

α -苦瓜素经LRP1受体介导的JNK信号通路诱导肝细胞L02早期凋亡的机制研究[△]

邓念华^{1*}, 沈富兵¹, 郑崛村¹, 沈岱², 王玲^{1#}(1.成都医学院检验医学院, 成都 610500; 2.华北电力大学机械工程学院, 河北保定 071000)

中图分类号 R575; Q23 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)23-3203-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.23.08

摘要 目的:探讨 α -苦瓜素诱导肝细胞L02(简称“L02细胞”)早期凋亡的信号通路。方法:制备并纯化 α -苦瓜素。采用流式细胞术检测0(阴性对照)、160、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ α -苦瓜素作用L02细胞2~8 h后的细胞凋亡率。小干扰RNA(siRNA)沉默低密度脂蛋白受体相关蛋白1(LRP1)得到LRP1-siRNA细胞,然后采用液相芯片分析检测 α -苦瓜素(160 $\mu\text{g}/\text{mL}$)分别作用L02细胞(正常组)和LRP1-siRNA细胞(沉默组)0、0.25、0.5、1、2 h后c-Jun氨基末端激酶(JNK)信号通路中促调蛋白磷酸化JNK(p-JNK)、磷酸化凋亡前体蛋白(p-Bad)、胱天蛋白酶9(Caspase-9)及抑调蛋白磷酸化蛋白53(p-p53)、磷酸化蛋白激酶B(p-Akt)、磷酸化B淋巴细胞瘤2(p-Bcl-2)、Caspase-8的表达情况,分析 α -苦瓜素对L02细胞JNK信号通路的作用。结果:制备并纯化得到 α -苦瓜素(纯度>97%);与阴性对照组比较,160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ α -苦瓜素作用8 h时,可显著诱导细胞早期凋亡($P<0.05$),80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ α -苦瓜素诱导的早期凋亡不明显($P>0.05$);与0 h比较,作用后0.25 h促调蛋白p-JNK、p-Bad和Caspase-9表达量显著增加($P<0.05$),而抑调蛋白p-p53、p-Akt、p-Bcl-2和Caspase-8表达量无变化;与正常组相比,沉默组各时间点的p-JNK、p-Bad和Caspase-9的表达均显著减少($P<0.05$)。结论: α -苦瓜素可能通过LRP1受体介导JNK信号通路诱导肝细胞凋亡,为揭示其肝毒性提供了参考。

关键词 α -苦瓜素;凋亡;肝细胞L02;c-Jun氨基末端激酶信号通路;低密度脂蛋白受体相关蛋白1

Study on the Mechanism of α -momordicin Inducing Early Apoptosis of Hepatocyte L02 via LRP1-mediated JNK Signaling Pathway

DENG Nianhua¹, SHEN Fubing¹, ZHENG Juecun¹, SHEN Dai², WANG Ling¹(1.School of Laboratory Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China; 2.School of Mechanical Engineering, North China Electric Power University, Hebei Baoding 071000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To explore the signaling pathway of α -momordicin inducing early apoptosis of hepatocyte L02 (called “the L02 cell” for short). METHODS: α -momordicin was prepared and purified. Flow cytometry was used to detect the apoptotic rate of the L02 cell after treated with 0 (negative control), 160 and 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of α -momordicin for 2-8 h. LRP1-siRNA cells were obtained by small interfering RNA (siRNA) silencing low density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1). The expression of proapoptotic protein p-JNK, p-Bad, Caspase-9, inhibitor of apoptosis protein p-p53, p-Akt, p-Bcl-2 and active Caspase-8 in the L02 cell (normal group) and LRP1-siRNA (silence group) after treated with α -momordicin for 0, 0.25, 0.5, 1, 2 h were determined by liquid biochip analysis in c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling pathway. Effects of α -momordicin on JNK signaling pathway were analyzed. RESULTS: α -momordicin could be prepared and purified (purity>97%). Compared with negative control group, 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ α -momordicin could significantly induced early apoptosis of the cell after treated for 8 h ($P<0.05$); early apoptosis of the cell induced by 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ α -momordicin was not obvious ($P>0.05$). Compared with 0 h, the expression of p-JNK, p-Bad and Caspase-9 were increased significantly and even reached the peak value 0.25 h after medication ($P<0.05$), while the expression of p-p53, p-Akt, p-Bcl-2 and Caspase-8 had no change. Compared with normal group, the expression of p-JNK, p-Bad and Caspase-9 of silence group were decreased significantly at different time points ($P<0.05$).

[△] 基金项目:四川省科技计划项目(No.2018SZ0016);四川省教育厅2018年度科研计划项目(No.18CZ0028);成都医学院“夕阳暖”临终关怀服务项目(No.201713705019)

* 讲师。研究方向:天然药物的免疫药理学与免疫毒理学。E-mail:10610433288@qq.com

通信作者:助理研究员。研究方向:生物技术药物研发。E-mail:wangling20101101@163.com

CONCLUSIONS: α -momordicin can induce the apoptosis of hepatocytes via LRP1 receptor mediated JNK signaling pathway, and will provide the reference for its hepatotoxicity.

KEYWORDS α -momordicin; Apoptosis; Hepatocyte L02; c-Jun N-terminal kinase signaling pathway; Low density lipoprotein receptor-related protein 1

α -苦瓜素是从苦瓜种子中提取的 I 型核糖体失活蛋白(Ribosome-inactivating proteins, RIPs),具有抗肿瘤、抗病毒等多种药理学作用^[1-2]。据相关研究报道, α -苦瓜素通过激活凋亡信号通路胱天蛋白酶3(Caspase-3),诱导乳腺癌MDA-MB-231、MCF-7细胞凋亡^[3]。本课题组在前期试验中发现, α -苦瓜素虽能显著抑制MCF-7细胞移植瘤的增殖,但也能引起动物肝功能的异常和肝细胞的坏死^[4-5],使得其临床应用受到阻碍。

目前有研究发现,同为 I 型RIPs的天花粉蛋白(TCS)能通过低密度脂蛋白受体相关蛋白1(LRP1)受体介导进入肿瘤细胞^[6-7]。LRP1既是一种内吞型受体,同时也具有信号转导的功能,能激活c-Jun氨基末端激酶(JNK)/促裂原活化蛋白激酶(MAPK)等信号转导途径调节细胞增殖和凋亡^[8]。由于LRP1在肝细胞上分布极为丰富^[9],故笔者推测, α -苦瓜素可能通过该信号转导通路诱导肝细胞凋亡。

本研究以正常人胚肝细胞L02(简称“L02细胞”)为试验对象,以流式细胞术分析 α -苦瓜素诱导的肝细胞凋亡,以液相芯片分析技术检测 α -苦瓜素作用后,JNK信号通路凋亡信号蛋白中促调蛋白JNK、凋亡前体蛋白(Bad)、Caspase-9和抑调蛋白p53、蛋白激酶B(Akt)、B淋巴细胞瘤2(Bcl-2)、Caspase-8的表达水平变化,并以LRP1基因敲降法^[10]验证该信号通路的LRP1受体介导作用,从而阐明 α -苦瓜素诱导细胞凋亡的发生途径,为揭示 α -苦瓜素诱导的肝脏毒性发生机制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

BX51倒置荧光显微镜(日本Olympus公司);Accuri 6流式细胞仪(美国BD公司);76S/02324凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司);Luminex 200液相芯片检测分析系统(美国Millipore公司);AKTA蛋白质纯化系统(美国GE公司);Ultrafle X III飞行时间质谱仪、MaXis电喷雾四级杆飞行时间质谱仪(美国Bruker公司)。

1.2 药品与试剂

苦瓜种子(四川省农科院种子公司,批号:20160912);Annexin V-FITC凋亡试剂盒(美国BioVision公司,批号:K201-100);RPMI-1640培养基(美国Gibco公司,批号:C11875500BT);胎牛血清(美国HyClone公司,批号:NUCO53);兔抗人LRP1抗体(美国Abcam公司,批号:AB7975);辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)(美国R&D公司,批号:HY90077); β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国Novus公司);人早调信号蛋白检测试剂盒(内含Akt、JNK、Bad、Bcl-2、p53磷酸化抗体和Caspase-8、Caspase-9抗体,美国Millipore公司,批号:

48-669MAG);LRP1小干扰RNA(siRNA)试剂盒[内含A、B、C 3种序列siRNA和非特异性siRNA,3种序列siRNA分别为LRP1-siRNA-A(5'-ACACCAUAAGAAG-CAGAUCAAUGT-3')、LRP1-siRNA-B(5'-AGAUUU-GUCCACAGAGUAAGGCCCA-3')、LRP1-siRNA-C(5'-GGCUGUGACUGACGAGGAACCGUTT-3')];Trans1.0转染试剂均购自美国Origene公司;细胞裂解液RIPA、蛋白酶抑制剂均购自美国Millipore公司。

1.3 细胞

人胚肝细胞L02购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

2 方法

2.1 α -苦瓜素的制备及纯化鉴定

将苦瓜种子研磨成粉末并用50 mmol/L醋酸盐缓冲溶液(pH=6.3)萃取,得到 α -苦瓜素粗提样品;在2℃条件下向粗提取物中加入250 mmol/L HCl增溶,1 000 r/min离心后,取上清液用1 mol/L磷酸盐缓冲液(PBS, pH=7.0)中和,再用硫酸铵沉淀蛋白,得硫酸铵沉淀蛋白样品;再分别经SP-琼脂糖凝胶色谱、离子交换层析、凝胶过滤色谱纯化后,得到 α -苦瓜素蛋白纯品。分别对上述纯化过程收获的中间样品(硫酸铵沉淀蛋白样品、SP-琼脂糖凝胶色谱洗脱样品、离子交换层析样品)以及纯化后 α -苦瓜素蛋白纯品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),并对纯化后 α -苦瓜素蛋白纯品进行高效液相色谱(HPLC)纯度测定和飞行时间质谱分子量分析以及电喷雾四级杆质谱N-末端氨基酸序列分析。

2.2 细胞培养

肝细胞L02采用含有10%胎牛血清、100 u/mL青霉素和100 μ g/mL链霉素的RPMI-1640培养基,于37℃、5%CO₂的细胞培养箱中培养。

2.3 α -苦瓜素诱导的细胞凋亡检测

按 1×10^5 个/孔将L02细胞接种在6孔板中,待细胞贴壁达50%~60%融合度时,分别加入终质量浓度为0(阴性对照)、80、160 μ g/mL的 α -苦瓜素,并于给药2、4、8 h后消化并重悬各孔细胞,加入5 μ L Annexin V和10 μ L碘化丙啶(PI),用流式细胞仪检测细胞凋亡率,以FlowJo 10软件分析凋亡细胞的分布情况。

2.4 LRP1-siRNA转染细胞

将L02细胞接种于6孔板中,设置LRP1-siRNA-A组、LRP1-siRNA-B组、LRP1-siRNA-C组、非特异性siRNA组和阴性对照组(PBS)。当细胞生长融合度达到30~40%时,分别向各组培养基中加入4 μ L 5 mmol/L的LRP1-siRNA(A、B、C 3种)、非特异性siRNA和PBS,然后加入20 μ L Trans1.0转染试剂。转染4 h后,将培养液更换为含有双抗体(青霉素-链霉素)的10%胎牛血清的

RPMI-1640培养基,继续培养72 h。

2.5 Western blot法检测LRP1-siRNA沉默作用

采用Western blot检测siRNA基因的沉默效果。裂解“2.4”项各组细胞,提取蛋白,经SDS-PAGE分离、转膜、封闭、分别加入一抗兔抗人LRP1抗体(1:20 000),过夜冷藏,TBST缓冲液洗膜,分别加入二抗HRP-羊抗兔IgG(1:1 000),37℃孵育1 h,TBST缓冲液洗膜,采用化学发光法检测成像结果, β -actin作为内参对照,筛选出使LRP1蛋白缺失85%以上的阳性LRP1-siRNA用于后续试验。

2.6 液相芯片法检测 α -苦瓜素对凋亡信号蛋白的影响

2.6.1 分组及给药 (1)正常组。将对数生长期的L02细胞接种于6孔板中,融合度60%时加入终质量浓度为160 μ g/mL的 α -苦瓜素,分别于作用0、0.25、0.5、1、2 h后以RIPA裂解细胞并收集细胞裂解液样品,4℃下10 000 r/min离心,收集各上清液。(2)LRP1-siRNA沉默组。以“2.5”项筛选的阳性LRP1-siRNA转染L02细胞,培养72 h后,同上述方法给药处理,并收集各上清液。经BCA法测定如上所有上清样品的蛋白含量,并调整蛋白质量浓度至0.4 mg/mL,-80℃保存。

2.6.2 凋亡信号蛋白的检测 采用液相芯片分析系统检测各组细胞在 α -苦瓜素(160 μ g/mL)作用0~2 h后磷酸化JNK(p-JNK)、磷酸化Bad(p-Bad)、Caspase-9、磷酸化p53(p-p53)、磷酸化Akt(p-Akt)、磷酸化Bcl-2(p-Bcl-2)、Caspase-8的表达水平,具体试验操作严格参考人早调信号蛋白检测试剂盒说明书,以检测的各组细胞目标蛋白的荧光强度(MFI值)反映其表达水平。将检测到的各组细胞中p-JNK、p-Bad、Caspase-9、p-p53、p-Akt、p-Bcl-2、Caspase-8的MFI值作为纵坐标, α -苦瓜素作用时间为横坐标,绘制荧光强度-时间曲线图。

2.7 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计分析。组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

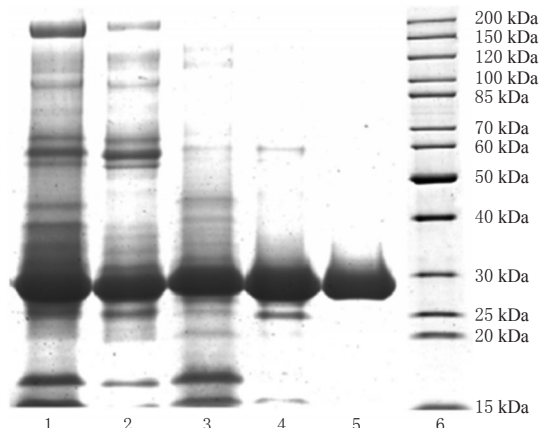
3 结果

3.1 α -苦瓜素蛋白的纯化鉴定结果

纯化得到 α -苦瓜素蛋白纯品,经HPLC色谱分析纯度大于97%;飞行时间质谱分析得出 α -苦瓜素蛋白样品分子量为28 551.6 Da,电喷雾四极杆质谱分析得出该蛋白样品N-末端5个氨基酸序列N-天冬氨酸-缬氨酸-丝氨酸-苯丙氨酸-精氨酸,经查询,与NCBI公布的 α -苦瓜素序列一致(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),表明纯化得到的蛋白样品即为 α -苦瓜素蛋白。 α -苦瓜素纯化过程及最终蛋白纯品的SDS-PAGE电泳结果见图1。

3.2 α -苦瓜素诱导L02细胞早期凋亡结果

流式细胞仪检测结果显示, α -苦瓜素质量浓度为



注:1.粗提样品;2.硫酸铵沉淀样品;3.SP-琼脂糖凝胶色谱洗脱样品;4.离子交换层析样品;5. α -苦瓜素蛋白纯品;6.蛋白Marker

Note: 1.crude extract sample; 2.ammonium sulfate precipitated sample; 3.SP-agarose gel chromatography elution sample; 4.ion exchange chromatography sample; 5. α -momordicin pure protein; 6.protein Marker

图1 各 α -苦瓜素蛋白样品的电泳图

Fig 1 Electropherograms of different α -momordicin protein sample

160 μ g/mL时,诱导L02细胞的细胞凋亡率分别为2.8%(2 h)、3.8%(4 h)和6.2%(8 h), α -苦瓜素质量浓度为80 μ g/mL时,诱导L02细胞的细胞凋亡率分别为2.6%(2 h)、3.4%(4 h)和3.8%(8 h)。与阴性对照组比较,160 μ g/mL(8 h)的细胞凋亡率显著升高($P < 0.05$),80 μ g/mL各时段的细胞凋亡率差异无统计学意义($P > 0.05$)。 α -苦瓜素诱导L02细胞凋亡的检测结果如图2。

3.3 Western blot检测LRP1-siRNA的基因沉默结果

检测结果显示,L02细胞的LRP1受体经siRNA法基因沉默72 h后,LRP1-siRNA-C组蛋白条带缺失在85%以上,表现出了良好的沉默效果。L02细胞LRP1-siRNA沉默效果的蛋白电泳图见图3。

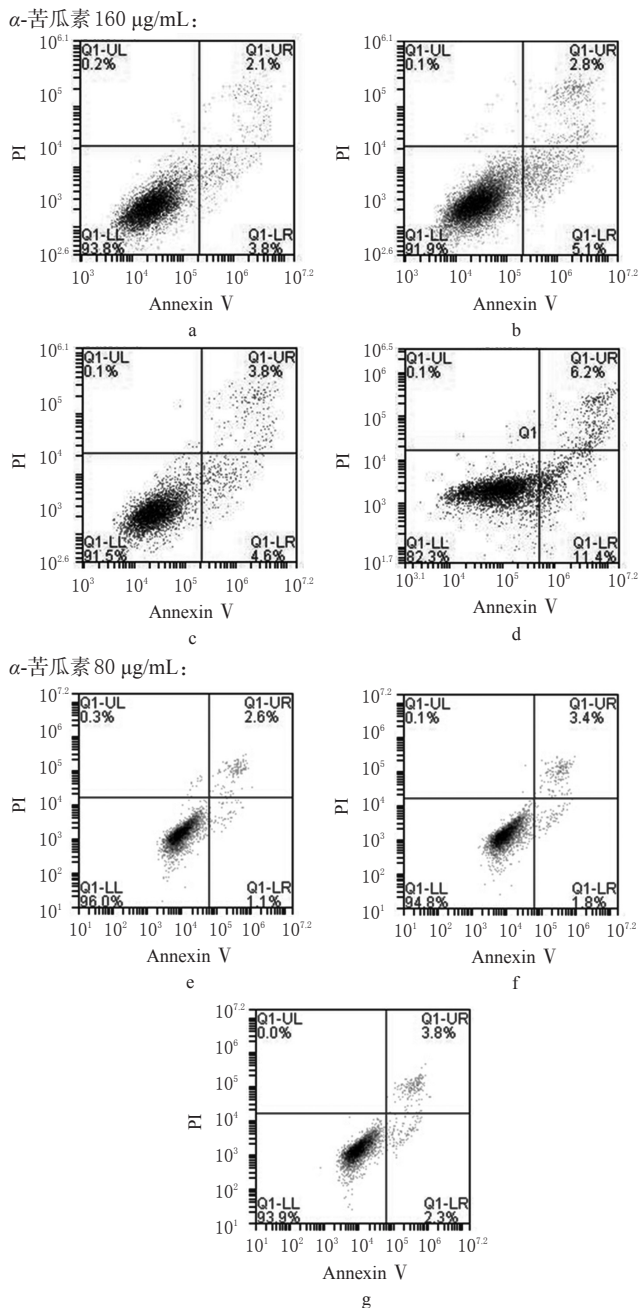
3.4 α -苦瓜素对L02细胞凋亡信号蛋白表达的影响结果

各组细胞中p-JNK、p-Bad、Caspase-9、p-p53、p-Akt、p-Bcl-2、Caspase-8荧光强度-时间曲线图见图4。

由图4可知,正常组于给药0.25 h时各促调蛋白p-JNK、p-Bad和活化Caspase-9表达达到高峰,直至给药2 h时依然处于较高水平,且与0 h比较有显著差异($P < 0.05$);各抑调蛋白p-p53、p-Akt、p-Bcl-2、活化Caspase-8各时段表达无显著变化。与正常组比较,LRP1-siRNA沉默组各时段促调蛋白表达明显抑制($P < 0.05$),而抑调蛋白的表达无显著变化。表明LRP1受体的基因沉默可以显著阻止 α -苦瓜素对L02细胞的凋亡信号转导作用。

4 讨论

苦瓜入药在《本草纲目》《滇南本草》中早有记载^[1],从苦瓜种子中提取的 α -苦瓜素具有抗肿瘤、抗病毒等作



注: a. 阴性对照; b~d. α -苦瓜果素 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作用 2、4、8 h; e~g. α -苦瓜果素 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作用 2、4、8 h

Note: a. negative control; b-d. α -momordicin 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for 2, 4, 8 h; e-g. α -momordicin 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for 2, 4, 8 h

图2 α -苦瓜果素诱导L02细胞凋亡图

Fig 2 α -momordicin-induced the apoptosis of hepatocyte L02 cells

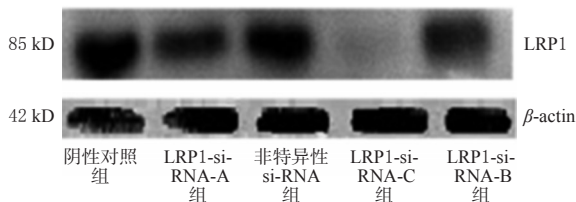
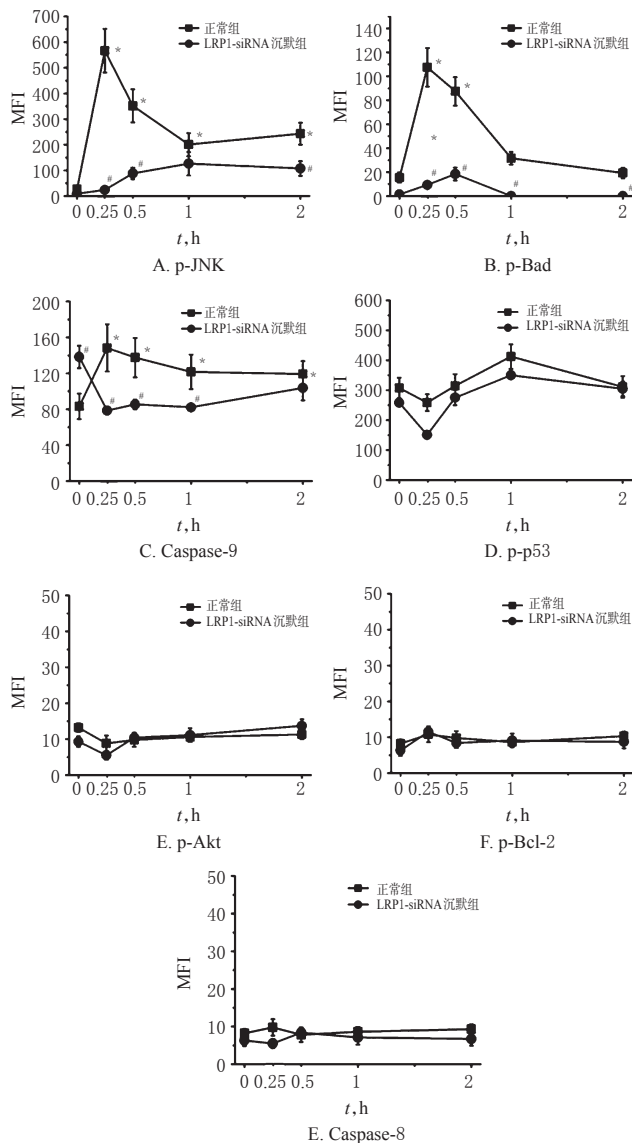


图3 L02细胞LRP1-SiRNA沉默效果

Fig 3 LRP1-siRNA silencing effect in hepatocyte L02 cells



注: 与 0 h 比较, * $P < 0.05$; 与正常组比较, # $P < 0.05$

Note: vs. 0 h, * $P < 0.05$; vs. normal group, # $P < 0.05$

图4 各组细胞中凋亡信号蛋白的表达水平

Fig 4 The expression levels of apoptotic signal proteins of cells in each group

用,是一种药用价值较高的天然药物^[1-2]。研究发现, α -苦瓜果素属于RIPS,同天花粉蛋白一样,被证实对乳腺癌、绒毛膜细胞癌、黑色素瘤等皆有较强的抗肿瘤活性,已成为肿瘤治疗的候选药物之一^[12-13]。在本课题组前期抗肿瘤试验中发现, α -苦瓜果素虽能显著抑制人乳腺癌MCF-7移植瘤的增殖,但同时也能引起动物食欲减退、精神萎靡、肝功能异常等^[3,14];因此阐明 α -苦瓜果素肝细胞损伤机制可为其药物开发提供依据。

本研究发现,流式细胞术检测质量浓度为 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 α -苦瓜果素浓度作用于L02细胞8 h后可诱导L02细胞早期凋亡。 α -苦瓜果素作用L02细胞后,其促调蛋白p-JNK、p-Bad、Caspase-9蛋白水平显著升高,并在给药

后0.25~2 h达到高峰,而抑调蛋白p-p53、p-Akt、p-Bcl-2、Caspase-8蛋白处于静止或被抑制状态,由此证明了 α -苦瓜素具有诱导L02细胞凋亡的作用。JNK信号转导过程即当外源性刺激物与细胞膜受体结合,激活细胞内蛋白激酶导致JNK和下游Bad蛋白的磷酸化,Bad一方面可抑制Caspase-8,另一方面可活化Caspase-9,从而导致了细胞凋亡^[15]。这7种凋亡蛋白是JNK信号转导的重要通路蛋白,本试验结果也符合JNK信号途径传递的细胞凋亡信息,初步揭示了 α -苦瓜素诱导肝细胞凋亡的发生机制。

进一步的试验发现,当 α -苦瓜素的特异性细胞受体LRP1被siRNA基因沉默后,JNK的信号途径的相关蛋白被明显抑制。LRP1是一种多配体共用受体,其细胞质区域具有由天冬酰胺残基(N)、脯氨酸残基(P)及任何氨基酸残基(x)和酪氨酸残基(Y)组成的两个信号结构域(NPxY)^[16-17],这些信号结构域可以作为信号转导位点参与下游信号传导,能通过MAPK信号通路来调节细胞增殖和凋亡^[8],JNK途径是MAPK通路的一种,主要发挥细胞凋亡的转导。因此,本试验结果也说明, α -苦瓜素的信号转导作用是由LRP1受体的介导完成的。

本研究初步证明,通过JNK信号通路转导的细胞凋亡是 α -苦瓜素引起肝细胞毒性的早期发生机制。 α -苦瓜素与LRP1结合后,被介导内吞入细胞中,抑制相关蛋白的表达,从而激发肝细胞凋亡,可为后续研究揭示 α -苦瓜素的肝脏毒性发生机制提供参考。

参考文献

[1] NG TB, WONG JH, WANG H. Recent progress in research on ribosome inactivating proteins[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2010, 11(1): 37-53.

[2] PURI M, KAUR I, KANWAR RK, et al. Ribosome inactivating proteins (RIPs) from momordicacharantia for anti-viral therapy[J]. *Curr Mol Med*, 2009, 9(9): 1080-1094.

[3] CAO D, SUN Y, WANG L, et al. Alpha-momorcharin (α -MMC) exerts effective anti-human breast tumor activities but has a narrow therapeutic window in vivo[J]. *Fito-terapia*, 2015, 100: 139-149.

[4] MENG Y, LIU B, LEI N, et al. Alpha-momorcharin possessing high immunogenicity, immunotoxicity and hepatotoxicity in SD rats[J]. *Ethnopharmacol*, 2012, 139(2): 590-598.

[5] ZHENG JC, LEI N, HE QC, et al. PEGylation is effective in reducing immunogenicity, immunotoxicity, and hepato-

toxicity of alpha-momorcharin in vivo[J]. *Immunotoxicol*, 2012, 34(5): 866-873.

[6] CHAN WL, SHAW PC, TAM SC, et al. Trichosanthin interacts with and enters cells via LDL receptor family members[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 270(2): 453-457.

[7] CHAN WY, HUANG H, TAM SC. Receptor-mediated endocytosis of trichosanthin in choriocarcinoma cells[J]. *Toxicology*, 2003, 186(3): 191-203.

[8] WAGNER EF, NEBREDAR AR. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(8): 537-549.

[9] DIECKMANN M, DIETRICH MF, HERZ J. Lipoprotein receptors: an evolutionarily ancient multifunctional receptor family[J]. *Biol Chem*, 2010, 391(11): 1341-1363.

[10] YAMAMOTO K, TROEBERG L, SCILIBABRA SD, et al. LRP1-mediated endocytosis regulates extracellular activity of ADAMTS-5 in articular cartilage[J]. *Faseb Journal*, 2013, 27(2): 511-21.

[11] 李璟, 温博贵, 王云. 苦瓜蛋白的药用价值[J]. *中草药*, 2004, 35(9): 1068-1070.

[12] LEE S, HUANG PL, CHEN HC, et al. Anti-HIV and anti-tumor activities of recombinant MAP30 from bitter melon[J]. *Gene*, 1995, 161(2): 151-156.

[13] BASCH E, GABARDI S, ULBRICHT C. Bitter melon (momordicacharantia): a review of efficacy and safety[J]. *Am J Health Syst Pharm*, 2003, 60(4): 356-359.

[14] DENG NH, WANG L, HE QC, et al. PEGylation alleviates the non-specific toxicities of alpha-momorcharin and preserves its antitumor efficacy in vivo[J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(1): 95-100.

[15] DANASEKARAN DN, REDDY EP. JNK signaling in apoptosis[J]. *Oncogene*, 2008, 27(48): 6245-6251.

[16] CHEN WJ, GOLDSTEIN JL. A sequence often found in cytoplasmic tails, is required for coated pit-mediated internalization of the low density lipoprotein receptor[J]. *Biol Chem*, 1990, 265(6): 3116-3123.

[17] HERZ J, STRICKLAND DK. LRP: a multifunctional scavenger and signaling receptor[J]. *Clin Invest*, 2001, 108(6): 779-784.

(收稿日期:2018-07-11 修回日期:2018-10-24)

(编辑:唐晓莲)