

# RIPK1在代谢相关脂肪性肝炎中的作用 及机制研究进展

崔学莹<sup>1</sup> 张加强<sup>1</sup> 刘涵云<sup>2\*</sup> 葛源<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>中国海洋大学, 海洋生命学院, 青岛 266000; <sup>2</sup>青岛大学附属医院, 感染性疾病科, 青岛 266000)

**摘要** 受体相互作用蛋白激酶1(receptor-interacting protein kinase 1, RIPK1)作为调控细胞死亡与炎症信号转导的关键枢纽分子, 在银屑病、神经退行性疾病、自身免疫病和炎症性肝病等众多疾病演进中扮演重要角色。代谢相关脂肪性肝炎(metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, MASH)是一种由多种因素造成的代谢性炎症疾病, 其患病率近年来持续上升, 严重危害人类健康。RIPK1在MASH中的作用呈现复杂的双重性: 一方面, 它是肝实质细胞的内在保护因子, 能抑制由肝脏巨噬细胞来源的TNF- $\alpha$ 诱导的细胞凋亡, 从而维持肝脏稳态; 另一方面, 在MASH的慢性代谢应激环境下, 肝脏巨噬细胞中RIPK1的激酶活性又可能参与驱动肝实质细胞死亡与炎症反应, 进而加速疾病进展。这种矛盾性使RIPK1成为极具吸引力的治疗靶点, 同时也为药物研发带来了挑战, 即如何精准抑制肝脏巨噬细胞中RIPK1的激酶活性。该文总结了RIPK1与MASH治疗相关的最新研究进展, 并在此基础上探讨了靶向RIPK1激酶活性抑制剂是否能够通过特异性阻断细胞程序性死亡这一核心病理环节, 降低肝细胞死亡率, 从而减轻后续炎症反应及肝纤维化, 旨在为阻止MASH向更严重的肝纤维化、肝硬化及肝细胞癌发展提供新的治疗策略。

**关键词** 受体相互作用蛋白激酶1; 代谢相关脂肪性肝炎; 受体相互作用蛋白激酶1抑制剂

## The Research Progress of Mechanism and the Role of Receptor-Interacting Protein Kinase 1 in Metabolic Dysfunction-Associated Steatohepatitis

CUI Xueying<sup>1</sup>, ZHANG Jiaqiang<sup>1</sup>, LIU Hanyun<sup>2\*</sup>, GE Yuan<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266000, China;

<sup>2</sup>Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266000, China)

**Abstract** RIPK1 (receptor-interacting protein kinase 1) has emerged as a key nodal molecule in regulating cell death and inflammatory response. It plays critical roles in the progression of numerous human diseases such as psoriasis, neurodegenerative diseases, autoimmune disorders, and inflammatory liver diseases. MASH (metabolic dysfunction-associated steatohepatitis) is a metabolic inflammatory disease caused by multiple factors. Its prevalence has been increasing in recent years, posing a serious threat to human health. The function of RIPK1 in MASH exhibits a complex duality: it acts as an intrinsic protective factor in hepatocytes, inhibiting TNF- $\alpha$ -triggered apoptosis derived from liver macrophages, thereby maintaining liver homeostasis; on the other hand, under the chronic metabolic stress environment of MASH, RIPK1 kinase activity in liver macrophages may contribute to driving hepatocyte death and inflammation, exacerbating disease progression. This paradoxical nature makes RIPK1 an

收稿日期: 2025-11-27 接受日期: 2026-02-02

国家自然科学基金(批准号: 31201043)资助的课题

\*通信作者。Tel: 0532-82911204, E-mail: irene720@126.com; Tel: 0532-82031809, E-mail: geyuan@ouc.edu.cn

Received: November 27, 2025 Accepted: February 2, 2026

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31201043)

\*Corresponding authors. Tel: +86-532-82911204, E-mail: irene720@126.com; Tel: +86-532-82031809, E-mail: geyuan@ouc.edu.cn

attractive therapeutic target, but also poses challenges for drug development: how to precisely inhibit the kinase activity of RIPK1 in liver macrophages. This article summarizes the latest research progress on RIPK1 and MASH treatment, and further explores whether inhibitors targeting the kinase activity of RIPK1 can specifically block the core pathological process of programmed cell death, reduce hepatocyte mortality, and thereby mitigate subsequent inflammatory responses and liver fibrosis. The aim is to provide new therapeutic strategies for halting the progression of MASH to more severe conditions such as liver fibrosis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma.

**Keywords** receptor-interacting protein kinase 1; metabolic dysfunction-associated steatohepatitis; receptor-interacting protein kinase 1 inhibitor

受体相互作用蛋白激酶1(receptor-interacting protein kinase 1, RIPK1)作为调控细胞存活与死亡的关键因子,在死亡受体如肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)信号通路中扮演着双重角色,一方面,其蛋白支架功能可激活核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)介导的促生存与炎症信号;另一方面,其激酶活性则在特定条件下启动凋亡或坏死性凋亡等程序性细胞死亡途径<sup>[1]</sup>。因此,RIPK1必须严格调控以维持组织的稳态,如果出现失调可能会对机体造成严重的后果。RIPK1受到严密复杂的调控,包括泛素化、去泛素化及磷酸化等,正是这些调控机制共同决定细胞是否存活<sup>[2]</sup>。因此,RIPK1信号通路的失调可能会导致过度的炎症反应和细胞死亡,这使其有望成为治疗人类炎症相关疾病的重要靶点。

代谢相关脂肪性肝病(metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, MASLD),原名非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD),已成为全球最常见的慢性肝病,其疾病谱包括单纯的肝脏脂肪变性[或称非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver, NAFL)]、代谢相关脂肪性肝炎(metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, MASH)、肝纤维化及肝硬化<sup>[3]</sup>。MASH的显著特征为出现肝细胞死亡与炎症,因RIPK1在调控细胞死亡与炎症中的关键作用,近年来研究者针对RIPK1在MASH疾病发生发展中的作用和机制进行了深入研究。如FILLIOL等<sup>[4]</sup>研究显示,在由肠道微生物群衍生的病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)如脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的MASH模型中,肝实质细胞内的RIPK1并非促死亡因子,反而起到关键的保护作用。该研究证实,肝巨噬细胞在感知PAMPs后产生大量肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ),而

肝实质细胞中的RIPK1通过其蛋白支架功能,有效抑制由TNF- $\alpha$ 触发的程序性细胞死亡信号,从而防止急性肝损伤的发生<sup>[5]</sup>。这一发现将RIPK1定位为维持肝脏炎症环境下稳态的重要保护因子。然而,在MASH的慢性代谢应激背景下,持续的脂毒性与炎症信号可能导致RIPK1保护机制失调或其激酶活性异常激活,从而将其功能从“保护者”转变为“破坏者”,进而推动MASH的疾病进展<sup>[6-7]</sup>。

RIPK1在调节细胞死亡和炎症中处于关键地位,已成为治疗神经退行性疾病、自身免疫病及炎症性肝病等多种疾病的药物开发热门靶点<sup>[8]</sup>。目前,多种高选择性RIPK1激酶抑制剂(如GSK2982772、R552等)已进入临床研发阶段,初步数据显示其具有良好的安全性,并能有效抑制炎症通路。本文在现有研究基础上,对RIPK1的结构以及其在相关信号通路中的作用、在MASH发生发展中的双重与动态作用机制及其靶向药物最新进展进行综述,以期MASH高效治疗药物的研发及特异性治疗策略的探索提供理论依据。

## 1 RIPK1结构与功能概述

### 1.1 RIPK家族

受体相互作用蛋白激酶(receptor-interacting protein kinase, RIPK)家族是一类丝氨酸/苏氨酸激酶,在细胞因子刺激、病原体感染、DNA损伤或炎症触发的细胞信号通路中发挥重要作用。该家族包含七个成员,均具有同源的激酶结构域(kinase domain, KD),但各成员在C-端和中间结构域(intermediate domain, ID)上拥有不同的功能结构域<sup>[9]</sup>。RIPK1是最早发现的RIPK家族成员,其C-端含有死亡结构域(death domain, DD),ID则包含RIP同型相互作用结构域(RIP homotypic interaction motif, RHIM)<sup>[10]</sup>。RIPK1可通过DD被招募至多种复合物中,参与调控细胞存活与

死亡信号通路。RIPK2的C-端含有半胱天冬酶激活与募集结构域(caspase activation and recruitment domain, CARD), 可介导其与其他含CARD结构域的蛋白质相互作用。RIPK3缺乏ID但保留RHIM基序, 该结构域对于RIPK1与RIPK3之间的相互作用至关重要<sup>[1]</sup>。RIPK4与RIPK5结构相似, 均包含KD和C-端锚蛋白重复序列(ankyrin repeat, ANK)<sup>[12-13]</sup>。RIPK6与RIPK7均含有一个富亮氨酸重复(leucine-rich repeats, LRRs)基序以及Roc/COR结构域。因富含亮氨酸, RIPK6与RIPK7还分别被称为LRRK1与LRRK2。此外, RIPK6还具有ANK结构域, RIPK7的C-端则具有一个WD40重复序列。近年来, 关于RIPK家族的生物功能研究取得了显著进展, 该家族各成员在多种信号通路中发挥不同作用, 关于RIPK1及RIPK3在信号通路中行使的功能已研究较为透彻, 而目前关于RIPK2、RIPK4、RIPK5、RIPK6及RIPK7的具体功能和作用机制尚未被完全阐明, 有待进一步的研究。

## 1.2 RIPK1蛋白结构及其翻译后修饰

RIPK1由671个氨基酸组成, 分子量约为76 kDa, 其结构包含N末端KD、含有RHIM基序的ID和C末端DD(图1)。N-端KD在诱导凋亡或坏死性凋亡中起关键作用, 已成为众多疾病治疗中的小分子抑制剂靶点<sup>[14]</sup>。C-端DD使RIPK1能够与其他含DD的受体和蛋白相互作用: 一方面通过该结构域介导的同源相互作用锚定于细胞质膜上的死亡受体, 如TNFR1、Fas等; 另一方面通过其与含DD的衔接蛋白结合进而介导RIPK1向多种复合物[如TNF相关死亡结构域(TNF-associated death domain, TRADD)、Fas相关死亡结构域蛋白(Fas-associated protein with death domain, FADD)]募集<sup>[15-16]</sup>。RHIM基序介导RIPK1与RIPK3的同型相互作用, 形成丝状淀粉样复合物即坏死小体(necrosome), 从而启动细胞坏死性凋亡。

RIPK1翻译后修饰(如泛素化、去泛素化及磷

酸化)可通过调控不同复合物的形成最终决定细胞命运。在TNFR1介导的信号通路中, RIPK1可发生K63、K48、K11和M1等多种类型的泛素化修饰, 这些修饰影响其活化状态并可能导致其降解, 从而启动或调控炎症信号。去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUBs)可通过水解RIPK1的泛素链, 影响其激酶活性, 使其重新被招募至调控凋亡或坏死性凋亡的复合物中。RIPK1的KD是坏死性凋亡和RIPK1依赖性凋亡(RIPK1-dependent apoptosis, RDA)所必需的, 其S166位点的自磷酸化已被确认为RIPK1激活的生物标志物<sup>[17-18]</sup>。然而, 并非所有磷酸化都激活RIPK1, 如丝裂原活化蛋白激酶激活蛋白激酶2(mitogen-activated protein kinase activated protein kinase 2, MK2)通过直接磷酸化RIPK1的S321和S336位点, 抑制其与FADD/Caspase-8结合, 从而阻止RDA和坏死性凋亡的发生<sup>[19]</sup>。同样, TANK结合激酶1(TANK-binding kinase 1, TBK1)可在复合物I(complex I)中直接磷酸化RIPK1的T189位点, 进而抑制其自磷酸化及激活<sup>[20]</sup>。IKK $\alpha/\beta$ 则通过磷酸化RIPK1的S25位点抑制其活性<sup>[21-22]</sup>。值得注意的是, TGF激活激酶1(TGF activated kinase 1, TAK1)通过精细调控ID上S321位点的磷酸化程度决定细胞死亡方式, 磷酸化不足会促进RIPK1与FADD相互作用并介导RDA; 持续磷酸化则会增强RIPK1与RIPK3的相互作用, 同时抑制RIPK1与FADD结合, 从而促进细胞坏死性凋亡; 而该位点的瞬时磷酸化足以阻断RIPK1的激活<sup>[23]</sup>。

## 1.3 RIPK1参与调控细胞死亡

RIPK1是调控炎症反应、细胞凋亡和坏死性凋亡的关键蛋白, 在决定细胞命运中发挥核心作用。RIPK1通过其支架功能及翻译后修饰参与调控TNF- $\alpha$ 诱导的细胞死亡, 并在TNF- $\alpha$ /TNFR1信号通路中参与形成四种复合物, 即complex I、complex IIa、complex IIb和necrosome(图2)。

TNF- $\alpha$ 刺激TNFR1后, TNFR1形成三聚体并通

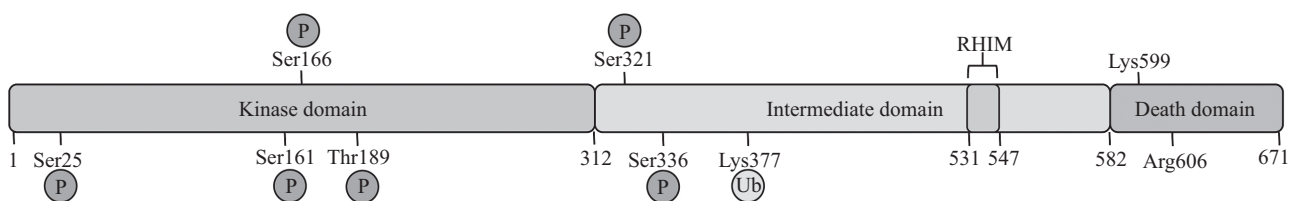


图1 RIPK1的结构域和翻译后修饰(根据参考文献[10]修改)

Fig.1 The domains and post-translational modifications of RIPK1 (modified from the reference [10])

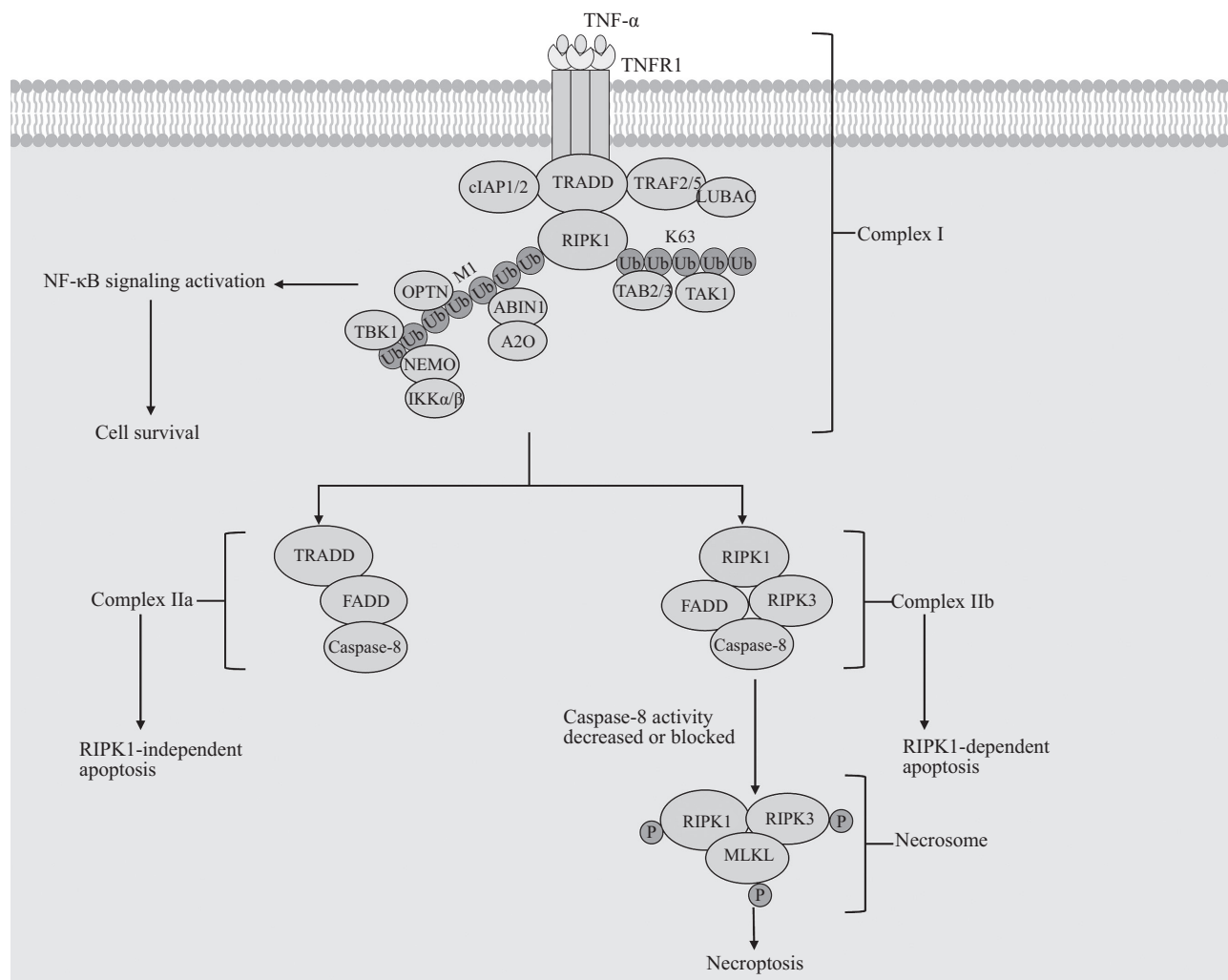


图2 RIPK1调控TNFR1介导的信号通路(根据参考文献[35]修改)

Fig.2 RIPK1 regulates the TNFR1-mediated signaling pathways (modified from the reference [35])

过其DD招募TRADD与RIPK1。TRADD进一步招募细胞凋亡抑制蛋白1/2(cellular inhibitor of apoptosis protein 1/2, cIAP1/2)、TNF受体相关因子2/5(TNFR-associated factor 2/5, TRAF2/5)以及线性泛素链组装复合物(linear ubiquitin chain assembly complex, LUBAC)至TNFR1,共同形成复合物I。cIAP1/2具有E3泛素连接酶活性,催化RIPK1发生K63、K48和K11多聚泛素化修饰<sup>[24]</sup>。LUBAC复合物对RIPK1和TNFR1进行M1线性泛素化修饰<sup>[25]</sup>。RIPK1的K63与M1泛素链构成一个招募平台,招募TAK1、TBK1、TAK1结合蛋白2/3(TAK1 binding protein 2/3, TAB2/3)、A20、A20结合NF-κB活化抑制蛋白1(A20 binding inhibitor of NF-κB activation 1, ABIN1)、视神经蛋白OPTN(optineurin)及NF-κB必需调节蛋白(NF-κB essential modulator, NEMO/IKKγ)等<sup>[26-27]</sup>。

NEMO随后与IKKα和IKKβ结合形成IKK复合物。TAB2/3诱导TAK1自磷酸化激活,活化的TAK1进一步磷酸化IKKβ的S177和S181位点,磷酸化激活的IKKβ介导IκBα磷酸化,并通过K48泛素化-蛋白酶体降解途径使其降解,从而使被IκBα阻滞在细胞质中的NF-κB释放进入细胞核,激活的NF-κB信号通路促进炎症发生和细胞存活<sup>[10]</sup>。在此过程中RIPK1不依赖其激酶活性,主要发挥其支架蛋白作用。

RIPK1的泛素链可招募去泛素化酶如CYLD、A20和OTULIN。A20靶向清除K63泛素链,OTULIN特异性水解M1线性泛素链,而CYLD能同时降解K63和M1泛素链<sup>[28-30]</sup>。当去泛素化酶去除RIPK1泛素链且cIAP1/2缺失时,复合物I稳定性下降,RIPK1与TRADD被释放至细胞质中,根据复合物II蛋白组成差异,可区分为复合物IIa或IIb。复合物IIa由

TRADD、FADD和Caspase-8组成,而Caspase-8的激活和随后的凋亡诱导不依赖于RIPK1及其激酶活性,介导RIPK1不依赖的细胞凋亡(RIPK1-independent apoptosis, RIA)<sup>[31]</sup>。当cIAP1/2、TAK1或NEMO缺失或表达水平降低时,TNF- $\alpha$ 的刺激促进形成由RIPK1、RIPK3、FADD和Caspase-8组成的复合物IIb<sup>[32]</sup>。复合物IIb不含有TRADD,且Caspase-8的激活依赖于RIPK1,由其介导RDA<sup>[31]</sup>。当RIPK3和混合系激酶区域样蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL)表达水平足够高,或Caspase-8活性缺陷时,复合物IIb会进一步演变为坏死小体,其核心成分为RIPK1、RIPK3和MLKL<sup>[33]</sup>。RIPK1的自磷酸化对招募RIPK3至关重要,二者通过RHIM结构域相互结合并诱导RIPK3在S227位点发生自磷酸化,磷酸化的RIPK3继而募集并磷酸化激活MLKL,活化的MLKL发生构象变化,形成寡聚物后移位至细胞膜,破坏膜完整性最终导致细胞坏死性凋亡<sup>[16-34]</sup>。

## 2 RIPK1与疾病

### 2.1 RIPK1与炎症性疾病

炎症反应与细胞死亡对维持机体稳态至关重要,调控二者的分子与信号通路存在交叉,其中RIPK1已被证实可参与介导细胞存活、炎症与细胞程序性死亡。其受到严格调控,如果出现失调可能会导致过度的炎症反应与细胞死亡。RIPK1参与介导的坏死性凋亡在多种炎症性疾病的发病机制中发挥重要作用,其可导致细胞破裂,持续性释放损伤相关的分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)导致免疫细胞过度激活,产生大量促炎细胞因子如TNF- $\alpha$ ,这可能会加剧炎症反应,从而导致许多慢性炎症疾病的发生发展。RIPK1抑制剂如Nec-1/Nec-1s、GNE684、RIPA-56、GSK547等的保护作用也在诸多疾病模型[包括银屑病、肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)、神经退行性疾病如阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)以及MASH等(表1)]中得到验证<sup>[36]</sup>。目前普遍认为RIPK1抑制剂的保护作用主要基于靶向其激酶活性来阻断细胞坏死性凋亡以及持续的炎症反应。银屑病是一种慢性皮肤病,DUAN等<sup>[37]</sup>在IMQ(imiquimod)诱导的银

屑病小鼠模型中发现RIPK1与MLKL的表达量显著上升,这与人类银屑病病变表皮层观察到的上升情况一致,而使用RIPK1抑制剂Nec-1s处理可显著减轻IMQ诱导的银屑病皮肤炎症的临床症状。ZELIC等<sup>[38]</sup>研究表明,RIPK1在家族性与散发性ALS的发病机制中起到关键有害驱动作用,其在ALS患者脊髓组织中的转录水平、蛋白表达水平均显著上调,且其激酶活性被异常激活。RIPK1的异常激活直接驱动小胶质细胞和星形胶质细胞向促炎状态转化,释放如CCL2、CHI3L2等促炎因子,从而加剧神经炎症。在ALS小鼠模型(SOD1<sup>993A</sup>)中,使用RIPK1抑制剂GSK547能够有效延缓运动功能衰退、显著推迟疾病症状出现时间,并减轻脊髓的炎症反应,证实RIPK1在ALS疾病发生发展过程中的关键调控作用。RIPK1促进小胶质细胞中Cst7的表达进而降低活化小胶质细胞的吞噬能力,由于大脑中 $\beta$ -淀粉样蛋白(amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ )的生成与清除受严格调控,即使清除能力出现轻微下降,也足以导致A $\beta$ 的积累并最终沉积形成斑块,从而促进AD病理的发生<sup>[39-40]</sup>。YANG等<sup>[41]</sup>发现Nec-1作用于AD疾病模型时可直接与A $\beta$ 和tau蛋白结合,显著抑制A $\beta$ 斑块和寡聚体的形成及tau蛋白的过度磷酸化,减少AD模型中的脑细胞死亡并改善认知障碍。RA是一种慢性、炎症性自身免疫性疾病,临床前研究表明,RIPK1介导的坏死性凋亡可促进滑膜炎与骨破坏,而Nec-1s在胶原诱导性关节炎小鼠模型中能够减轻关节炎并抑制破骨细胞生成<sup>[42]</sup>。GlaxoSmithKline公司于2016年启动了一项关于RIPK1抑制剂GSK2982772在重度RA患者中重复口服的安全性及耐受性试验,目前试验已完工。功能失调的NF- $\kappa$ B信号通路在IBD的发生发展中起着关键作用,SUN等<sup>[43]</sup>利用肠上皮细胞特异性缺失TAK1小鼠模型(TAK1<sup>IEC-KO</sup>)研究发现,抑制RIPK1激酶活性能够显著缓解早期肠道炎症,然而在疾病后期,单独抑制RIPK1不足以完全阻断病理进程,成年TAK1缺失小鼠在RIPK1被抑制后,仍会发展出TRADD依赖的严重结肠炎,因此联合抑制RIPK1与TRADD可能成为IBD的新型治疗策略。

在脂肪变性的肝脏中,肝细胞死亡会抑制肝脏再生,随着脂肪变性加重,再生过程中肝细胞死亡数量增加,这会降低再生效率并加剧肝损伤<sup>[44-45]</sup>。细胞凋亡作为非炎症性死亡模式,是肝脏再生过程中的主要死亡方式,而在重度脂肪变性肝脏(超过60%

表1 RIPK1在炎症性疾病中的作用

Table 1 The role of RIPK1 in inflammatory diseases

疾病 Disease	RIPK1的作用 The role of RIPK1	参考文献 References
Psoriasis	In the IMQ-induced mouse model of psoriasis, treatment with Nec-1s significantly alleviated the clinical manifestations of IMQ-induced skin inflammation	[37]
ALS	In the SOD1 <sup>993A</sup> mouse model of ALS, GSK547 effectively delayed the decline of motor function, significantly postponed the onset of disease symptoms, and reduced spinal cord inflammation	[38]
AD	In the APP/PS1 double transgenic mouse model, Nec-1 directly bound to both A $\beta$ and tau proteins, significantly reducing the formation of A $\beta$ plaques and oligomers as well as the hyperphosphorylation of tau	[39-41]
RA	In the CIA (collagen-induced arthritis) mouse model, Nec-1s alleviated joint inflammation and inhibited osteoclastogenesis	[42]
IBD	In the mouse model with intestinal epithelial cell-specific <i>TAK1</i> deletion, inhibition of RIPK1 kinase activity significantly alleviated early intestinal inflammation; at later disease stages, combined inhibition of RIPK1 and TRADD was more effective	[43]
ALI	In the ConA-induced mouse model of hepatitis, Nec-1 significantly reduced mortality, improved liver function, and alleviated histopathological liver damage in mice with acute liver injury	[46-47]
MASH	In liver parenchymal cells, RIPK1 acted as a scaffold protein, whereas in liver macrophages, it exerted its kinase activity	[48-49]

ALS: 肌萎缩侧索硬化; AD: 阿尔茨海默病; RA: 类风湿性关节炎; IBD: 炎症性肠病; ALI: 急性肝损伤; MASH: 代谢相关脂肪性肝炎。

ALS: amyotrophic lateral sclerosis; AD: Alzheimer's disease; RA: rheumatoid arthritis; IBD: inflammatory bowel disease; ALI: acute liver injury; MASH: metabolic dysfunction-associated steatohepatitis.

的肝细胞含有脂滴)的再生过程中,细胞死亡模式会转向炎症性的坏死性凋亡,这种转变引发强烈的炎症反应,进一步降低肝脏再生能力<sup>[46]</sup>。ZHOU等<sup>[47]</sup>使用Nec-1作用于刀豆蛋白A(concanavalin A, ConA)诱导的小鼠肝炎模型,实验发现Nec-1能显著降低ConA诱导的急性肝损伤小鼠的死亡率,改善肝功能,并减轻肝脏组织病理损伤。

## 2.2 RIPK1与代谢相关脂肪性肝炎

MASLD[或称MAFLD(metabolic dysfunction-associated fatty liver disease)]是遗传易感个体由于营养过剩和胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)引起的慢性代谢应激性肝病,是目前世界范围内最主要的慢性肝病。其疾病谱包括NAFL、MASH[又称非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)]、肝纤维化和肝硬化<sup>[50]</sup>。NAFL是MASLD的早期表现,其特征是约有5%以上的肝细胞出现大泡状脂肪变性,并伴有轻微炎症,但无显著肝细胞损伤<sup>[51]</sup>。MASH是MASLD的严重状态,5%以上的肝细胞出现脂肪变性,同时伴有小叶内炎症和肝细胞气球样变性<sup>[52]</sup>。正常肝脏与NAFL、MASH之间存在可逆性,但一旦进展至MASH阶段,如果没有适当和及时的干预,MASH会恶化为不可逆的肝硬化或肝细胞癌<sup>[53-54]</sup>。目前,约有25%的MASLD患者会发

展为MASH,且该比例呈逐年上升趋势,因此早期发现并干预MASH对于预防肝硬化和肝细胞癌至关重要。由于RIPK1在调控细胞死亡和炎症反应中的关键作用,研究者推测RIPK1很可能参与MASH的病理过程。近年来研究者通过构建多种实验性MASH疾病模型,并利用RIPK1激酶失活(*RIPK1*<sup>K45A/K45A</sup>)小鼠或RIPK1小分子抑制剂深入探究RIPK1激酶活性在MASH中的作用与机制,旨在为MASH的治疗寻找新的药物靶点提供理论依据。

2.2.1 MASH的发病机制 早期研究者针对MASLD/MASH的发病机制提出了经典的“双重打击”理论,认为第一次打击可解释为脂质代谢紊乱,肝细胞在脂滴中积累过多的三酰甘油(triacylglycerol, TG),引起肝细胞内脂肪堆积,导致肝脏脂肪变性即NAFL<sup>[50]</sup>。随后巨噬细胞由抗炎状态转变为促炎状态,并分泌TNF- $\alpha$ ,从而触发炎症反应并升高游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)水平。过量的FFA进入肝细胞可诱发脂毒性,同时肝细胞内脂肪堆积还会引起氧化应激,生成大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),ROS的积累进一步促使肝细胞死亡并加剧炎症反应,从而对肝脏造成第二次打击,使NAFL转化为MASH<sup>[50-55]</sup>。这一观点认为NAFL先于MASH,但目前尚不明确NAFL是否总是先于MASH,

且不同患者的致病驱动因素很可能具有异质性。随着研究深入,研究者进一步提出“多重打击”假说,认为IR、遗传易感性、肝细胞代谢功能障碍、内质网应激、肠道菌群失衡、氧化应激、肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)活化以及免疫炎症反应等多种因素,在MASH的发生发展过程中共同发挥作用<sup>[56]</sup>。

**2.2.2 RIPK1在不同类型肝细胞中的功能** 肝脏是人体内最大的实质性器官,也是功能最复杂的器官之一。肝脏的组成包括实质部分与细胞外间隙部分。实质部分包括肝实质细胞(hepatocytes),约占肝脏体积的80%,以及非实质细胞(non-hepatocytes),其约占肝脏体积的6%。非实质细胞的组成包括肝巨噬细胞、肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells, LSECs)、HSCs及其他免疫细胞。其中肝巨噬细胞可分为驻留在肝脏的胚胎源性巨噬细胞即库普弗细胞(Kupffer cells, KCs),约占肝细胞总数的10%~15%,以及骨髓或单核细胞来源的巨噬细胞<sup>[57]</sup>。

在不同类型肝细胞中RIPK1主要发挥的功能也有所不同(图3)。在肝实质细胞中,RIPK1主要发挥其支架蛋白功能,FAROOQ等<sup>[48]</sup>研究发现在MASH疾病模型中,RIPK1通过K63及M1泛素链招募其

他蛋白形成复合物I进而稳定正常的信号转导(如NF- $\kappa$ B信号通路),增强肝细胞在慢性损伤微环境中的存活能力,减少持续性肝细胞死亡,从而阻断肝纤维化的发生发展。在肝脏巨噬细胞中,RIPK1主要发挥其激酶活性,TAO等<sup>[49]</sup>研究发现RIPK1主要在肝脏巨噬细胞中被磷酸化和激活,且RIPK1<sup>K45A/K45A</sup>小鼠相较于野生型(wild type, WT)小鼠,肝细胞死亡率明显降低。FAROOQ与TAO的实验结果存在差异,这可能是由于RIPK1功能具有细胞类型特异性(如肝实质细胞和非实质细胞),在肝实质细胞中特异性敲除RIPK1并未加重脂肪变性或炎症,但会上调TGF- $\beta$ 1、TIMP1/2等促纤维化基因的表达,显著加剧高脂饮食诱导的肝纤维化;而在肝脏巨噬细胞中RIPK1激酶活性被脂毒性激活后,会同时介导RDA、坏死性凋亡以及NLRP3炎症小体活化,从而驱动炎症级联反应并促进HSCs活化。在HSCs中,RIPK1兼具支架蛋白功能与激酶活性,通过激活RIPK1激酶活性或去泛素化修饰来调控RIPK1,可诱导HSCs发生RDA及坏死性凋亡,导致活化HSCs被清除,进而逆转肝纤维化。

**2.2.3 RIPK1激酶活性对MASH的影响** 肝细胞死亡与肝脏炎症反应是MASH的主要特征。利用

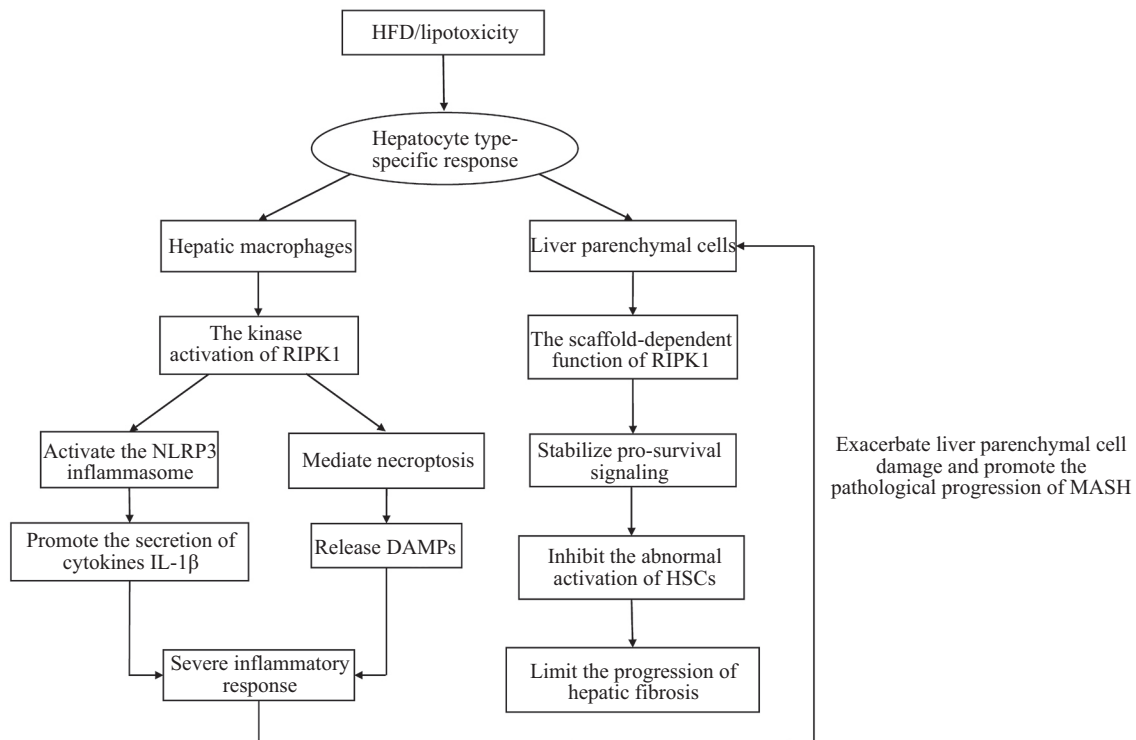


图3 RIPK1对MASH疾病的影响

Fig.3 Impact of RIPK1 on MASH disease

RIPK1小分子抑制剂或RIPK1激酶失活小鼠进行研究,逐步揭示了RIPK1激酶活性在多种饮食诱导的MASH模型中的重要作用。将野生型C57BL/6J小鼠与RIPK1<sup>K45A/K45A</sup>小鼠分别饲以正常饮食(normal diet, ND)或高脂饮食(high-fat diet, HFD) 24周后,发现在HFD饲喂的WT小鼠中出现了明显的肝纤维化且肝细胞死亡率高,而在RIPK1<sup>K45A/K45A</sup>小鼠中未诱导肝纤维化并且肝细胞死亡率显著降低,这表明RIPK1激酶活性促进了HFD诱导的MASH的病理进展,且在此过程中饲喂HFD的WT小鼠RIPK1发生自磷酸化被激活<sup>[49]</sup>。研究进一步发现在该HFD模型中,RIPK1的磷酸化激活主要发生在肝脏巨噬细胞中。在高脂、高果糖且高胆固醇(high-fat, high-fructose, high-cholesterol, FFC)饮食模型中,RIPK1<sup>K45A/K45A</sup>小鼠肝脏中磷酸化MLKL水平并未升高,且其肝细胞死亡率相较于WT小鼠显著下降<sup>[58]</sup>。UDP-葡萄糖6-脱氢酶(UDP-glucose 6-dehydrogenase, UGDH)催化UDP-Glc转化为UDP-GlcA,后者可直接结合RIPK1的KD并抑制其激酶活性<sup>[59]</sup>。在胰淀素(amylin)饮食模型与胆碱缺乏高脂饮食(choline-deficient high-fat-diet, CD-HFD)模型中模拟人类MASH,UGDH的表达水平明显下降,且在小鼠肝细胞中UGDH的缺失会促进RIPK1激活,从而加速肝细胞凋亡,而此过程可被RIPK1激酶失活突变(如RIPK1<sup>D138N/D138N</sup>)所抑制<sup>[59]</sup>。先前研究发现,肝细胞中TAK1或NEMO的缺失会导致比RIPK1缺失更严重的自发性肝损伤与癌变,推测可能是TAK1或NEMO的缺失解除了对RIPK1激酶活性的抑制,进而激活RIPK1并启动相关细胞死亡途径<sup>[60]</sup>。近期研究进一步发现,抑制RIPK1激酶活性可减轻TAK1缺失所致肝细胞癌的炎症反应并延缓其疾病进展,但对肝细胞代偿性增殖与再生影响甚微<sup>[61]</sup>。另一项研究发现,极性蛋白AF6可直接与RIPK1的ID相互作用,并招募去泛素化酶USP21,USP21通过去除RIPK1 K377位点的K63泛素链,进而促进依赖于RIPK1-RIPK3-MLKL信号轴的细胞坏死性凋亡<sup>[62]</sup>。在HFD饮食喂养的小鼠MASH模型中,AF6蛋白表达上调,且肝细胞死亡率显著上升,表明在此过程中RIPK1可能主要行使激酶活性。YAN等<sup>[63]</sup>研究揭示了SUMO特异性蛋白酶1(SUMO specific peptidase 1, SENP1)在MASH中的重要保护作用,其可作为RIPK1激酶的内源性抑制剂,并发现了在MASH患者肝脏中SENP1的表达水平与疾病严重程度呈负相

关。肝细胞特异性缺失SENP1会导致小鼠自发出现肝损伤、炎症、脂肪变性及纤维化等MASH表型,表明SENP1可通过抑制RIPK1激酶活性阻止MASH疾病进展,而当其缺失时RIPK1发生SUMO化修饰,进而改变其泛素化模式,最终导致RIPK1过度激活,引发肝细胞凋亡与炎症反应。

**2.2.4 RIPK1支架蛋白功能对MASH的影响** RIPK1的支架蛋白功能通过蛋白质相互作用结构域,组装、稳定特定的复合物,调控细胞生存与NF- $\kappa$ B通路的激活,在维持细胞和组织稳态中发挥关键的保护性作用<sup>[64]</sup>。构建肝细胞特异性RIPK1敲除小鼠(RIPK1<sup>Hep-KO</sup>),实验发现,与WT小鼠相比,RIPK1<sup>Hep-KO</sup>小鼠在短期禁食或HFD饲喂后,均出现肝脏脂肪堆积加剧、TG含量显著升高且对肝细胞凋亡更为敏感<sup>[65]</sup>。值得注意的是,当使用RIPK1<sup>K45A/K45A</sup>小鼠进行同样短期禁食时,其血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)/天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)水平并未升高,RIPK1<sup>K45A/K45A</sup>小鼠也未出现明显肝损伤,该结果表明RIPK1的支架蛋白功能在代谢应激期间维持肝脏稳态中起着核心作用,且进一步的共定位实验证实此过程发生的凋亡主要发生在肝实质细胞中<sup>[65]</sup>。FAROOQ等<sup>[48]</sup>使用WT小鼠和肝实质细胞特异性敲除RIPK1(RIPK1<sup>LPC-KO</sup>)小鼠模型,并饲喂高脂高胆固醇饮食(high-fat high-cholesterol diet, HFHCD)以模拟MASH,特异性缺失RIPK1并未减轻HFHCD导致的肝损伤,但RIPK1<sup>LPC-KO</sup>小鼠却表现出显著加重的肝纤维化,表明在MASH背景下,肝实质细胞中的RIPK1主要发挥支架蛋白功能,通过稳定促生存信号,减少肝细胞持续性死亡以及抑制HSCs的过度活化,进而抑制肝纤维化的进展,此过程未涉及RIPK1激酶活性。在由肠道微生物群衍生的PAMPs如LPS引发的肝炎模型中,肝实质细胞内的RIPK1依赖其支架蛋白功能有效抑制了由肝脏巨噬细胞产生的TNF- $\alpha$ 所诱导的肝细胞凋亡,从而在炎症环境中扮演了细胞死亡抑制者的角色<sup>[4]</sup>。

**2.2.5 RIPK1的死亡结构域对MASH的影响** 在大多研究背景下,RIPK1的DD通常被视为一个衔接模块,负责将RIPK1招募至相关信号复合体中。然而,该结构域也参与调控RIPK1激酶活性,如K599位点介导的DD同源二聚化即可导致RIPK1的激活<sup>[15]</sup>。腺苷激酶(adenosine kinase, ADK)通过清除细胞内腺

苷, 维持S-腺苷蛋氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)/S-腺苷同型半胱氨酸(S-adenosylhomocysteine, SAH)的高比例, 从而促进蛋白质精氨酸甲基转移酶5(protein arginine methyltransferase 5, PRMT5)的活化。活化的PRMT5能够在稳态下催化RIPK1 DD中R606位点发生对称性二甲基化(R606me<sub>2s</sub>)修饰, 该修饰可有效抑制RIPK1的二聚化及其激活<sup>[66]</sup>。当ADK功能异常或缺失时, 细胞内腺苷积累、SAM/SAH比例降低, 导致RIPK1 R606位点甲基化水平下降, 进而解除对RIPK1 DD介导的二聚化的抑制, 最终激活RIPK1并启动细胞死亡程序。基于此机制, 在使用ADK抑制剂时, 联合应用RIPK1抑制剂可能成为一种有效策略, 在保留腺苷相关治疗获益的同时, 可规避其潜在的肝毒性副作用, 从而为MASH的治疗提供新思路。

### 3 RIPK1抑制剂治疗疾病的进展

RIPK1在调控细胞程序性死亡过程中发挥重要作用, 其小分子激酶抑制剂有望为治疗自身免疫性疾病、炎症性疾病及神经退行性疾病等提供新策略。此外, 如前文所述RIPK1激酶活性在MASH的发病机制中具有明确的驱动性作用, 因此, 靶向抑制RIPK1激酶活性已成为当前MASH治疗研究的重要方向。2005年首次鉴定出RIPK1抑制剂Nec-1<sup>[67]</sup>, 2013年首次报道了RIPK1激酶结构域的晶体结构<sup>[68]</sup>, 2014年由GlaxoSmithKline公司研发的GSK2982772成为全球首个获准临床研究的RIPK1抑制剂, 目前该药物处于II期临床试验阶段, 主要用于评估其对IBD、银屑病等炎症性疾病的疗效与安全性, 尚未在任何国家获批上市。随着研究的不断深入, RIPK1抑制剂的种类也在不断发展与扩大。

#### 3.1 蛋白激酶抑制剂分类

激酶抑制剂根据其与作用蛋白的方式可大致分为type I、type I<sub>1/2</sub>、type II、type III和type IV五类, 其中I型、I<sub>1/2</sub>和II型激酶抑制剂属于ATP竞争型激酶抑制剂, III型和IV型为变构抑制剂<sup>[69]</sup>。I型激酶抑制剂与DFG-in、 $\alpha$ C-in活性构象结合; I<sub>1/2</sub>型激酶抑制剂则与DFG-in、 $\alpha$ C-out非活性构象结合; II型激酶抑制剂与DFG-out非活性构象结合( $\alpha$ C-in或 $\alpha$ C-out构象均存在)。I型激酶抑制剂仅占据ATP结合位点, 而I<sub>1/2</sub>型和II型除占据ATP结合位点外, 还会延伸至其结合的特异性非活性构象所暴露的变构口袋。III型激酶抑制剂特异性结合在紧邻ATP结合位点的变构位点上,

而IV型激酶抑制剂则结合于远离ATP结合位点的变构位点。

#### 3.2 RIPK1抑制剂研发进展

目前RIPK1抑制剂主要包括I型、II型及III型, 其中有部分已进入相关疾病的临床研究(表2)。I型RIPK1抑制剂多源于激酶抑制剂库的筛选, 主要通过竞争ATP结合位点发挥作用, 但普遍存在选择性较低的局限, 如Sunitinib和Tozasertib(VX-680)。通过对Tozasertib骨架进行修饰获得的类似物如Compound 71和Compound 72, 在提升对RIPK1抑制活性并降低对Aurora激酶(AURK)抑制活性的同时, 在炎症模型中展现出优于先导化合物的效果<sup>[70-71]</sup>。II型RIPK1抑制剂能够同时占据ATP结合位点及其后方的疏水变构口袋, 从而稳定激酶的非活性构象<sup>[72]</sup>。例如GNE684(Compound 17)是一种有效的跨物种RIPK1抑制剂, 在多种炎症性疾病模型中具有保护作用<sup>[73]</sup>。通过对先导化合物PK6进行结构优化得到的PK68, 在活性、选择性和药代动力学方面均显著提升, 并在炎症和癌症转移模型中显示出治疗潜力<sup>[74]</sup>。由Rigel公司开发的口服II型RIPK1抑制剂R552(Ocadusertib), 在自身免疫性与炎症性疾病的治疗中展现出潜力, 并已启动一项针对成人RA患者IIa/IIb期临床研究。III型RIPK1抑制剂仅结合变构位点, 因此通常具有更高的选择性。Necrostatins系列如Nec-1和Nec-1s通过占据RIPK1的“L”形疏水口袋并形成关键氢键来抑制RIPK1<sup>[68]</sup>, 后续优化获得了活性更高的衍生物如F-Nec, 其对RIPK1激酶活性的抑制效果较Nec-1提升约8倍以上<sup>[75]</sup>。DNL104是首个进入AD、ALS Ia期临床试验的脑渗透性RIPK1抑制剂, 但由于其在部分受试者中引起超过30%的药物诱导性肝毒性, 其进一步的开发被终止<sup>[76]</sup>。Denali公司开发的DNL747也被用于AD、ALS临床试验, 但需要更高剂量才可达到治疗效果, 而增加剂量可能存在安全风险, 因此其临床开发已被终止。此外, Denali公司联合Sanofi公司共同开发的非中枢神经系统渗透性RIPK1小分子抑制剂DNL758(SAR443122), 可最大限度地减少对脑部的副作用, 于2020年7月启动针对新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)肺部疾病患者的临床试验, 随后于2021年6月进入针对皮肤红斑狼疮患者的II期临床试验。Benzoxazepines系列通过DNA编码化合物库筛选发现, 其中GSK2982772已进入II期

表2 RIPK1抑制剂的临床试验研究进展  
Table 2 Clinical trial progress of RIPK1 inhibitors

抑制剂 Inhibitor	机构 Institution	类型 Type	适应症 Indication	阶段 Phase	临床试验/专利 Clinical trials/patent
GSK2982772	GlaxoSmithKline	III	Psoriasis RA UC	II (completed)	NCT02776033 NCT02858492 NCT02903966
GSK3145095	GlaxoSmithKline	III	PDAC	II (terminated)	NCT03681951
8GNE684	Genentech	II	NA	Preclinical	NA
RIPA-56	NIBS	III	NA	Preclinical	NA
DNL104	Zhejiang University	III	AD, ALS	Ia (terminated)	WO20200201196
PK68	Soochow University	II	NA	Tool compound	NA
DNL747	Denali	III	AD ALS	I (completed) II (terminated)	NCT03757325 NCT03757351
DNL758 (SAR443122)	Denali/Sanofi	III	CLE COVID-19	II (completed) Ib (completed)	NCT04781816 NCT04469621
R552 (Ocadusertib)	Rigel	II	RA	IIa/IIb (recruiting)	NCT05848258
Necrostatins	Harvard College	II	NA		WO 200128493 WO 2007075772
	Harvard College and Shanghai Institute			Tool compound	WO 2016094846

RA: 类风湿性关节炎; UC: 溃疡性结肠炎; PDAC: 胰腺导管腺癌; COVID-19: 2019冠状病毒疾病; AD: 阿尔茨海默病; ALS: 肌萎缩侧索硬化; CLE: 皮肤红斑狼疮; NA: 不适用; NIBS: 北京生命科学研究所。

RA: rheumatoid arthritis; UC: ulcerative colitis; PDAC: pancreatic ductal adenocarcinoma; COVID-19: coronavirus disease 2019; AD: Alzheimer's disease; ALS: amyotrophic lateral sclerosis; CLE: cutaneous lupus erythematosus; NA: not applicable; NIBS: National Institute of Biological Sciences Beijing.

临床研究, 用于治疗银屑病、RA和溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC)等炎症性疾病。进一步结构优化得到的GSK3145095(Compound 6)与GSK2982772结构类似<sup>[77]</sup>, GlaxoSmithKline公司早期启动了GSK3145095单独与其他抗癌药物(如pembrolizumab)联合治疗胰腺导管腺癌的I期FTIH(first time in human)研究, 目前该研究已终止。Phenylbutyr-amides系列的先导化合物RIPA-56具有高效的RIPK1抑制活性、良好的血脑屏障穿透能力及药物安全性, 是治疗神经系统疾病的潜在候选药物, 目前尚未进入人体临床试验阶段。

### 3.3 RIPK1抑制剂应用于MASH研究

RIPK1在MASH的发生发展过程中扮演重要角色, 且其在不同类型的肝细胞中行使不同的功能, 在肝实质细胞中是组织稳态的“守护者”, 而在肝脏巨噬细胞中则是炎症损伤的“推动者”。在肝实质细胞中, RIPK1主要发挥其支架蛋白功能, 通过形成复合物I并稳定下游NF- $\kappa$ B等促生存信号通路, 在代谢应激与炎症微环境中增强细胞存活能力, 从而减轻组织损伤并抑制纤维化进展。特

异性敲除肝实质细胞中的RIPK1会显著加剧高脂饮食诱导的肝纤维化。相反, 在肝脏巨噬细胞中, RIPK1被脂毒性等信号激活, 可驱动巨噬细胞自身发生凋亡、坏死性凋亡及炎症小体活化, 并释放大促炎与促纤维化因子, 从而成为放大炎症、诱导肝细胞死亡及推动纤维化的核心枢纽。因此, 选择性抑制肝脏巨噬细胞中的RIPK1激酶活性, 有望在消除炎症驱动因素的同时, 保留肝实质细胞的稳态防御能力, 从而获得更优的治疗策略。在HFD诱导的MASH小鼠模型中, AJDI等<sup>[78]</sup>发现无论是预防性还是治疗性给药RIPK1抑制剂RIPA-56, 均能显著减轻肝损伤、炎症和纤维化。以及上文中TAO等<sup>[49]</sup>通过构建肝脏巨噬细胞特异性RIPK1激酶失活(RIPK1<sup>K45A/K45A</sup>)的转基因小鼠, 都证明了RIPK1激酶活性可作为MASH药物开发的靶点。因此, 开展针对RIPK1抑制剂治疗MASH的临床研究具有重要价值, 且RIPA-56作为高选择性、代谢稳定的RIPK1抑制剂, 临床前研究结果积极, 期待其在未来能进入MASH临床试验阶段, 为MASH患者提供新的治疗选择。

## 4 总结与展望

RIPK1作为调控细胞死亡与生存的关键因子,在众多疾病如银屑病、ALS、RA及MASH等中,其均有望成为治疗靶点。MASH正迅速成为全球重大健康威胁,其危害不仅限于肝脏本身,更在于其会显著增加肝硬化与肝细胞癌的发生风险。据估计,约25%的MASLD患者会发展为MASH,而其中约20%可能在未来30~40年内进展为肝硬化<sup>[79]</sup>。已发生MASH相关肝硬化的患者,其每年罹患肝细胞癌的风险约为1.5%~2.0%<sup>[54]</sup>。目前仅有肝移植这一方法用于治疗MASH,仍缺乏轻松高效的治疗方法。靶向RIPK1激酶活性的药物在实验模型中呈现显著的保护作用,具有临床治疗的潜力。

因RIPK1在MASH疾病发生发展过程行使不同作用,未来的研究应进一步深入探究RIPK1相关激酶抑制剂在MASH疾病模型中的作用机制,以获得精准抑制肝脏巨噬细胞RIPK1激酶活性,同时保留肝实质细胞保护性支架功能的高选择性药物。由于MASH的病理生理过程涉及多重机制、通路及分子,单一靶点干预可能难以取得理想效果。因此,探索多靶点联合治疗,或将RIPK1抑制剂与传统肝病治疗药物联用,有望更好更全面地遏制MASH疾病进程。尽管RIPK1抑制剂开发仍面临长期安全性评估及患者个体异质性等科学挑战,但不断积累的临床前研究证据已为后续转化研究奠定了坚实基础,这一研究方向有望推动肝脏疾病治疗范式的革新,实现从症状控制向疾病修饰治疗的重大转变。

### 参考文献 (References)

- [1] YUAN J, AMIN P, OFENGEIM D. Necroptosis and RIPK1-mediated neuroinflammation in CNS diseases [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(1): 19-33.
- [2] BERGER S B, KASPARCOVA V, HOFFMAN S, et al. Cutting edge: RIP1 kinase activity is dispensable for normal development but is a key regulator of inflammation in SHARPIN-deficient mice [J]. *J Immunol*, 2014, 192(12): 5476-80.
- [3] RINELLA M E, LAZARUS J V, RATZIU V, et al. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature [J]. *Ann Hepatol*, 2024, 29(1): 101133.
- [4] FILLIOL A, PIQUET-PELLORCE C, RAGUÉNÈS-NICOL C, et al. RIPK1 protects hepatocytes from K ppfer cells-mediated TNF-induced apoptosis in mouse models of PAMP-induced hepatitis [J]. *J Hepatol*, 2017, 66(6): 1205-13.
- [5] TRIVEDI P, WANG S, FRIEDMAN S L. The power of plasticity-metabolic regulation of hepatic stellate cells [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(2): 242-57.
- [6] DARA L, LIU Z X, KAPLOWITZ N. Questions and controversies: the role of necroptosis in liver disease [J]. *Cell Death Discov*, 2016, 2: 16089.
- [7] KONDYLIS V, POLYKRATIS A, EHLKEN H, et al. NEMO prevents steatohepatitis and hepatocellular carcinoma by inhibiting RIPK1 kinase activity-mediated hepatocyte apoptosis [J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(5): 582-98.
- [8] WEINTRAUB D, AARSLAND D, CHAUDHURI K R, et al. The neuropsychiatry of Parkinson's disease: advances and challenges [J]. *Lancet Neurol*, 2022, 21(1): 89-102.
- [9] ZHANG D W, LIN J, HAN J H. Receptor-interacting protein (RIP) kinase family [J]. *Cell Mol Immunol*, 2010, 7(4): 243-9.
- [10] OFENGEIM D, YUAN J. Regulation of RIP1 kinase signalling at the crossroads of inflammation and cell death [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(11): 727-36.
- [11] SUN X, LEE J, NAVAS T, et al. RIP3, a novel apoptosis-inducing kinase [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(24): 16871-5.
- [12] MEYLAN E, MARTINON F, THOME M, et al. RIP4 (DIK/PKK), a novel member of the RIP kinase family, activates NF-kappa B and is processed during apoptosis [J]. *EMBO Rep*, 2002, 3(12): 1201-8.
- [13] ZHA J, ZHOU Q, XU L G, et al. RIP5 is a RIP-homologous inducer of cell death [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 319(2): 298-303.
- [14] YAO K H, SHI Z H, ZHAO F Y, et al. RIPK1 in necroptosis and recent progress in related pharmaceuticals [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1480027.
- [15] MENG H Y, LIU Z, LI X Y, et al. Death-domain dimerization-mediated activation of RIPK1 controls necroptosis and RIPK1-dependent apoptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(9): E2001-9.
- [16] XU D C, ZOU C Y, YUAN J Y. Genetic regulation of RIPK1 and necroptosis [J]. *Annu Rev Genet*, 2021, 55: 235-63.
- [17] DEGRETEV A, HITOMI J, GERMSCHIED M, et al. Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(5): 313-21.
- [18] OFENGEIM D, ITO Y, NAJAFOV A, et al. Activation of necroptosis in multiple sclerosis [J]. *Cell Rep*, 2015, 10(11): 1836-49.
- [19] DONDELINGER Y, DELANGHE T, ROJAS-RIVERA D, et al. MK2 phosphorylation of RIPK1 regulates TNF-mediated cell death [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(10): 1237-47.
- [20] XU D C, JIN T J, ZHU H, et al. TBK1 suppresses RIPK1-driven apoptosis and inflammation during development and in aging [J]. *Cell*, 2018, 174(6): 1477-91.e19.
- [21] DONDELINGER Y, DELANGHE T, PRIEM D, et al. Serine 25 phosphorylation inhibits RIPK1 kinase-dependent cell death in models of infection and inflammation [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1729.
- [22] DONDELINGER Y, JOUAN-LANHOUE T, DIVERT T, et al. NF-kB-independent role of IKK /IKK  in preventing RIPK1 kinase-dependent apoptotic and necroptotic cell death during TNF signaling [J]. *Mol Cell*, 2015, 60(1): 63-76.
- [23] GENG J F, ITO Y, SHI L Y, et al. Regulation of RIPK1 activation by TAK1-mediated phosphorylation dictates apoptosis and necroptosis [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 359.
- [24] BERTRAND M J, MILUTINOVIC S, DICKSON K M, et al. cIAP1 and cIAP2 facilitate cancer cell survival by functioning as

- E3 ligases that promote RIP1 ubiquitination [J]. *Mol Cell*, 2008, 30(6): 689-700.
- [25] PELTZER N, DARDING M, WALCZAK H. Holding RIPK1 on the ubiquitin leash in TNFR1 signaling [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(6): 445-61.
- [26] SUN L M, WANG X D. A new kind of cell suicide: mechanisms and functions of programmed necrosis [J]. *Trends Biochem Sci*, 2014, 39(12): 587-93.
- [27] DZIEDZIC S A, SU Z, JEAN BARRETT V, et al. ABIN-1 regulates RIPK1 activation by linking Met1 ubiquitylation with Lys63 deubiquitylation in TNF-RSC [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(1): 58-68.
- [28] VERHELST K, CARPENTIER I, KREIKE M, et al. A20 inhibits LUBAC-mediated NF- $\kappa$ B activation by binding linear polyubiquitin chains via its zinc finger 7 [J]. *EMBO J*, 2012, 31(19): 3845-55.
- [29] DAMGAARD R B, ELLIOTT P R, SWATEK K N, et al. OTULIN deficiency in ORAS causes cell type-specific LUBAC degradation, dysregulated TNF signalling and cell death [J]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11(3): e9324.
- [30] MOQUIN D M, MCQUADE T, CHAN F K. CYLD deubiquitinates RIP1 in the TNF $\alpha$ -induced necrosome to facilitate kinase activation and programmed necrosis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76841.
- [31] GROOTJANS S, VANDEN BERGHE T, VANDENABEELE P. Initiation and execution mechanisms of necroptosis: an overview [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(7): 1184-95.
- [32] SAMSON A L, GARNISH S E, HILDEBRAND J M, et al. Location, location, location: a compartmentalized view of TNF-induced necroptotic signaling [J]. *Sci Signal*, 2021, 14(668): eabc6178.
- [33] CHEN J, KOS R, GARSSEN J, et al. Molecular insights into the mechanism of necroptosis: the necrosome as a potential therapeutic target [J]. *Cells*, 2019, 8(12): 1486.
- [34] SHEN H T, LIU C L, ZHANG D P, et al. Role for RIP1 in mediating necroptosis in experimental intracerebral hemorrhage model both *in vivo* and *in vitro* [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(3): e2641.
- [35] MIFFLIN L, OFENGEIM D, YUAN J. Receptor-interacting protein kinase 1 (RIPK1) as a therapeutic target [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(8): 553-71.
- [36] ZHOU W, YUAN J Y. Necroptosis in health and diseases [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 35: 14-23.
- [37] DUAN X R, LIU X X, LIU N, et al. Inhibition of keratinocyte necroptosis mediated by RIPK1/RIPK3/MLKL provides a protective effect against psoriatic inflammation [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 134.
- [38] ZELIC M, BLAZIER A, PONTARELLI F, et al. Single-cell transcriptomic and functional studies identify glial state changes and a role for inflammatory RIPK1 signaling in ALS pathogenesis [J]. *Immunity*, 2025, 58(4): 961-79, e8.
- [39] OFENGEIM D, MAZZITELLI S, ITO Y, et al. RIPK1 mediates a disease-associated microglial response in Alzheimer's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(41): E8788-E97.
- [40] KEREN-SHAUL H, SPINRAD A, WEINER A, et al. A unique microglia type associated with restricting development of Alzheimer's disease [J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1276-90, e17.
- [41] YANG S H, LEE D K, SHIN J, et al. Nec-1 alleviates cognitive impairment with reduction of A $\beta$  and tau abnormalities in APP/PS1 mice [J]. *EMBO Mol Med*, 2017, 9(1): 61-77.
- [42] JHUN J, LEE S H, KIM S Y, et al. RIPK1 inhibition attenuates experimental autoimmune arthritis via suppression of osteoclastogenesis [J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 84.
- [43] SUN Z Y, YE J Y, SUN W M, et al. Cooperation of TRADD- and RIPK1-dependent cell death pathways in maintaining intestinal homeostasis [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 1890.
- [44] SCHWABE R F, LUEDDE T. Apoptosis and necroptosis in the liver: a matter of life and death [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(12): 738-52.
- [45] ZHU C Y, TABAS I, SCHWABE R F, et al. Maladaptive regeneration—the reawakening of developmental pathways in NASH and fibrosis [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(2): 131-42.
- [46] WU X Q, NAGY L E, GAUTHERON J. Mediators of necroptosis: from cell death to metabolic regulation [J]. *EMBO Mol Med*, 2024, 16(2): 219-37.
- [47] ZHOU Y Q, DAI W Q, LIN C L, et al. Protective effects of necrostatin-1 against concanavalin A-induced acute hepatic injury in mice [J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 706156.
- [48] FAROOQ M, SIMOES EUGÉNIO M, PIQUET-PELLORCE C, et al. Receptor-interacting protein kinase-1 ablation in liver parenchymal cells promotes liver fibrosis in murine NASH without affecting other symptoms [J]. *J Mol Med*, 2022, 100(7): 1027-38.
- [49] TAO L, YI Y G, CHEN Y X, et al. RIP1 kinase activity promotes steatohepatitis through mediating cell death and inflammation in macrophages [J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(4): 1418-33.
- [50] WEI S L, WANG L, EVANS P C, et al. NAFLD and NASH: etiology, targets and emerging therapies [J]. *Drug Discov Today*, 2024, 29(3): 103910.
- [51] RINELLA M E, NEUSCHWANDER-TETRI B A, SIDDIQUI M S, et al. AASLD practice guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2023, 77(5): 1797-835.
- [52] YOUNOSSI Z M, STEPANOVA M, ONG J, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the most rapidly increasing indication for liver transplantation in the United States [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2021, 19(3): 580-9, e5.
- [53] HUANG D Q, EL-SERAG H B, LOOMBA R. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(4): 223-38.
- [54] LOOMBA R, LIM J K, PATTON H, et al. AGA clinical practice update on screening and surveillance for hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic fatty liver disease: expert review [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(6): 1822-30.
- [55] KORENBLAT K M, FABBRINI E, MOHAMMED B S, et al. Liver, muscle, and adipose tissue insulin action is directly related to intrahepatic triglyceride content in obese subjects [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(5): 1369-75.
- [56] CHEN G L, NI Y H, NAGATA N, et al. Micronutrient antioxidants and nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9): 1379.
- [57] BENNETT H, TROUTMAN T D, SAKAI M, et al. Epigenetic regulation of kuppfer cell function in health and disease [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 609618.

- [58] WU X Q, ARYA R K, HUANG E, et al. Receptor-interacting protein 1 and 3 kinase activity are required for high-fat diet induced liver injury in mice [J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 1267996.
- [59] ZHANG T, ZHANG N, XING J, et al. UDP-glucuronate metabolism controls RIPK1-driven liver damage in nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 2715.
- [60] BETTERMANN K, VUCUR M, HAYBAECK J, et al. TAK1 suppresses a NEMO-dependent but NF-kappaB-independent pathway to liver cancer [J]. *Cancer Cell*, 2010, 17(5): 481-96.
- [61] TAN S X, ZHAO J, SUN Z Y, et al. Hepatocyte-specific TAK1 deficiency drives RIPK1 kinase-dependent inflammation to promote liver fibrosis and hepatocellular carcinoma [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(25): 14231-42.
- [62] XINYU W, QIAN W, YANJUN W, et al. Polarity protein AF6 functions as a modulator of necroptosis by regulating ubiquitination of RIPK1 in liver diseases [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(10): 673.
- [63] YAN L J, ZHANG T, WANG K, et al. SENP1 prevents steatohepatitis by suppressing RIPK1-driven apoptosis and inflammation [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 7153.
- [64] MEI X Y, GUO Y, XIE Z D, et al. RIPK1 regulates starvation resistance by modulating aspartate catabolism [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 6144.
- [65] ZHANG W G, LIU H, ZHANG D Y, et al. Role of hepatocyte RIPK1 in maintaining liver homeostasis during metabolic challenges [J]. *eLife*, 2025, doi: 10.7554/eLife.96798.
- [66] LIU R, WANG G Q, JIANG Z T, et al. Adenosine metabolic clearance maintains liver homeostasis by licensing arginine methylation of RIPK1 [J]. *J Exp Med*, 2026, 223(1): e20250603.
- [67] DEGTEREV 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): 112-9.
- [68] XIE T, PENG W, LIU Y X, et al. Structural basis of RIP1 inhibition by necrostatins [J]. *Structure*, 2013, 21(3): 493-9.
- [69] ROSKOSKI R Jr. Classification of small molecule protein kinase inhibitors based upon the structures of their drug-enzyme complexes [J]. *Pharmacol Res*, 2016, 103: 26-48.
- [70] DAVIS M I, HUNT J P, HERRGARD S, et al. Comprehensive analysis of kinase inhibitor selectivity [J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(11): 1046-51.
- [71] HOFMANS S, DEVISSCHER L, MARTENS S, et al. Tozasertib analogues as inhibitors of necroptotic cell death [J]. *J Med Chem*, 2018, 61(5): 1895-920.
- [72] ALEXANDER L T, MÖBITZ H, DRUECKES P, et al. Type II inhibitors targeting CDK2 [J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10(9): 2116-25.
- [73] PATEL S, WEBSTER J D, VARFOLOMEEV E, et al. RIP1 inhibition blocks inflammatory diseases but not tumor growth or metastases [J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(1): 161-75.
- [74] HOU J, JU J, ZHANG Z L, et al. Discovery of potent necroptosis inhibitors targeting RIPK1 kinase activity for the treatment of inflammatory disorder and cancer metastasis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(7): 493.
- [75] LI A C, YANG Q, LOU G H, et al. 5-((7-chloro-6-fluoro-1h-indol-3-yl) methyl)-3-methylimidazolidine-2,4-dione as a RIP1 inhibitor protects LPS/D-galactosamine-induced liver failure [J]. *Life Sci*, 2021, 273: 119304.
- [76] GRIEVINK H W, HEUBERGER J, HUANG F, et al. DNL104, a centrally penetrant RIPK1 inhibitor, inhibits RIP1 kinase phosphorylation in a randomized phase I ascending dose study in healthy volunteers [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2020, 107(2): 406-14.
- [77] HARRIS P A, MARINIS J M, LICH J D, et al. Identification of a RIP1 kinase inhibitor clinical candidate (GSK3145095) for the treatment of pancreatic cancer [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2019, 10(6): 857-62.
- [78] MAJDI A, AOUDJEHANE L, RATZIU V, et al. Inhibition of receptor-interacting protein kinase 1 improves experimental non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Hepatol*, 2020, 72(4): 627-35.
- [79] SINGH S, ALLEN A M, WANG Z, et al. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2015, doi: 10.1016/j.cgh.2014.04.014.