

# 孕烷 X 受体参与 AFB1 诱导的人肝 L02 细胞坏死性凋亡

廖昆<sup>1</sup>, 夏斌<sup>1</sup>, 张玉静<sup>1</sup>, 殷花<sup>1</sup>, 何承勇<sup>2</sup>, 林育纯<sup>1,2</sup>, 林忠宁<sup>1,2</sup>

(1.广东省营养膳食与健康重点实验室, 中山大学公共卫生学院, 广东 广州 510080; 2. 厦门大学公共卫生学院, 福建 厦门 361102)

**摘要:** 目的 初步探讨孕烷 X 受体(PXR)对黄曲霉毒素 B1(AFB1)诱导肝细胞 DNA 损伤和坏死性凋亡的影响。方法 采用已构建的 PXR 高表达 L02-PXR 和空白载体对照 L02-pB 细胞;实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测细胞 *NR1I2* 和 *CYP3A4* mRNA 水平改变;蛋白免疫印迹(Western blotting)检测细胞内 PXR 和坏死性凋亡下游效应自噬分子 LC3- 和 LC3- 蛋白相对表达含量;双核微核试验(CBMN)检测细胞遗传损伤情况;采用噻唑蓝(MTT)法测定 AFB1 对细胞活性抑制影响;利用坏死性凋亡抑制剂 Nec-1 构建坏死性凋亡抑制的细胞模型,验证 AFB1 诱导的坏死性凋亡的效应。结果 与 L02-pB 细胞相比,L02-PXR 细胞 *NR1I2* mRNA 和 PXR 蛋白显著上调(均  $P<0.001$ )。AFB1 显著地诱导 L02-pB 和 L02-PXR 细胞中 *CYP3A4* mRNA 上调(均  $P<0.05$ ),在 L02-PXR 细胞中的效应更为明显。与对照组相比,AFB1 在 5~30  $\mu\text{mol/L}$  呈剂量反应关系诱导 L02-pB 和 L02-PXR 细胞的微核率增高(均  $P<0.05$ ),L02-PXR 细胞更为明显;同时,AFB1 明显地诱导两株细胞的核芽率和核桥率,但随 AFB1 剂量增高都有下降趋势。细胞活性随 AFB1 浓度(1.875~120  $\mu\text{mol/L}$ )增加呈剂量反应关系抑制(均  $P<0.05$ );且相对于 L02-pB 细胞,L02-PXR 细胞对 AFB1 处理 48 h 诱导的细胞活性抑制作用更为敏感( $P<0.05$ )。Nec-1 可显著性抑制 AFB1 诱导的 L02-PXR 细胞活性抑制率( $P<0.05$ ),然而却不能降低 AFB1 诱导 L02-pB 细胞活性抑制率。此外,AFB1 显著性诱导 L02-pB 和 L02-PXR 坏死性凋亡下游 LC3- 的上调(均  $P<0.05$ );且与 L02-pB 细胞相比,Nec-1 对 AFB1 诱导的 L02-PXR 细胞活性抑制和 LC3- 上调的抑制效果更为明显 ( $P<0.05$ )。结论 PXR 参与 AFB1 诱导人肝细胞 DNA 损伤介导的坏死性凋亡,与 PXR 促进 AFB1 诱导 *CYP3A4* 基因上调有关。

**关键词:** 孕烷 X 受体; 坏死性凋亡; 黄曲霉毒素 B1; 肝细胞毒性

中图分类号: R114

文献标识码: A

文章编号: 1672-3619(2014)10-1267-05

## Pregnane X receptor involves in the effect of aflatoxin B1 on necroptosis in human normal L02 liver cells

LIAO Kun<sup>1</sup>, XIA Bin<sup>1</sup>, ZHANG Yu-jing<sup>1</sup>, YIN Hua<sup>1</sup>, HE Cheng-yong<sup>2</sup>, LIN Yu-chun<sup>1,2</sup>, LIN Zhong-ning<sup>1,2</sup>

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Food, Nutrition and Health, School of Public Health, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510080; 2. School of Public Health, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361102, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of pregnane X receptor (PXR) over expression on aflatoxin B1 (AFB1)-induced DNA damage and necroptosis in human normal liver L02 cells. **Methods** The established cells models of stable transfection of over expression PXR (L02-PXR) and null vector pBabe-puro (L02-pB) were used. The background levels of *NR1I2* mRNA and PXR protein, and the expression of AFB1-induced *CYP3A4* mRNA and LC3-I/LC3-II protein were determined by the real time PCR (qRT-PCR) and Western blotting, respectively. The cytokinesis-block micronucleus (CBMN) assay was adopted to evaluate the genotoxicity. The cell viability inhibition rate was determined by MTT assay, after treatment with different doses of AFB1. The inhibition models of necroptosis were established by treatment with necroptosis inhibitor Nec-1. **Results** The expression of *NR1I2* mRNA and PXR protein in L02-PXR cells were higher than that in L02-pB cells (all  $P<0.001$ ). The level of *CYP3A4* mRNA was significantly up regulated in L02-pB and L02-PXR cells by treatment with AFB1 (all  $P<0.05$ ). Compared with control group (Ctrl), MN frequencies in L02-pB and L02-PXR cells were significantly increased by treatment with AFB1 in a dose-dependent manner (all  $P<0.05$ ), especially, in L02-PXR cells. Meanwhile, NBD and NBP frequencies were significantly increased by treatment with AFB1. However, AFB1 with a higher dose induced downward trends in frequencies of NBD and NBP. Moreover, the inhibition rate of cell viability was increased after treatment with AFB1 (1.875~120  $\mu\text{mol/L}$ ) in a dose-dependent manner (all  $P<0.05$ ); specifically, the inhibitory effects of AFB1-treatment after 48 h were significantly stronger in L02-PXR cells than in L02-pB cells ( $P<0.05$ ). Interestingly, necroptosis inhibitor Nec-1 could inhibit AFB1-induced cell death in L02-PXR cells ( $P<0.05$ ). On the contrary, Nec-1 could not prevent L02-pB cells from death by treatment with AFB1. In addition, the expression of necroptotic LC3-II, a classical marker of autophagy, was significantly increased by treatment with AFB1 in two cell lines (all  $P<0.05$ ). Notably, pre-treatment with Nec-1 was able to block the inducement of necroptotic LC3-II in a more efficiently way in L02-PXR cells than in L02-pB cells ( $P<0.05$ ). **Conclusion** PXR involved in the effect of AFB1 on necroptosis by DNA damage mediation in human liver cells; specifically, the up regulation of *CYP3A4* gene may relate to the AFB1-induced DNA damage.

**Key words:** pregnane X receptor; necroptosis; aflatoxin B1; hepatotoxicity

基金项目:国家自然科学基金(81172705,81072334);广东省自然科学基金(S2011020002769);福建省自然科学基金(2014J01372)

作者简介:廖昆(1987-),男,硕士研究生,研究方向:分子毒理学

通讯作者:林忠宁(1968-),男,教授,研究方向为外源物毒作用和化学致癌的信号通路及其分子调控机制,E-mail:linzhn@xmu.edu.cn

黄曲霉毒素(aflatoxins, AFTs)广泛存在于污染的食品中,尤以霉变的花生、玉米及谷类含量最多<sup>[1]</sup>。调查发现,全世界超过45亿人存在接触AFTs的风险,主要涉及的地区为撒哈拉以南非洲、东亚、东南亚和南美洲等热带地区<sup>[2]</sup>。黄曲霉毒素B1(aflatoxin, AFB1)是AFTs的20多种亚型之一,为已知的致遗传毒性和肝癌物质<sup>[1-2]</sup>。坏死和凋亡是细胞最为常见的死亡形式。最近研究发现,坏死也可像凋亡一样受细胞程序性调控,故命名为坏死性凋亡(necroptosis)<sup>[3-5]</sup>。众所周知,凋亡在阻滞外源化学物诱导的遗传损伤介导的细胞恶性转化中发挥着重要的作用,其缺失被认定为致癌的特征之一<sup>[6]</sup>。最近研究发现,坏死性凋亡可能在抑制肿瘤的发生过程同样起到非常重要的作用<sup>[4]</sup>。目前,发现环境相关的外源化学物如Cd可以诱导细胞坏死性凋亡<sup>[7]</sup>,但是AFB1是否会诱导细胞坏死性凋亡迄今并未见报道。活化的孕烷X受体(pregnanane X receptor, PXR)可以调控、相代谢酶和相转运体,从而影响外源化学物对机体的损伤机制<sup>[8]</sup>。外源化学物进入机体被PXR等受体识别是其代谢活化的第一步<sup>[9]</sup>。近期研究发现,AFB1可以激活HepG2肝细胞中的PXR,上调相代谢酶CYP3A4<sup>[10]</sup>。因此,本研究初步探讨PXR是否参与AFB1诱导的肝细胞坏死性凋亡及其与遗传损伤的潜在关系。

## 1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器 RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司;胎牛血清(FBS)购自美国Hyclone公司;噻唑蓝(MTT)和二甲基亚砷(DMSO)均购自美国Sigma公司;AFB1购自英国Alexis Biochemicals公司;坏死性凋亡抑制剂Nec-1购自美国Cayman Chemical公司;细胞RNA提取试剂TRIzol购自美国Invitrogen公司;qRT-PCR试剂盒购自日本Takara公司;BCA试剂盒购自上海碧云天公司; $\beta$ -actin单克隆抗体购自美国Proteintech Group公司;PXR多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司;LC3单克隆抗体购自美国Abgent公司;二抗均购自美国Proteintech Group公司;蛋白电泳仪系统购自美国Bio Rad公司;CO<sub>2</sub>培养箱购自美国Thermo公司;ELx-800酶标仪购自美国BioTek公司;ViiA™ 7 Real-Time PCR系统购自美国Life Technologies公司;倒置显微镜购自日本Nikon公司。

1.2 细胞培养及PXR蛋白高表达L02细胞验证 永生生化人正常肝L02细胞,由深圳市疾病预防控制中心馈赠,在含有10% FBS、1 000 U/ml青霉素和100 mg/L链霉素的RPMI 1640培养基中,37℃、5%

CO<sub>2</sub>(V/V)和饱和湿度条件下培养。本研究采用本课题组已构建的PXR高表达L02-PXR和空白载体对照L02-pB细胞,并进行检测验证。

1.3 坏死性凋亡抑制的细胞模型构建 研究表明,necrostatin-1(Nec-1)可以作为坏死性凋亡的特异性抑制剂,广泛用于坏死性凋亡及其机制的研究<sup>[4-5,7,11]</sup>。为了研究AFB1是否能诱导坏死性凋亡及PXR在AFB1诱导的坏死性凋亡的作用,我们采用Nec-1处理建立坏死性凋亡抑制细胞模型进行观察。30  $\mu$ mol/L Nec-1预处理1 h后,给予AFB1共同处理至观察时间终点,进行相关指标的检测。

1.4 蛋白免疫印迹(Western blotting)实验 参考课题组前期条件<sup>[12]</sup>。简略之,用全细胞裂解液(1% NP-40,5 mmol/L EDTA,150 mmol/L NaCl,50 mmol/L HCl,pH 8.0,1% Triton X-100,1% PMSF,and 1% cocktail抑制剂)裂解细胞。利用BCA试剂盒检测蛋白的浓度。各组取等量的蛋白(30  $\mu$ g)通过蛋白免疫印迹检测PXR、LC3和 $\beta$ -actin蛋白的表达水平。

1.5 基因mRNA转录水平的qRT-PCR检测 参照课题组优化的条件进行qRT-PCR<sup>[12]</sup>。引物序列:NR1I2为5'-AAGACACTGCAGGTGGC-3'(正向)和5'-CTTCAGGAACAAGAACCTATG-3'(逆向);CYP3A4为5'-TCCCACAAAGCTCTGTCCG-3'(正向)和5'-CATAGGTGGGTGGTGCCTT-3'(逆向);ACTB为5'-CACAGGGCGTGATGGT-3'(正向)和5'-CTCAAACATGATCTGGGTCAT-3'(逆向)。

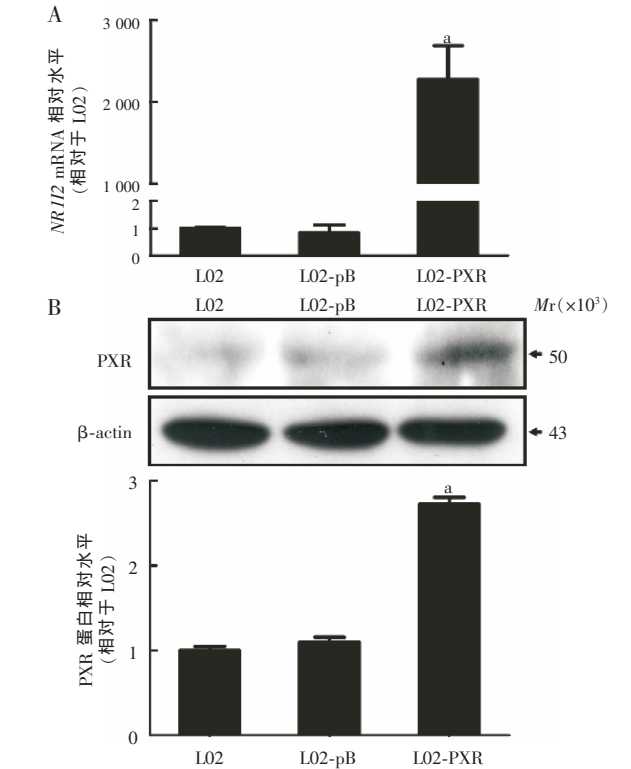
1.6 双核微核实验 采用胞浆阻滞微核法(CBMN)<sup>[13]</sup>。3×10<sup>5</sup>个/孔细胞接种于6孔板,培养24 h后,加入不同浓度的AFB1(5~30  $\mu$ mol/L)处理36 h。撤去AFB1处理,换上新鲜完全培养基,处理细胞松弛素B(2.5  $\mu$ g/ml)36 h,0.075 mol/L KCl低渗液低渗2 min,甲醇/冰醋酸(3:1)固定液固定3次,每次15 min,Giemsa染色。根据文献<sup>[13]</sup>报道的方法和标准,计数细胞微核率、核芽率和核桥率。

1.7 细胞活性测定 采用MTT颜色反应法检测<sup>[12]</sup>。将8×10<sup>4</sup>个细胞接种于96孔板中,加入不同浓度的AFB1处理24和48 h;终点前4 h加入20  $\mu$ l MTT(5 mg/L);用DMSO完全溶解形成的甲瓩结晶,置于酶标仪检测570 nm吸光度值,计算细胞活性抑制率。

1.8 统计学分析 采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。每个实验重复3次,计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组间比较采用t检验;多组间比较采用单因素(ANOVA)分析,随后处理组分别与对照组比较采用Dunnnett's-t检验法。剂量反应关系采用Pearson's检验。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

## 2 结果

2.1 L02-PXR 细胞高表达 *NR1I2* 基因及 PXR 蛋白水平 与 L02 细胞相比, L02-pB 细胞的 *NR1I2* 基因表达无明显变化 ( $P>0.05$ , 图 1A), L02-PXR 细胞中 *NR1I2* 基因 mRNA 水平显著地升高至  $(2\ 814.45 \pm 503.54)$  倍 ( $P<0.001$ )。同时, L02-PXR 细胞中 PXR 蛋白比 L02 和 L02-pB 细胞表达明显增强 (均  $P<0.001$ ), 为 L02-pB 细胞的  $(2.47 \pm 0.08)$  倍 (图 1B)。

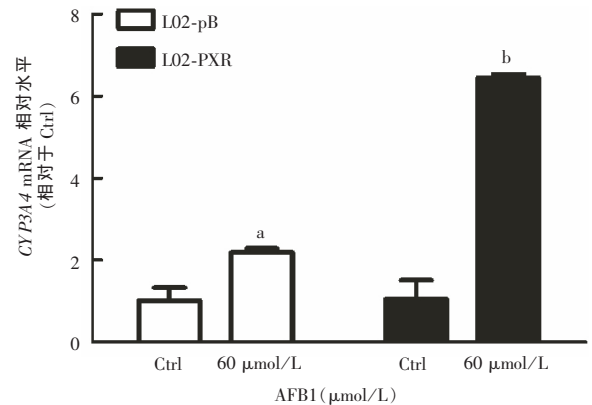


A: *NR1I2* mRNA 表达水平; B: PXR 蛋白的表达水平。相对于 L02 细胞,  $^a P<0.001$ 。

图 1 细胞中 *NR1I2* mRNA 和 PXR 蛋白的表达水平

Fig.1 The expression of *NR1I2* mRNA and PXR protein in three cell lines

2.2 AFB1 诱导 PXR 的活化 与对照组相比,  $60\ \mu\text{mol/L}$  AFB1 处理 L02-pB 和 L02-PXR 细胞 24 h, 分别显著地诱导 *CYP3A4* mRNA 升高至  $(2.19 \pm 0.10)$  倍和  $(6.45 \pm 0.09)$  倍 (均  $P<0.05$ , 图 2)。

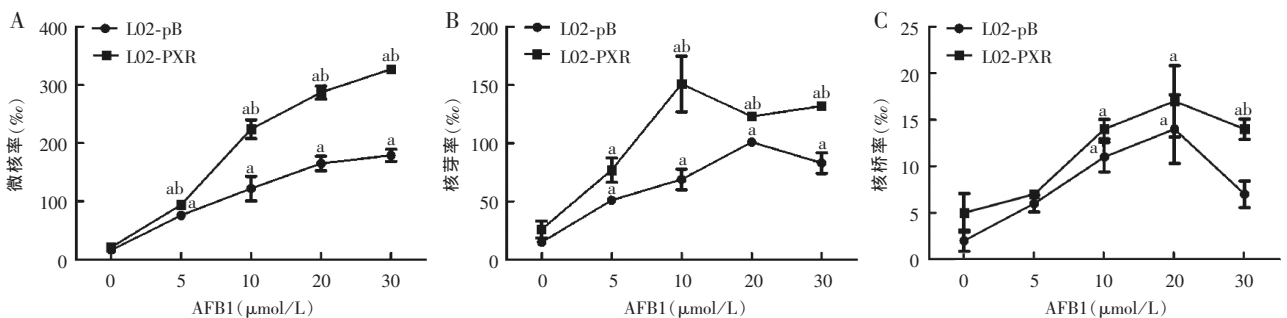


与对应的 Ctrl 组相比,  $^a P<0.05$ ,  $^b P<0.001$ 。

图 2 AFB1 诱导细胞 *CYP3A4* mRNA 升高

Fig.2 The level of *CYP3A4* mRNA is increased by treatment with AFB1

2.3 PXR 促进 AFB1 诱导的 L02 细胞遗传损伤作用 图 3A 结果显示, AFB1 诱导两株细胞的微核率呈剂量反应关系 (均  $P<0.05$ )。在 L02-pB 细胞中,  $5\sim 30\ \mu\text{mol/L}$  AFB1 处理 36 h, 诱导微核率分别从  $(16 \pm 1.6)\%$  升高至  $(76 \pm 0.4)\%$ 、 $(122 \pm 21.1)\%$ 、 $(165 \pm 12.4)\%$  和  $(179 \pm 10.5)\%$ 。在 L02-PXR 细胞中, AFB1 诱导的微核率比 L02-pB 细胞升高更为明显 ( $P<0.05$ ), 诱导微核率从  $(21 \pm 1.2)\%$  升高到  $(96 \pm 3.0)\%$ 、 $(224 \pm 16.2)\%$ 、 $(287 \pm 11.1)\%$  和  $(327 \pm 7.6)\%$ 。相似地, AFB1 诱导 L02-pB 和 L02-PXR 细胞的核芽率和核桥率均显著上升 (均  $P<0.05$ ), 并且在 L02-PXR 细胞中更为明显 (图 3B 和图 3C)。但随着 AFB1 浓度升高, 在两株细胞中的核芽率和核桥率有下降的趋势。



A: 微核率; B: 核芽率; C: 核桥率。与对照组相比,  $^a P<0.05$ ,  $^b P<0.01$ 。

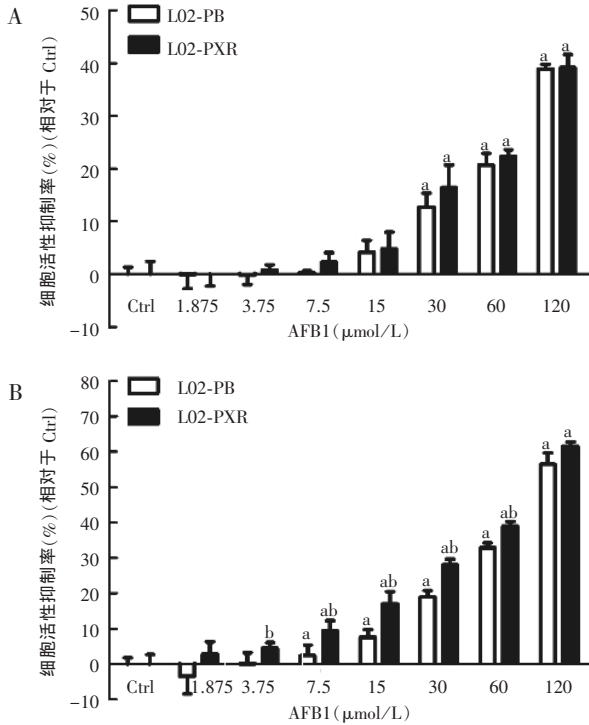
图 3 AFB1 诱导 L02-pB 和 L02-PXR 细胞的微核率、核芽率和核桥率的分析结果

Fig.3 Results of micronuclei, nuclear bud and nucleoplasmic bridge frequencies in L02-pB and L02-PXR cells by AFB1-induced

2.4 PXR 促进 AFB1 诱导 L02 细胞活性抑制 为了观察和比较 AFB1 对肝细胞的毒性效应, MTT 实验结果显示, L02-pB 和 L02-PXR 细胞给予 AFB1

( $1.875\sim 120\ \mu\text{mol/L}$ ) 处理 24 和 48 h, 呈剂量反应关系抑制两株细胞的活性 (均  $P<0.05$ )。同时发现相同剂量的 AFB1 对两株细胞活性抑制, 在 24 h 的差异无

统计学意义( $P>0.05$ ,图 4A);但在 48 h 时,除 1.875  $\mu\text{mol/L}$  外其余剂量 AFB1 对 L02-PXR 细胞活性的抑制更加明显( $P<0.05$ ,图 4B)。



A: AFB1 染毒 24 h; B: AFB1 染毒 48 h。与 Ctrl 组相比,  $^a P<0.05$ ; 与相同剂量 AFB1 处理的 L02-pB 细胞相比,  $^b P<0.05$ 。

图 4 AFB1 对不同细胞株的细胞活性抑制作用

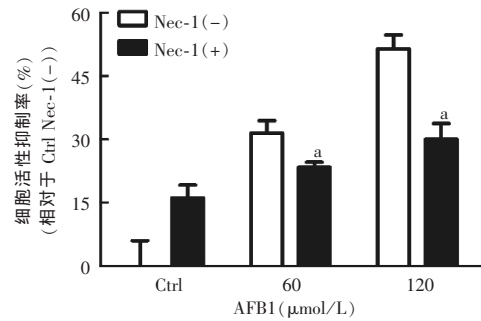
Fig.4 The cell viability inhibition ratio of L02-pB and L02-PXR cells by treatment with AFB1

### 2.5 PXR 参与 AFB1 诱导 L02 细胞坏死性凋亡

在 L02-PXR 细胞中,处理 AFB1 48 h,发现 Nec-1 明显抑制了 AFB1 对 L02-PXR 细胞活性抑制的作用(均  $P<0.05$ ,图 5)。Nec-1 可以使 60 和 120  $\mu\text{mol/L}$  AFB1 染毒 L02-PXR 细胞活性抑制率分别从  $(31.55 \pm 2.88)\%$  和  $(51.48 \pm 3.27)\%$  降低至  $(23.39 \pm 1.20)\%$  和  $(30.00 \pm 2.77)\%$ 。60  $\mu\text{mol/L}$  AFB1 处理 36 h,发现 AFB1 均能显著性地诱导 L02-pB 和 L02-PXR 细胞产生自噬分子标志物 LC3- (均  $P<0.05$ ,图 6);而且相对于 L02-pB 细胞  $[(8.15 \pm 0.21)\text{倍}]$ ,AFB1 诱导 L02-PXR 细胞 LC3- 的升高  $[(11.20 \pm 0.94)\text{倍}]$  更为明显( $P<0.05$ )。然而,Nec-1 能抑制 AFB1 诱导两株细胞 LC3- 的升高(均  $P<0.05$ ),并且在 L02-PXR 细胞中抑制效应更为明显。

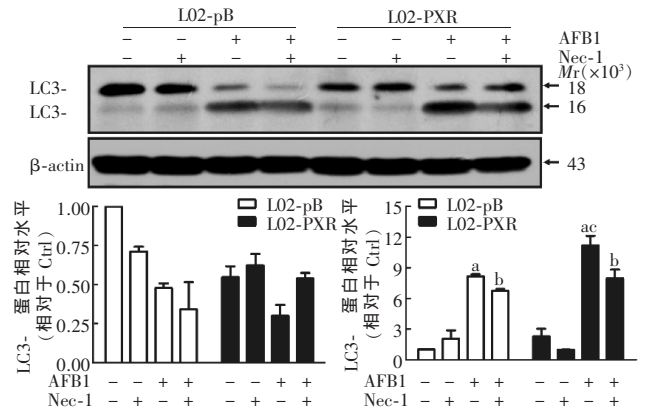
### 3 讨论

最新的研究报告显示,全球每年 55 万~60 万的新发肝癌病例中,大约有 2.52 万~15.5 万可能与 AFB1 暴露有关<sup>[2]</sup>。研究已经发现 AFB1 导致肝癌主要是通过细胞色素 P450 1A2 和 3A4 (CYP1A2 和



与对应的 Nec-1 未处理组相比,  $^a P<0.05$ 。

图 5 Nec-1 对 AFB1 诱导 L02-PXR 细胞活性抑制的影响  
Fig.5 The effect of Nec-1 on AFB1 inhibiting cell viability of L02-PXR cells



与 Ctrl 组相比,  $^a P<0.05$ ; 与对应 AFB1 染毒组相比,  $^b P<0.05$ ; 与 L02-pB AFB1 染毒组相比,  $^c P<0.05$ 。

图 6 Nec-1 对 AFB1 诱导 L02-pB 和 L02-PXR 产生坏死性凋亡下游效应自噬的激活的抑制

Fig.6 Nec-1 blocked the necroptotic downstream activation of autophagy in L02-pB and L02-PXR cells by AFB1-reduced

CYP3A4)代谢形成致癌中间产物(AFB-8,9-环氧化物),后者与 DNA 形成 DNA 加合物所致<sup>[1]</sup>。PXR 是核受体超家族的一员,主要在肝脏和肠中表达,可以被许多外源化学物所激活,激活的 PXR 通过向胞核转移结合其 DNA 作用元件调控、相代谢酶与相转运体,从而在外源化学物代谢解毒过程中发挥着非常重要的作用<sup>[8-9]</sup>。染色体的损伤是致癌过程中最为重要的一个事件,所以染色体水平的损伤是遗传毒性评价中非常重要的一个指标。微核实验的出现成为评价染色体 DNA 损伤的优先方法之一<sup>[13]</sup>。本研究发现,AFB1 明显地诱导了 L02-pB 和 L02-PXR 细胞的微核率的升高,而且在 L02-PXR 细胞株中表现的更为敏感,在 5  $\mu\text{mol/L}$  AFB1 时诱导的微核率将近对照组的 4.6 倍,提示 PXR 参与 AFB1 诱导的遗传损伤。

研究发现,DNA 损伤的结局依赖于细胞类型和 DNA 损伤的严重性。携带基因突变的无法修复的 DNA 损伤会诱导细胞衰老或者启动死亡程序<sup>[14]</sup>。多年来,基因损伤诱导细胞程序性死亡的形式主要关

注于凋亡<sup>[14]</sup>,最近研究发现遗传损伤也可能诱导坏死性凋亡<sup>[7,11,15]</sup>,例如重金属毒物 Cd 诱导了虹鳟鱼细胞的 DNA 损伤和坏死性凋亡的产生<sup>[7]</sup>。本研究中采用的 Nec-1 作为一种小分子物质,具有非常强的抑制丝氨酸/苏氨酸激酶 RIP1 的功能,通过 caspases 信号通路切割 RIP1,特异性抑制坏死性凋亡,因此被用于研究坏死性凋亡<sup>[4-5,7]</sup>。本文实验发现,Nec-1 对 AFB1 诱导 L02-pB 细胞活性抑制无影响;然而,在 PXR 高表达 L02 细胞中,Nec-1 显著地抑制 AFB1 对细胞活性抑制的效应,提示 PXR 促进了 AFB1 诱导肝细胞坏死性凋亡的产生。此外,自噬的激活为坏死性凋亡普遍的下流应答表现<sup>[5]</sup>。本研究也证明这一现象,结果显示,AFB1 显著性地诱导了肝细胞的 LC3- 向 LC3- 转变,诱导自噬的产生;并且在 PXR 高表达的 L02 细胞中,AFB1 诱导的自噬更为明显;同时,坏死性凋亡抑制剂 Nec-1 可以抑制 AFB1 诱导自噬的产生。因此,AFB1 可以诱导肝细胞坏死性凋亡的产生和伴随的自噬作用,表明 PXR 参与了其中的调控机制。以上研究提示,PXR 的激活促进 AFB1 诱导的遗传损伤可能是诱导坏死性凋亡的产生原因之一。

最近研究发现,AFB1 可以激活肝脏外源化学物代谢的调控者 PXR,暗示着 PXR 可能在 AFB1 的生物转化中有重要作用。我们也发现,AFB1 可以激活 PXR,并且诱导 CYP3A4 mRNA 水平上调。已有研究表明,相代谢酶细胞色素 P450,例如 CYP3A4,在 AFB1 的生物转化中起了重要的作用<sup>[1]</sup>。综上所述,PXR 可能是通过调控相代谢酶 CYP3A4 促进了 AFB1 诱导的肝细胞的遗传毒性损伤,从而激发了坏死性凋亡,后者可能在参与清除 DNA 损伤的细胞中发挥着辅助作用。本研究为探明坏死性凋亡在 AFB1 诱导的肝毒性和致癌性中的作用机制及其靶向干预提供实验依据。

#### 参考文献

- [1] Gross-Steinmeyer K, Eaton DL. Dietary modulation of the biotransformation and genotoxicity of aflatoxin B (1) [J]. Toxicology, 2012, 299(2-3):69-79.
- [2] Liu Y, Wu F. Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular

carcinoma: a risk assessment [J]. Environ Health Perspect, 2010, 118(6):818-824.

- [3] Linkermann A, Green DR. Necroptosis [J]. N Engl J Med, 2014, 370(5):455-465.
- [4] Hitomi J, Christofferson DE, Ng A, et al. Identification of a molecular signaling network that regulates a cellular necrotic cell death pathway [J]. Cell, 2008, 135(7):1311-1323.
- [5] Degtarev A, Huang Z, Boyce M, et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury [J]. Nat Chem Biol, 2005, 1(2):112-119.
- [6] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. Cell, 2011, 144(5):646-674.
- [7] Krumschnabel G, Ebner HL, Hess MW, et al. Apoptosis and necroptosis are induced in rainbow trout cell lines exposed to cadmium [J]. Aquat Toxicol, 2010, 99(1):73-85.
- [8] Xu C, Li CY, Kong AN. Induction of phase , and drug metabolism/transport by xenobiotics [J]. Arch Pharm Res, 2005, 28(3):249-268.
- [9] di Masi A, De Marinis E, Ascenzi P, et al. Nuclear receptors CAR and PXR: Molecular, functional, and biomedical aspects [J]. Mol Aspects Med, 2009, 30(5):297-343.
- [10] Ratajowski M, Walczak-Drzewiecka A, Salkowska A, et al. Aflatoxins upregulate CYP3A4 mRNA expression in a process that involves the PXR transcription factor [J]. Toxicol Lett, 2011, 205(2):146-153.
- [11] Galluzzi L, Kroemer G. Necroptosis: a specialized pathway of programmed necrosis [J]. Cell, 2008, 135(7):1161-1163.
- [12] 李晓杰, 林丽娜, 麦剑荣, 等. 小白菊内酯对不同环氧化酶-2 表达的鼻咽癌细胞株中干性侧群细胞转归的影响 [J]. 癌变·畸变·突变, 2012, 24(3):172-178.
- Li XJ, Lin LN, Ma JR, et al. Effects of parthenolide on the cellular outcomes of stem-like side population cells in nasopharyngeal carcinoma cell lines with different level of COX-2 [J]. Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis, 2012, 24(3):172-178.
- [13] Fenech M. The in vitro micronucleus technique [J]. Mutat Res, 2000, 455(1-2):81-95.
- [14] Surova O, Zhivotovsky B. Various modes of cell death induced by DNA damage [J]. Oncogene, 2013, 32(33):3789-3797.
- [15] Festjens N, Vanden BT, Vandennebeele P. Necrosis, a well-orchestrated form of cell demise: signalling cascades, important mediators and concomitant immune response [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1757(9-10):1371-1387.

收稿日期:2014-07-08