 DLBCL 细胞凋亡的影响; 采用 qPCR 和 Western blot 探究大黄酸对 DLBCL 细胞内相关基因转录和翻译的作用, 分析其作用的分子机制。结果: 体外和体内实验均证实大黄酸对 DLBCL 的发生和发展有抑制作用, 它可抑制 OCI-LY8 细胞的活力, 下调细胞内 Rip2、Bcl-xL、NIK、NF-κB (p52 和 p65) 和 IκBα 的 mRNA 和蛋白表达, 促进 caspase-3 表达, 诱导 OCI-LY8 细胞凋亡。结论: 大黄酸通过影响 DLBCL 细胞 OCI-LY8 的 NF-κB 经典和非经典信号通路促进细胞凋亡, 抑制 DLBCL 的发生和发展, 可作为 DLBCL 的潜在治疗药物。

[关键词] 大黄酸; 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤; NF-κB 信号通路; 细胞凋亡

[中图分类号] R733.4; R730.23 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.11.008

Rhein promotes DLBCL cell OCI-LY8 apoptosis by inhibiting NF-κB signaling pathway

HU Shi-wei, LOU En-zhe, WANG Yu, YING Jia-hao, KE Rui-jun, CHEN Jia-yu
(Shaoxing University School of Medicine, Shaoxing 312000, China. E-mail: chenjujia10@163.com)

[ABSTRACT] AIM: To investigate the effect of rhein on the apoptosis of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) cell OCI-LY8 apoptosis and to discover its related mechanism. METHODS: The MTS test and tumor suppression experiments in mice were used to detect the effect of rhein on the growth of DLBCL cells. Flow cytometry and Hoechst 33342 staining were used to authenticate the effect of rhein on the apoptosis of DLBCL cells. Furthermore, qPCR and Western blot were used to determine the effect of rhein on the transcription and translation of related genes in DLBCL cells for analyzing the molecular mechanism of this process. RESULTS: Both *in vitro* and *in vivo* experiments confirmed that rhein suppressed the occurrence and development of DLBCL. Rhein inhibited the viability of OCI-LY8 cells, down-regulated the expression of Rip2, Bcl-xL, NIK, NF-κB (p52 and p65) and IκBα at mRNA and protein levels, promoted the protein level of caspase-3 and induced apoptosis of OCI-LY8 cells. CONCLUSION: Rhein promotes OCI-LY8 cell apoptosis and suppresses the occurrence and development of DLBCL by inhibiting NF-κB classical and non-classical signaling pathways. It can be used as a new potential target for DLBCL treatment in the future.

[KEY WORDS] Rhein; Diffuse large B-cell lymphoma; NF-κB signaling pathway; Apoptosis

弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) 为好发于中老年男性的非霍奇金淋巴瘤 (non-Hodgkin lymphoma, NHL) 亚型之一, 约占 NHL 的 30% ~ 40%^[1]。近年来我国 DLBCL 的

病率呈上升趋势, 在城市和农村的肿瘤发病率中分别位居第 8 位和第 10 位。目前, 经典的一代 CHOP 和二代 R-CHOP 治疗方案使 DLBCL 的治愈率可达 60%, 但仍有 1/3 的患者因药物副作用等原因而未

[收稿日期] 2018-10-10 [修回日期] 2019-05-16

* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 81402979); 浙江省科技厅资助项目 (No. 2015C33270); 浙江省卫生厅资助项目 (No. 2014KYA230); 国家大学生创新创业训练计划项目 (No. 201810349028); 浙江省新苗人才计划项目 (No. 2018R432016); 绍兴市大学生科技创新项目 (No. SXSDC201709)

△ 通讯作者 Tel: 0575-88345826; E-mail: chenjujia10@163.com

▲ 并列第 1 作者

实现真正意义上的治疗^[2]。近期所研究的新型药物的联合靶向治疗虽有一定疗效,但预后不稳定且易引发“细胞因子风暴”,其中趋化因子介导的中性粒细胞更因分泌促肿瘤因子而参与了 DLBCL 的进展过程^[3]。因此发现新的 DLBCL 辅助或替代药物对实现 DLBCL 的完全治疗十分重要。

大黄酸(1,8-二羟基-3-羧基蒽醌, rhein)为来源于大黄的蒽醌类化合物^[4],它是保健品制备原料之一,在临床上具有通便排毒、降脂减肥和延缓衰老的功效。研究显示,大黄酸具有抗卵巢癌、肺癌和乳腺癌的作用^[5-6],且可与其它中药成分联合,通过影响核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路在炎症疾病中发挥作用^[7-8]。NF- κ B 的持续活化与肿瘤的发生发展有一定的相关性^[9],而影响 NF- κ B 信号通路的活化有可能影响 DLBCL 细胞生长。大黄酸对 DLBCL 细胞 NF- κ B 信号通路的影响及其对 DLBCL 发生发展的具体作用目前尚未见详细报道。因此,本研究将大黄酸作用于 DLBCL 细胞株 OCI-LY8 和 DLBCL 荷瘤小鼠,并通过检测细胞活力、细胞凋亡和周期分布的流式细胞术分析、qPCR、Hoechst 染色、Western blot 和抑瘤实验等方法,探讨了大黄酸对 DLBCL 细胞生长和凋亡的作用及其作用的相关分子机制,以期为临床治疗 DLBCL 新药的发现提供实验依据。

材 料 和 方 法

1 实验材料

4~5 周龄雄性 BALB/c 裸鼠购自浙江省实验动物中心,动物合格证号为 SCXK(沪)2013-0016。人源 DLBCL 细胞株 OCI-LY8 来源于 DSMZ;EB 病毒转化的人 B 淋巴细胞 CGM1 购自 ATCC。大黄酸购自北京索莱宝科技有限公司(用 5% 的碳酸氢钠配制贮备液);胰蛋白酶、胎牛血清、PBS 和 RPMI-1640 细胞培养液购自 Gibco;Annexin V-FITC/PI 试剂盒和脱脂奶粉购自 BD;PCR 引物由上海 Sangon Biotech 公司合成;DEPC 水和 TRIzol 购自 Invitrogen;Hoechst 33342 染色液、RIPA 裂解液(强)和 BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自 Beyotime;CellTiter 96[®] Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay 购自 Promega;ECL 化学发光液购自 Sigma;dNTP 混合物、逆转录酶、I 抗和酶标 II 抗购自 Boster Biotech;其它化学试剂均为国产分析纯。

2 主要方法

2.1 MTS 法检测细胞活力 将 DLBCL 细胞 OCI-LY8 和 EB 病毒转化的人 B 淋巴细胞 CGM1 分别置于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中,在 37

℃、5% CO₂ 培养箱中培养至对数生长期,取细胞经 1 000 r/min 离心 5 min 后去上清,分别用含有 0、2、10、50 和 250 μg/L 大黄酸的 RPMI-1640 完全培养液调整细胞浓度至 1×10^9 /L,并接种至 96 孔细胞培养板,每孔 100 μL,设 3 复孔。将细胞置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养,于培养 0、24、48 和 72 h 取出培养板,分别加入 MTS 试剂 10 μL,混匀后,将培养板继续置于细胞培养箱中培养 20 min。取出培养板,并利用酶标仪测量 490 nm 时各孔的吸光度(A)值,绘制细胞生长曲线,分析大黄酸对细胞活力的影响,并根据结果筛选后续实验的最佳剂量。

2.2 流式细胞术检测细胞凋亡水平 取分别经 0、10 和 50 μg/L 大黄酸作用 24 h 的 OCI-LY8 和 CGM1 细胞各 5×10^6 个,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,用 PBS 洗涤细胞 2 次,每次均经 1 000 r/min 离心 5 min 回收细胞。用 100 μL $1 \times$ Binding Buffer 重悬细胞,加入 5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL PI,混匀后避光染色 30 min,PBS 洗 2 次,经 1 000 r/min 离心 5 min 回收细胞。用 200 μL PBS 悬浮细胞,流式细胞术检测细胞凋亡水平,分析大黄酸对 OCI-LY8 细胞凋亡的影响。

2.3 Hoechst 染色观察细胞核型的变化 取处于对数生长期的 OCI-LY8 细胞,分别用含 0、10 和 50 μg/L 大黄酸的 RPMI-1640 完全培养液于 37 ℃、5% CO₂ 条件下培养 24 h,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,PBS 清洗细胞 2 次,每次均经 1 000 r/min 离心 5 min 回收细胞。于细胞沉淀中加入 10 μg/L 的 Hoechst 33342 染色液 100 μL,轻轻混匀,于 4 ℃ 避光染色 20 min。离心弃染液,用 PBS 洗细胞 2 次,1 000 r/min 离心 5 min 回收细胞。于细胞沉淀中加入 PBS 1 滴,混匀细胞,并将细胞滴加到载玻片上,在荧光显微镜下观察细胞的核型,并计数凋亡核型细胞所占的百分比。

2.4 qPCR 法分析细胞内基因的 mRNA 水平 取处于对数生长期的 OCI-LY8 细胞,用分别含 0 μg/L 或 50 μg/L 大黄酸的 RPMI-1640 完全培养液于 37 ℃、5% CO₂ 条件下培养 24 h,1 000 r/min 离心细胞 5 min,弃上清,PBS 清洗细胞 2 次,每次均经 1 000 r/min 离心 5 min 回收细胞。用 TRIzol 提取细胞 RNA(试剂用量和方法按说明书),Nano Drop 定量后逆转录成 cDNA。设计并合成 Rip2、 β -actin、Bcl-xL、NIK、NF- κ B 和 caspase-3 的引物(引物序列见表 1),qPCR 法检测各基因 mRNA 的 Ct 值,利用公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算各基因的 mRNA 相对含量,分析大黄酸对 OCI-LY8 细胞基因转录水平的影响。

表 1 qPCR 引物序列

Table 1. The primer sequences for qPCR

Name	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')
Rip2	CCCTGCCAGCTCTCAAGACA	GGCTATACCAGGCTGCAGACGTT
Bcl-xL	GAGGCAGGCGACGAGTTTGAAC	GCTGCGATCCGACTCACCAATAC
NIK	GCTGCGATCCGACTCACCAATAC	GCTGCGATCCGACTCACCAATAC
NF-κB	GATGGGACGACACCTCTACACAT	CCCCAAGAGTCGTCCAGGTCA
Caspase-3	GAGTAGATGTTTGAGCCTGAG	TGCCTCACCACCTTTAGAAC
β-actin	GGCGGCACCACCATGTACCCT	AGGGGCCGGACTCGTCATACT

2.5 Western blot 分析细胞内的蛋白水平 取分别经含有终浓度为 0、10 和 50 μg/L 大黄酸的 RPMI-1640 培养 24 h 后的 OCI-LY8 细胞,离心弃上清,用 PBS 洗涤细胞 2 次,每次均于 4 °C、1 000 r/min 条件下离心 5 min 以回收细胞,完全弃上清后,用 RIPA 裂解液(强)裂解各组细胞 10 s,12 000 r/min 离心 20 min,回收上清。各上清中的细胞总蛋白用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒定量后,以 GAPDH 为内参照,进行 Bcl-xL、NIK、p52、RIP2、IκBα、p65 和 caspase-3 蛋白的 Western blot 检测。用 ImageJ 软件进行各蛋白条带的灰度检测。

2.6 抑瘤实验 取 4 周龄 BALB/c 小鼠,并将其随机分为 6 小组,每组 10 只。待其适应环境 1 周后,在每只 BALB/c 裸鼠腹肌沟皮下接种 1 × 10⁷ 的 OCI-LY8 细胞 0.1 mL,于肿瘤细胞接种 2 d 后,分别尾静脉注射 0、1、5、25 和 125 μg/kg 大黄酸,其后每 2 d 用药 1 次,在用药 15 d 后处死小鼠,解剖剥离肿瘤组织,称瘤重并记录,分析大黄酸的抑瘤效果。

3 统计学处理

所有数据均经 SPSS 17.0 软件统计分析。实验数据均以均数 ± 标准差 (mean ± SD) 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA),组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 细胞活力的检测结果

MTS 实验的检测结果表明,OCI-LY8 细胞经 2、10、50 和 250 μg/L 的大黄酸作用后,其活力均受到明显的抑制 (*P* < 0.01),且其受抑程度随着大黄酸用药浓度和作用时间的增加越显著,见图 1A。B 淋巴细胞 CGM1 的活力在大黄酸用药浓度低于 50 μg/L 时未受影响,但当药物剂量达到 250 μg/L 时,CGM1 细胞的活力亦受到显著抑制 (*P* < 0.01),见图 1B。因此后续实验选择 10 μg/L 和 50 μg/L 为药物作用剂量来分析药物作用的分子机制。

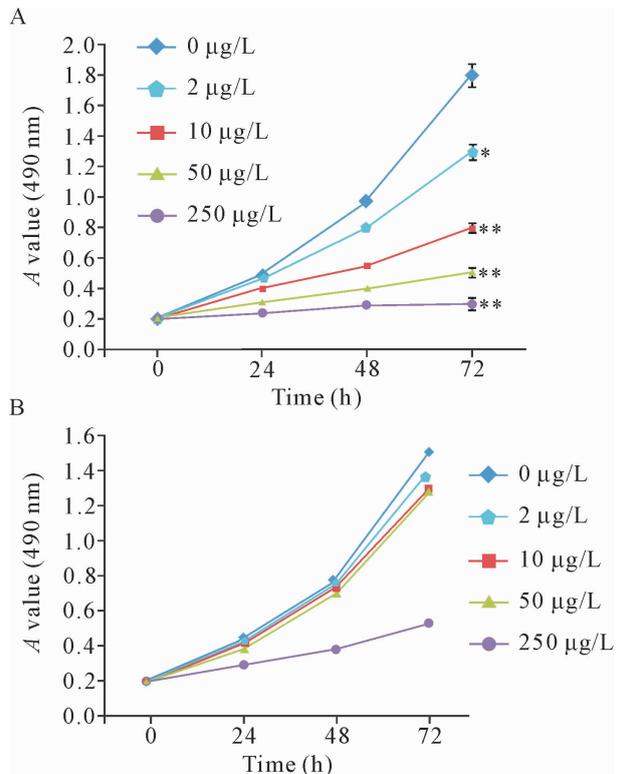


Figure 1. The results of cell viability by MTS assay. OCI-LY8 (A) and CGM1 (B) cells were treated with 0 ~ 250 μg/L rhein. Mean ± SD. *n* = 3. * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01 vs 0 μg/L group.

图 1 MTS 法检测细胞活力

2 流式细胞术检测细胞凋亡的结果

OCI-LY8 细胞分别经 10 μg/L 和 50 μg/L 大黄酸作用 24 h 后,流式细胞术检测发现细胞凋亡率由 0 μg/L 组的 0.13% ± 0.05% 增加到 16.72% ± 1.03% 和 28.24% ± 1.14%,其凋亡水平随用药剂量增加而增加 (*P* < 0.01);而 CGM1 细胞的凋亡水平未受明显影响 (*P* > 0.05),见图 2。

3 Hoechst 33342 染色的结果观察

Hoechst 33342 染色结果显示,在 10 μg/L 和 50 μg/L 大黄酸作用下,部分 OCI-LY8 细胞的核染色质浓缩,核碎裂,出现凋亡小体,且发生凋亡核型改变的细胞随用药剂量的增加而增加 (*P* < 0.01),见图 3。该结果与流式细胞术检测细胞凋亡的结果基本相符。

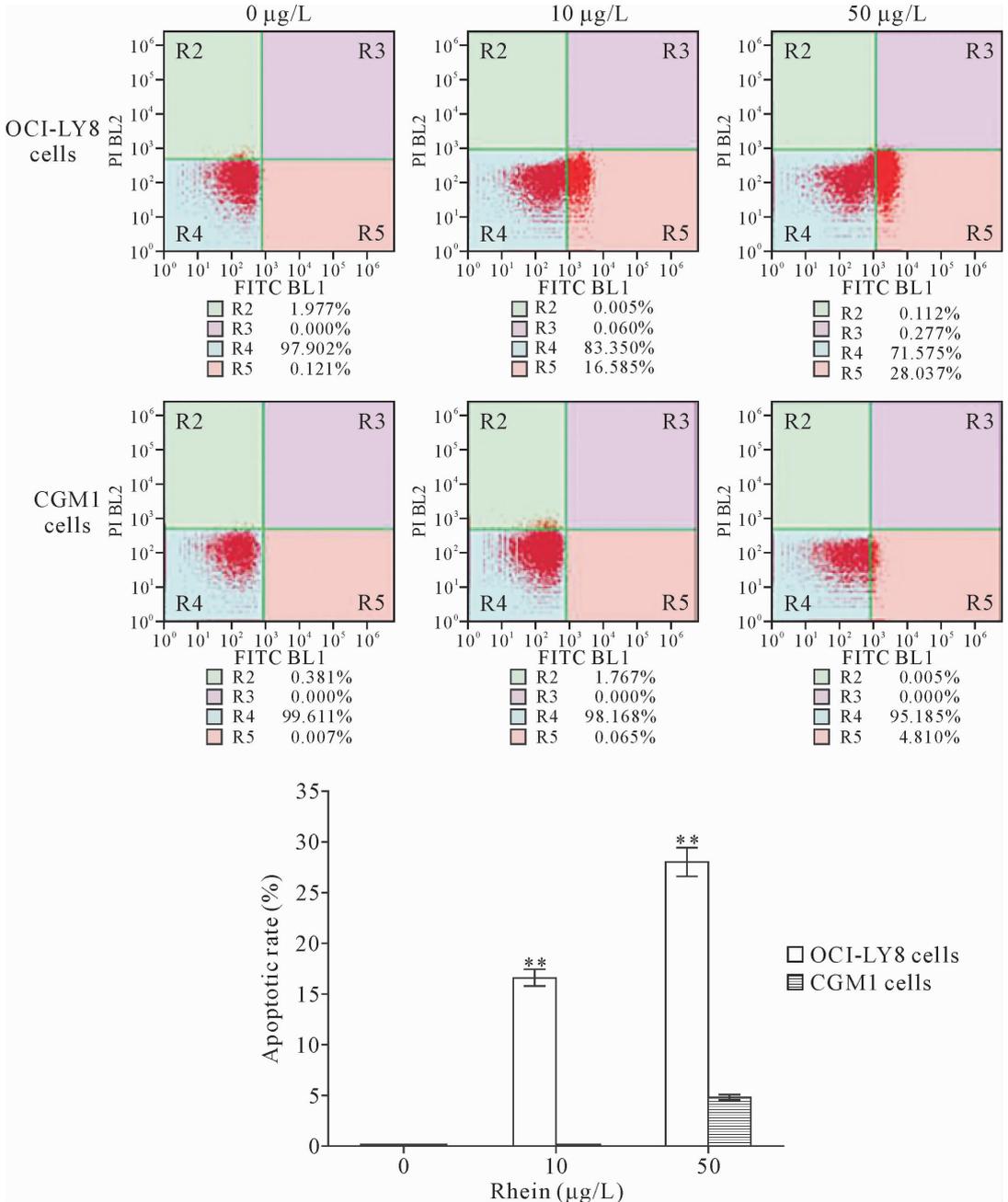


Figure 2. The results of apoptotic rate examined by flow cytometry. Mean ± SD. n = 3. ** P < 0.01 vs 0 µg/L group.

图 2 流式细胞术检测细胞凋亡率的结果

4 qPCR 检测结果

qPCR 检测结果显示, 50 µg/L 大黄酸作用 OCI-LY8 细胞 24 h 后, Rip2、Bcl-xL、NIK 和 NF-κB 的 mRNA 水平均显著下降 (P < 0.01), 而 caspase-3 的 mRNA 水平增长了近 2 倍 (P < 0.01), 见图 4。

5 Western blot 检测结果

Western blot 检测结果显示, 与 0 µg/L 对照组相比, 10 µg/L 和 50 µg/L 大黄酸用药组 OCI-LY8 细胞内 RIP2、NIK、p52、Bcl-xL、p-p65 和 p-IκBα 蛋白水平显著降低, 而 cleaved caspase-3 的蛋白水平显著上升 (P < 0.01), 且蛋白含量的改变与用药剂量相关, 见

图 5。

6 抑瘤实验的结果

大黄酸显著抑制了荷 DLBCL 小鼠肿瘤组织的生长 (P < 0.01), 且其抑制作用随大黄酸浓度的增加而加强, 见图 6。但当用药剂量达到 125 µg/kg 时, 于用药 3 d 后, 动物开始出现死亡, 当用药 15 d 处死时, 虽然肿瘤组织显著减小, 甚至有 1 只小鼠未发现肿瘤组织, 但小鼠死亡量已达到 7 只。因此, 该药物 25 µg/kg 剂量以下低浓度长期给药的方式适宜用于抗 DLBCL 治疗。

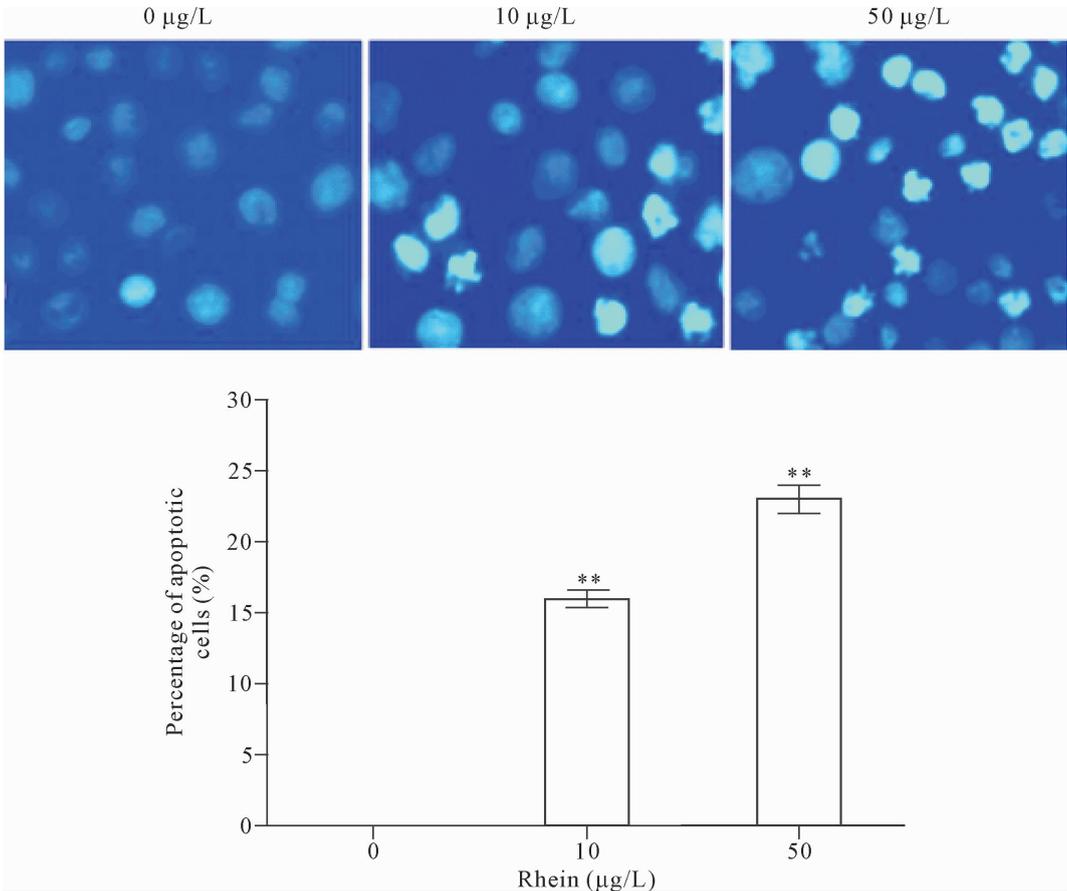


Figure 3. The results of Hoechst 33342 µg/L staining (×200). Mean ± SD. n = 3. ** P < 0. 01 vs 0 µg/L group.

图3 Hoechst 33342 染色结果

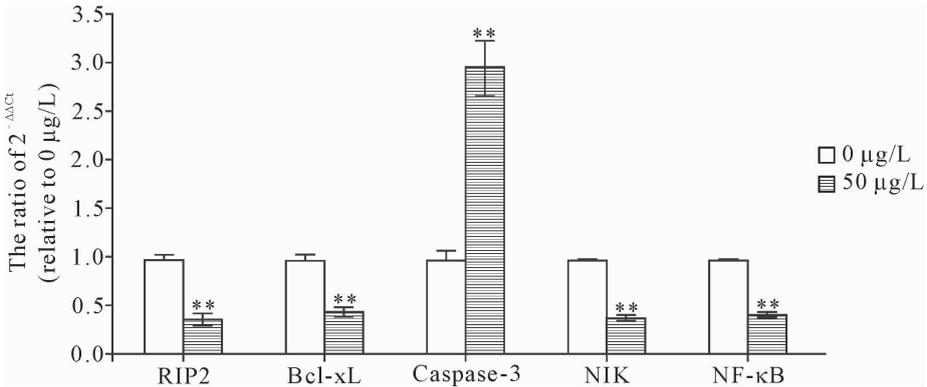


Figure 4. The results of qPCR. Mean ± SD. n = 3. ** P < 0. 01 vs 0 µg/L group.

图4 qPCR 检测结果

讨 论

蒽醌类化合物对多种肿瘤细胞的生长和增殖有抑制作用,而大黄酸作为醌类化合物重要成员,它可抑制恶性胶质瘤细胞侵入正常脑组织,我们推测该药物可能对 DLBCL 有一定的治疗作用,而本研究中的 MST 实验也证实了此点。当 DLBCL 细胞株 OCI-LY8 经 2 ~ 50 µg/L 大黄酸作用后,细胞活力明显受抑制,且当大黄酸浓度越大、作用时间越长,其抑制

作用越明显。同时 Hoechst 染色和流式细胞术检测证实,大黄酸可诱导 OCI-LY8 细胞凋亡,而抑瘤实验也表明大黄酸可在体内抑制 DLBCL 肿瘤组织的生长,这些均与 Blacher 等^[10]报道的大黄酸对多形性胶质母细胞瘤抑制作用的研究结果相一致。此外,qPCR 和 Western blot 检测结果证实,OCI-LY8 细胞经大黄酸作用 24 h 后,细胞内 NF-κB 通路相关蛋白及其通路下游的线粒体途径相关分子 NIK、Rip2、p52、p65 和 Bcl-xL 的 mRNA 和蛋白水平显著下调,

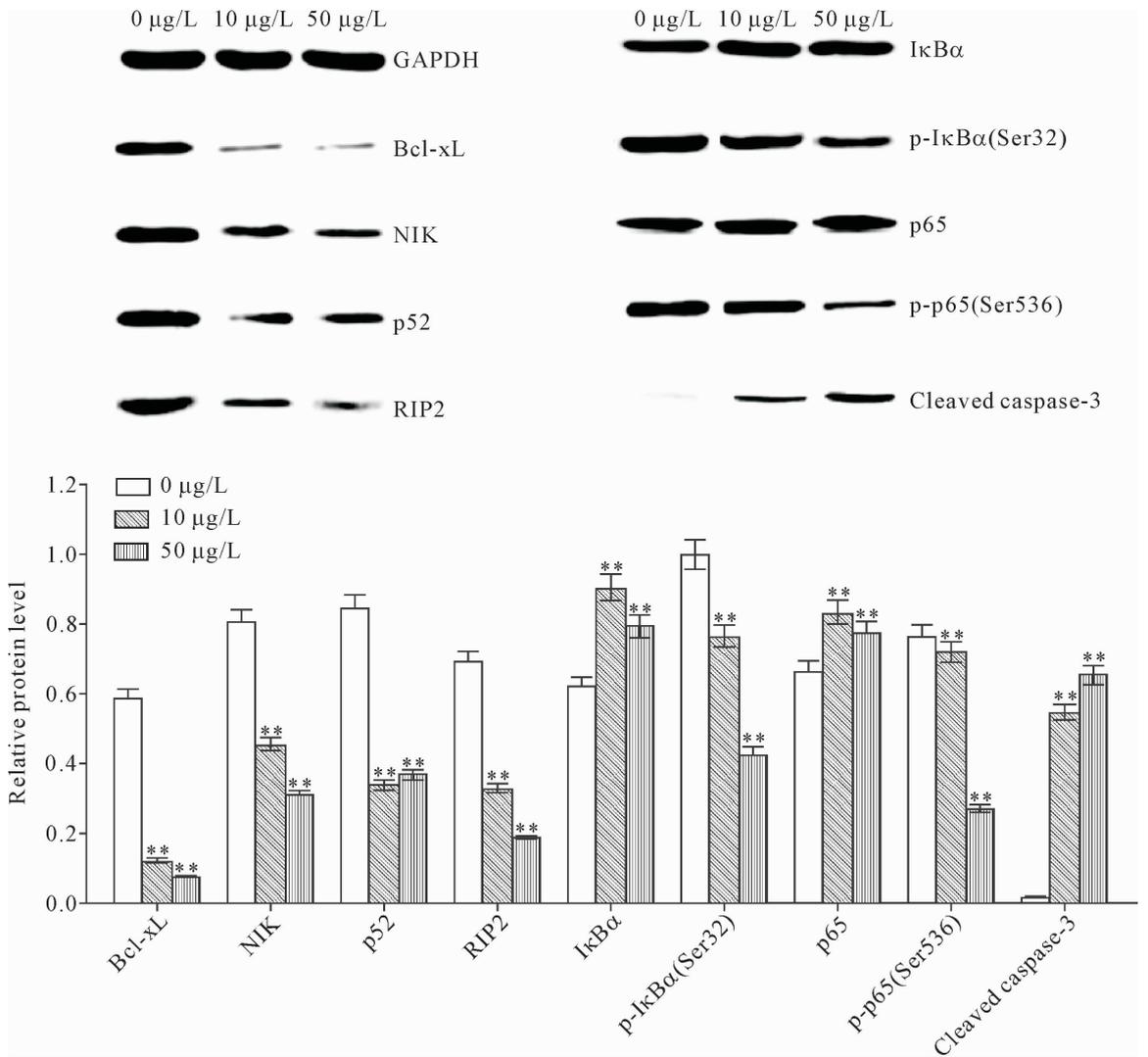


Figure 5. The results of Western blot. Mean ± SD. n = 3. ** P < 0.01 vs 0 μg/L group.

图5 Western blot 检测结果

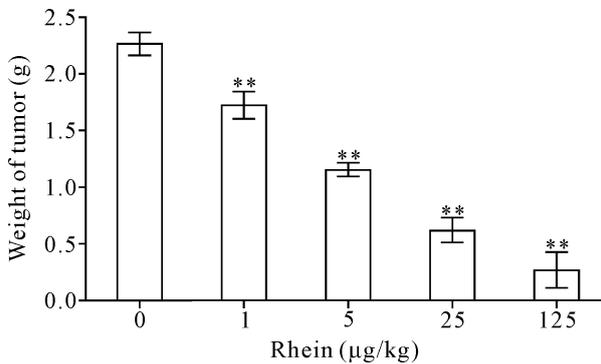


Figure 6. The results of tumor inhibiting experiment. Mean ± SD. n = 10. ** P < 0.01 vs 0 μg/kg group.

图6 荷瘤小鼠抑瘤实验检测结果

IκBα 蛋白磷酸化水平显著降低,同时,凋亡的线粒体内源途径相关蛋白 caspase-3 水平增加,Bcl-xL 下降,由此猜测大黄酸通过 NF-κB 信号通路发挥作用。

NF-κB 为一个转录因子蛋白家族,其成员包括 p50(NF-κB1)、p52(NF-κB2)、p65(NF-κB3)、Rel(cRel)

和 RelB。在静息细胞中,这些蛋白质二聚化形成的 NF-κB 常常与细胞质中的抑制因子(IκBα、IκBβ 和 IκBε)结合而失去活性。而 IκB 激酶复合体(IKK)及其激活剂 NIK 则可激活 NF-κB,为肿瘤的增殖提供生长环境,对肿瘤的发生和发展起促进作用^[11]。当细胞受到细胞外信号刺激后,IKK 复合体活化,促使 IκB 磷酸化,使 NF-κB 暴露核定位位点。游离的 NF-κB 迅速移位到细胞核,与特异性 κB 序列结合,促进 Bcl-xL 和 IL-1 等基因的表达。Bcl-xL 表达上调后将抑制促凋亡因子 Bax 移位插入线粒体外膜的功能。而 Bax/Bcl-2 为细胞凋亡信号的分子开关,其比值的下降将使线粒体膜的通透性降低,抑制了细胞色素 C 的释放和 caspase-3 的活化^[12],细胞得以生存。而当 IL-1 的表达水平增加后,IL-1 将与细胞膜 IL-1R 结合,并将通过经典途径调控 NF-κB,从而进一步抑制细胞凋亡的发生^[13]。

在 NF-κB 信号通路中,RIP2 是决定细胞生存或

死亡的双向功能适配器分子,为激发经典 NF- κ B 信号通路的重要成员,RIP2 泛素化后可促进下游 IKK 复合体形成和 NF- κ B 转录。因此,当大黄酸诱使 RIP2 表达下调后,IKK 复合体的形成和促 I κ B α 磷酸化作用减弱,I κ B α 降解量减少,从而最终游离入核的 p65/p52 二聚体数量也相应减少,最终 OCI-LY8 细胞凋亡水平增加^[14]。NIK 为非经典 NF- κ B 信号通路启动分子,并被认为是套细胞淋巴瘤治疗的新靶点^[15]。当大黄酸促使 NIK 表达下降后,p52 前体(p100)被加工降解的比例也随之降低,转移到细胞核中的 p52 和 p65 异二聚也相应减少^[16],进而下调了抗凋亡蛋白 Bcl-xL 和 IL-1 的水平,进一步诱导了 OCI-LY8 细胞凋亡。由此可以肯定,抑制 NF- κ B 信号通路活化是大黄酸诱导 DLBCL 细胞 OCI-LY8 凋亡的重要机制。

综上所述,适当剂量的大黄酸可通过抑制 OCI-LY8 细胞 NF- κ B 经典和非经典信号通路来抑制该细胞的增殖活性,并激活细胞线粒体相关的内源凋亡通路,引起该细胞的凋亡。本实验为 DLBCL 发病机制的探索、疾病的早期诊断和治疗新药的研发提供了实验依据。

[参 考 文 献]

[1] Ren W, Ye X, Su H, et al. Genetic landscape of hepatitis B virus-associated diffuse large B cell lymphoma[J]. *Blood*, 2018, 131(24):2670-2681.

[2] Offner F, Samoiloova O, Osmanov E, et al. Frontline rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone with bortezomib (VR-CAP) or vincristine (R-CHOP) for non-GCB DLBCL[J]. *Blood*, 2015, 126(16):1893-1901.

[3] Manfroi B, Mckee T, Mayol JF, et al. CXCL-8/IL8 produced by diffuse large B-cell lymphomas recruits neutrophils expressing a proliferation-inducing ligand APRIL[J]. *Cancer Res*, 2016, 77(5):1097-1107.

[4] 屈 艳, 张 崇, 贾岩龙, 等. 大黄酸通过抑制 miR-21 而干预 TGF- β 1/Smad 通路并减轻博莱霉素所致大鼠肺纤维化[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(1):149-153.

[5] Liweber M. Targeting apoptosis pathways in cancer by

Chinese medicine[J]. *Cancer Lett*, 2013, 332(2):304-312.

[6] Liu J, Chen ZH, Zhang YJ, et al. Rhein protects pancreatic β -cells from dynamin-related protein-1-mediated mitochondrial fission and cell apoptosis under hyperglycemia[J]. *Diabetes*, 2013, 62(11):3927-3935.

[7] Wu J, Hu Y, Xiang L, et al. San-Huang-Xie-Xin-Tang constituents exert drug-drug interaction of mutual reinforcement at both pharmacodynamics and pharmacokinetic level: a review[J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7:448.

[8] Gao Y, Chen X, Fang L, et al. Rhein exerts pro- and anti-inflammatory actions by targeting IKK β inhibition in LPS-activated macrophages[J]. *Free Radical Biol Med*, 2014, 72:104-112.

[9] Yang Y, Shaffer AL 3rd, Emre NC, et al. Exploiting synthetic lethality for the therapy of ABC diffuse large B cell lymphoma[J]. *Cancer Cell*, 2012, 21(6):723-737.

[10] Blacher E, Levy A, Baruch BB, et al. Targeting CD38 in the tumor microenvironment; a novel approach to treat glioma[J]. *Cancer Cell Microenvironment*, 2015, 2:e486.

[11] Zhang W, Tan W, Wu X, et al. A NIK-IKK α module expands ErbB2-induced tumor-initiating cells by stimulating nuclear export of p27/Kip1[J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(5):647-659.

[12] Moldoveanu T, Follis AV, Kriwacki RW, et al. Many players in BCL-2 family affairs[J]. *Trends Biochem Sci*, 2014, 39(3):101-111.

[13] Afonina IS, Zhong Z, Karin M, et al. Limiting inflammation; the negative regulation of NF- κ B and the NLRP3 inflammasome[J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(8):861-869.

[14] Annibaldi A, John SW, Berghe TV, et al. Ubiquitin-mediated regulation of RIPK1 kinase activity independent of IKK and MK2[J]. *Mol Cell*, 2018, 69(4):566-580.

[15] Rahal R, Frick M, Romero R, et al. Pharmacological and genomic profiling identifies NF- κ B-targeted treatment strategies for mantle cell lymphoma[J]. *Nat Med*, 2014, 20(1):87-92.

[16] Liu J, Huang X, Hao S, et al. Peli1 negatively regulates noncanonical NF- κ B signaling to restrain systemic lupus erythematosus[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):1136.

(责任编辑: 宋廷君, 罗 森)