

## 雷公藤内酯酮对 SHI-1 细胞增殖及凋亡的影响

李慧杰, 洪坤, 李晓强, 刘丽\*, 谭余庆\*

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的:探讨雷公藤内酯酮(TN)对人急性单核细胞白血病(AML)细胞株 SHI-1 细胞增殖、周期、凋亡以及凋亡相关蛋白表达水平的影响,并探究其可能的作用机制。方法:采用噻唑蓝(MTT)比色法检测 20, 40, 80, 160, 320 nmol·L<sup>-1</sup>的雷公藤内酯酮作用 SHI-1 细胞 48, 72 h 对细胞增殖的抑制作用,流式细胞术碘化丙啶(PI)单染法检测雷公藤内酯酮作用前后 SHI-1 细胞周期的变化,流式细胞术 AnnexinV/PI 双染法检测雷公藤内酯酮作用前后 SHI-1 细胞凋亡的变化,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 80, 160 nmol·L<sup>-1</sup>雷公藤内酯酮作用于 SHI-1 细胞前后半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3),半胱氨酸蛋白酶-8(Caspase-8)和核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的蛋白表达。结果:分别作用 48, 72 h, 与空白组比较,40, 80, 160, 320 nmol·L<sup>-1</sup>雷公藤内酯酮对 SHI-1 细胞增殖均具有显著抑制作用( $P < 0.01$ ),且具有剂量依赖性;雷公藤内酯酮 160, 320 nmol·L<sup>-1</sup>可诱导 SHI-1 细胞凋亡( $P < 0.01$ ),并且雷公藤内酯酮 160 nmol·L<sup>-1</sup>可使 SHI-1 细胞 S 期比例降低( $P < 0.01$ )。此外,与空白组比较,雷公藤内酯酮 80, 160 nmol·L<sup>-1</sup>组 NF- $\kappa$ B 蛋白表达水平显著下调( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),雷公藤内酯酮 160 nmol·L<sup>-1</sup>组 Caspase-3, Caspase-8 蛋白表达水平显著下调( $P < 0.01$ )。结论:雷公藤内酯酮可以体外抑制 SHI-1 细胞增殖并诱导其凋亡,其作用机制可能与雷公藤内酯酮降低 SHI-1 细胞 S 期比例,下调 Caspase-3, Caspase-8 以及 NF- $\kappa$ B 的蛋白表达水平有关。

**[关键词]** 急性单核细胞白血病; 雷公藤内酯酮; SHI-1 细胞; 增殖; 凋亡

**[中图分类号]** R22; R242; R2-031; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)03-0072-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20210323

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20201201.1234.001.html>

**[网络出版日期]** 2020-12-1 14:05

### Effect of Triptonide on Proliferation and Apoptosis of SHI-1 Cells

LI Hui-jie, HONG Kun, LI Xiao-qiang, LIU Li\*, TAN Yu-qing\*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** This study aims to investigate the effect of triptonide (TN) on proliferation, cell cycle, apoptosis and expressions of apoptosis-related proteins of human acute monocytic leukemia (AML) cell line SHI-1, and to explore its possible mechanism of action. **Method:** The thiazolyl blue (MTT) colorimetric assay was applied to detect the inhibitory effect of 20, 40, 80, 160, 320 nmol·L<sup>-1</sup> triptonide on the proliferation of SHI-1 cells for 48, 72 h. Changes in SHI-1 cell cycle before and after triptonide treatment were detected by flow cytometry propidium iodide (PI) simple staining, and changes in SHI-1 cell apoptosis before and after triptonide treatment were detected by flow cytometry with AnnexinV/PI double staining. Western blot was applied to detect the protein expression of cysteine protease (Caspase) -3, Caspase-8 and nuclear transcription factor kappaB (NF- $\kappa$ B) in SHI-1 cells before and after treatment with 80, 160 nmol·L<sup>-1</sup> triptonide. **Result:** Compared with the blank group, 40, 80, 160, 320 nmol·L<sup>-1</sup> triptonide significantly inhibited the proliferation of SHI-1 cells ( $P < 0.01$ ) in a dose-dependent manner for 48, 72 h, while 160, 320 nmol·L<sup>-1</sup> triptonide induced apoptosis of SHI-1 cells

**[收稿日期]** 20201022(026)

**[基金项目]** 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ZZ13-YQ-054)

**[第一作者]** 李慧杰,在读硕士,从事中药药理研究,E-mail:huijieli\_66@163.com

**[通信作者]** \* 谭余庆,研究员,从事中药药理研究,E-mail:yqtan@icmm.ac.cn;

\* 刘丽,助理研究员,从事中药药理研究,E-mail:lliu1990@icmm.ac.cn

( $P < 0.01$ ) for 48, 72 h, and  $160 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  triptonide could decrease the S phase ratio of SHI-1 cells ( $P < 0.01$ ). In addition, compared with the blank group, 80,  $160 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  triptonide induced the downregulation of NF- $\kappa$ B significantly ( $P < 0.01$ ),  $160 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  triptonide induced the downregulation of Caspase-3, Caspase-8 significantly ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Triptonide can inhibit the proliferation and induce apoptosis *in vitro* of SHI-1 cells, which may be related to the reduction of the cells in S phase proportion by triptonide, and the downregulation of the expression levels of Caspase-3, Caspase-8 and NF- $\kappa$ B proteins.

**[Key words]** acute monocytic leukemia (AML); triptonide (TN); SHI-1 cell line; proliferation; apoptosis

急性髓细胞白血病(AML)是造血干细胞不能正常增殖与分化、细胞异常克隆增生而导致的一种恶性肿瘤疾病<sup>[1]</sup>。AML是成年人中最常见的白血病类型,且随着年龄增长发病率逐渐升高,因此,AML是一种老年性疾病<sup>[2]</sup>。由于患者年龄较大,增加了临床治疗的难度。并且,近几十年来,AML的临床治疗尚无突破性的进展<sup>[3]</sup>,在上述背景下,开发新的治疗手段以及药物十分必要。

现有统计表明,在1981年至2019年,全球通过审批的1 881个新药中,有23.5%来源于天然产物及其衍生物,因此,天然产物及其衍生物是药物的重要来源<sup>[4]</sup>。来源于中药雷公藤的天然产物雷公藤内酯酮(TN)是一种 $\alpha, \beta$ 不饱和内酯结构的松香烷型二萜类化合物<sup>[5]</sup>,早期研究人员侧重于研究其抗炎、抗生育和免疫抑制等活性<sup>[6]</sup>,但自2014年以来的报道显示, TN可在纳摩尔( $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )级别抑制多种肿瘤的生长,如胰腺癌<sup>[7-8]</sup>,胃癌<sup>[9-11]</sup>,肺癌<sup>[12]</sup>,淋巴瘤<sup>[13]</sup>,肝癌<sup>[14-15]</sup>和白血病<sup>[16]</sup>等。相较于与其结构相似的雷公藤甲素,毒性更小,体内20倍有效剂量无明显毒副作用<sup>[17]</sup>。通过大量的文献调研,尚未见TN通过诱导白血病细胞凋亡抑制其增殖的相关研究。本研究拟采用不同浓度的TN干预SHI-1细胞,观察其对AML细胞的增殖和凋亡效应的影响,旨在为治疗AML的小分子药物开发提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 细胞株** 人急性单核细胞白血病细胞株SHI-1,购于湖南丰晖生物科技有限公司。

**1.2 药物及试剂** TN(成都曼斯特生物科技有限公司,批号MUST-19102404,纯度99.72%);磷酸盐缓冲液(PBS),台盼蓝染液,青-链霉素混合液( $\times 100$ ),二甲基亚砜(DMSO),10%十二烷基硫酸钠(SDS),RNA酶(RNase A)溶液( $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),碘化丙锭(PI)溶液( $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为20200620, 20180409, 20191012, 1213C0329, 20190619, 20200509, 20200323);噻唑

蓝(MTT,北京博奥拓达科技有限公司,批号2019012);RPMI 1640培养基(美国Hyclone公司,批号AE29042344);胎牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司,批号19090504);半胱氨酸蛋白酶-8(Caspase-8)和 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(美国Proteintech公司,批号分别为10002872, 10004156),半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)和核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)抗体(美国Cell Signaling Technology公司,批号分别为8,9);其他试剂均为分析纯。

**1.3 仪器** Quintix65型1/10万天平(德国Sartorius公司);BDS400型倒置显微镜(中国Opetec公司);SC-3610型低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);MCO-15AC型二氧化碳培养箱(日本Sanyo公司);YT-CJ-1N型超净工作台(北京亚泰科隆仪器技术有限公司);Multiskan FC型酶标仪[赛默飞世尔(上海)仪器有限公司];5922型高速冷冻离心机(日本Kubota公司);KQ-100E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);FACS Canto II型流式细胞仪(美国Becton-Dickinson公司);ChemiDoc™型MP Imaging System, PowerPac™ Basic型电泳仪(美国Bio-Rad公司)。

## 2 方法

**2.1 药物及试剂配制** TN溶液的配制,取TN于DMSO中溶解,制为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的TN母液,过滤除菌,分装置于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中备用。使用时用完全培养基稀释至所需浓度,现用现配。

**2.2 细胞培养** 将SHI-1细胞培养于含10%胎牛血清,1%青-链霉素混合液( $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 青霉素和 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 链霉素)RPMI 1640培养基中,培养于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ 饱和湿度的培养箱中。根据细胞生长情况,每2~3 d传代1次。

**2.3 MTT比色法检测细胞增殖** 设加有细胞和完全培养基的空白孔,加有细胞、完全培养基和药物的20, 40, 80, 160,  $320 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 给药孔以及只加完全培养基的溶剂组孔,每组设6个复孔。收集处于

对数生长期的SHI-1细胞,以 $1 \times 10^4$ 个/孔接种于96孔板内,每孔加入上述对应浓度的TN,使终体积为200  $\mu\text{L}$ ,每孔四周以无菌磷酸盐缓冲液(PBS)200  $\mu\text{L}$ 填充,置于37  $^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ 饱和湿度培养箱中培养。培养48,72 h,每孔加入 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  MTT溶液20  $\mu\text{L}$ ,继续培养4 h。每孔加入10% SDS 100  $\mu\text{L}$ 继续孵育过夜,在酶标仪570 nm处测量各孔吸光度A值。本实验重复3次。计算细胞增殖抑制率和半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ )。细胞增殖抑制率= $[1 - (A_{570 \text{ nm}}^{\text{给药组}} - A_{570 \text{ nm}}^{\text{溶剂组}}) / (A_{570 \text{ nm}}^{\text{空白组}} - A_{570 \text{ nm}}^{\text{溶剂组}})] \times 100\%$ 。用SPSS 24.0计算 $\text{IC}_{50}$ 并进行单因素方差分析。

**2.4 细胞分组及给药** 以 $2 \times 10^6$ 个/孔接种于6孔板内,将细胞分为空白组,80,160  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  TN组,每孔终体积为2 mL。

**2.5 AnnexinV/PI双染法检测细胞凋亡** 取对数生长期的细胞,将细胞分为空白组,80,160,320  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  TN组,细胞接种密度以及体系体积同2.4项,置于37  $^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ 的培养箱中孵育。培养72 h,收集细胞,用预冷的PBS洗涤1次,用 $1 \times$  Binding buffer 100  $\mu\text{L}$ 重悬细胞,加入FITC Annexin V 5  $\mu\text{L}$ 室温避光孵育10 min,加入PI 5  $\mu\text{L}$ ,室温避光孵育5 min。1 h内上流式细胞仪检测。本实验重复3次。

**2.6 PI单染法检测细胞周期** 用无血清培养基将细胞饥饿培养24 h后,按照2.4项细胞分组及药物干预,置于37  $^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ 的培养箱中孵育。培养72 h,用PBS洗涤1次,以PBS 1 mL重悬细胞,加入4  $^\circ\text{C}$ 预冷的无水乙醇3 mL使终体积分数为75%,放于4  $^\circ\text{C}$ 固定过夜。用PBS洗涤1次。加入110  $\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 的RNase A使细胞重悬,于37  $^\circ\text{C}$ 孵育30 min,每管加等体积的PI,避光室温孵育5 min,上流式细胞仪检测。

**2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测Caspase-3,Caspase-8和NF- $\kappa$ B蛋白表达** 取对数生长期的细胞,按照2.4项细胞分组及给药方式干预,每组设3个复孔,每孔终体积为2 mL,置于37  $^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ 的培养箱中孵育。培养72 h,收集细胞,提取蛋白,用Bicinchoninic acid(BCA)法测定蛋白浓度。蛋白样品经12%的SDS-PAGE分离后,转移到PVDF膜上,用含有5%脱脂奶粉的TBST室温封闭1 h,加入Caspase-3,Caspase-8和NF- $\kappa$ B(1:1 000)和 $\beta$ -actin一抗(1:500),4  $^\circ\text{C}$ 过夜,洗膜后加入二抗(1:2 000),室温孵育1 h,洗膜后使用增强化学发光(ECL)检测试剂显影,置于凝胶成像系统内曝光。

以 $\beta$ -actin为内参,用Image J软件采集条带灰度值,取目的条带和内参条带灰度值的比值作为蛋白表达量。

**2.8 统计学分析** 利用SPSS 24.0软件进行数据处理,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用t检验,多组间比较用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 TN对SHI-1细胞增殖抑制的影响** 与空白组比较,培养48,72 h,随着TN浓度(80,160,320  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )的增加,SHI-1细胞的增殖抑制率升高( $P < 0.01$ ),且呈剂量依赖性,48,72 h的 $\text{IC}_{50}$ 分别为(101.75 $\pm$ 9.04),(77.15 $\pm$ 14.18)  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。见表1,2。

表1 TN对SHI-1细胞培养48 h增殖的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 Effect of triptonide on SHI-1 cell proliferation cultured for 48 h ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	浓度/ $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$A_{570 \text{ nm}}$	抑制率/%
空白		1.166 $\pm$ 0.095	-
溶剂		0.174 $\pm$ 0.004	-
TN	20	1.139 $\pm$ 0.064	2.73 $\pm$ 0.029
	40	0.963 $\pm$ 0.080 <sup>1)</sup>	20.45 $\pm$ 0.078 <sup>1)</sup>
	80	0.614 $\pm$ 0.042 <sup>1)</sup>	55.64 $\pm$ 0.041 <sup>1)</sup>
	160	0.502 $\pm$ 0.036 <sup>1)</sup>	66.85 $\pm$ 0.044 <sup>1)</sup>
	320	0.429 $\pm$ 0.023 <sup>1)</sup>	74.37 $\pm$ 0.010 <sup>1)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ (表2,4同)。

表2 TN对SHI-1细胞培养72 h增殖的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2 Effect of triptonide on SHI-1 cell proliferation cultured for 72 h ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	浓度/ $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$A_{570 \text{ nm}}$	抑制率/%
空白		1.631 $\pm$ 0.229	-
溶剂		0.175 $\pm$ 0.002	-
TN	20	1.393 $\pm$ 0.099	22.97 $\pm$ 0.094
	40	1.309 $\pm$ 0.191	24.78 $\pm$ 0.072
	80	1.196 $\pm$ 0.120 <sup>1)</sup>	32.11 $\pm$ 0.056 <sup>1)</sup>
	160	0.442 $\pm$ 0.025 <sup>1)</sup>	82.10 $\pm$ 0.025 <sup>1)</sup>
	320	0.316 $\pm$ 0.011 <sup>1)</sup>	90.54 $\pm$ 0.013 <sup>1)</sup>

**3.2 TN对SHI-1细胞周期的影响** 与空白组比较,160  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  TN作用于SHI-1细胞72 h,休眠期/ $\text{DNA}$ 复制前期( $\text{G}_0/\text{G}_1$ )和 $\text{DNA}$ 复制后期/分裂期( $\text{G}_2/\text{M}$ )细胞明显增加( $P < 0.01$ ),而 $\text{DNA}$ 复制期(S)细胞明显减少( $P < 0.05$ )。见表3。

**3.3 TN对SHI-1细胞凋亡的影响** 与空白组比较,TN 80,160  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组细胞早期凋亡、晚期凋亡比

表 3 TN 对 SHI-1 细胞周期的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 3 Effect of triptonide on SHI-1 cell cycle ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	浓度/nmol·L <sup>-1</sup>	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	S/%	G <sub>2</sub> /M
空白		39.17±9.72	48.45±6.87	12.37±2.30
TN	80	35.36±1.57	42.76±7.89	21.87±6.68
	160	53.34±4.52 <sup>1)</sup>	23.83±8.47 <sup>2)</sup>	22.82±4.24 <sup>1)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>P<0.05,<sup>2)</sup>P<0.01(表 5 同)。

例均显著升高(P<0.01),坏死细胞比例均显著升高(P<0.01)。见表 4。

表 4 TN 对 SHI-1 细胞凋亡的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 4 Effect of triptonide on SHI-1 cell apoptosis ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

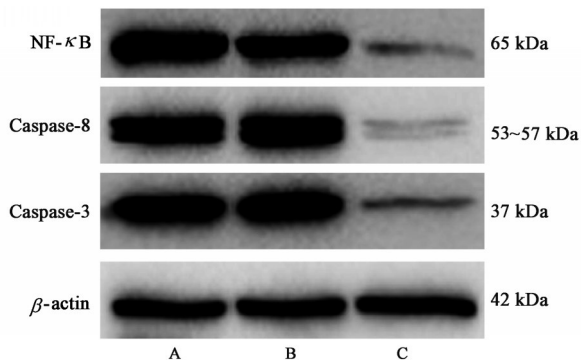
组别	浓度/nmol·L <sup>-1</sup>	正常细胞	早期凋亡	晚期凋亡	坏死细胞
空白		92.23±0.25	5.67±0.59	2.00±0.40	0.10
TN	80	84.90±1.99	11.17±2.25	3.80±0.30	0.13±0.06
	160	40.40±2.94 <sup>1)</sup>	30.70±4.59 <sup>1)</sup>	25.43±1.75 <sup>1)</sup>	3.47±0.40 <sup>1)</sup>
	320	30.57±6.06 <sup>1)</sup>	38.60±8.40 <sup>1)</sup>	27.53±1.83 <sup>1)</sup>	3.20±1.25 <sup>1)</sup>

3.4 TN 对细胞相关蛋白表达量的影响 与空白组比较, TN 80 nmol·L<sup>-1</sup>组 NF-κB 蛋白表达明显降低(P<0.05), TN 160 nmol·L<sup>-1</sup>组 Caspase-3, Caspase-8, NF-κB 蛋白表达均显著降低(P<0.01)。见表 5, 图 1。

表 5 TN 对 SHI-1 相关 Caspase-3, Caspase-8, NF-κB 蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 5 Effect of triptonide on expression of Caspase-3, Caspase-8, NF-κB proteins of SHI-1 cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	浓度/nmol·L <sup>-1</sup>	Caspase-3/β-actin	Caspase-8/β-actin	NF-κB/β-actin
空白		2.05±0.21	1.41±0.08	1.41±0.08
TN	80	1.86±0.11	1.29±0.04	1.14±0.06 <sup>1)</sup>
	160	0.65±0.02 <sup>2)</sup>	0.45±0.05 <sup>2)</sup>	0.35±0.05 <sup>2)</sup>



A. 空白组; B. TN 80 nmol·L<sup>-1</sup>组; C. TN 160 nmol·L<sup>-1</sup>组

图 1 各组 SHI-1 细胞 Caspase-3, Caspase-8, NF-κB 蛋白表达电泳  
Fig. 1 Electrophoresis of Caspase-3, Caspase-8, NF-κB proteins in each group

#### 4 讨论

白血病是一种造血细胞的恶性增生性疾病<sup>[18]</sup>, 根据 2018 全球癌症统计, 白血病相较于肺癌等发病率较高的疾病, 发病率较低, 但其致死率较高, 并且患者存活年限较低<sup>[19]</sup>。AML 是成年人中最常见的急性白血病类型, 但现有的药物以及治疗手段不

足以满足要求<sup>[20]</sup>, 小分子靶向药物由于其药效好、毒性低成为了理想的药物<sup>[21]</sup>。

细胞凋亡是受调节的细胞自杀机制, 在维持机体稳定性中具有至关重要的作用<sup>[22-23]</sup>。据现有文献报道, 恶性肿瘤的发生发展与细胞凋亡异常息息相关<sup>[24-25]</sup>。因此, 寻找可诱导肿瘤细胞凋亡的药物是一条行之有效的思路。Caspase 家族属于半胱氨酸蛋白酶, 是促进细胞凋亡的核心因子。其中 Caspase-8 是细胞凋亡的启动因子, 与促凋亡信号紧密相连, 一旦激活, 这些酶会切割并激活下游的效应组, 例如 Caspase-3。效应 Caspase 通过对细胞内蛋白特定的天冬氨酸残基位置、激活凋亡执行因子引起细胞凋亡<sup>[26]</sup>。Caspase-3 是细胞凋亡的执行因子, 同时也是细胞凋亡终末途径上的效应蛋白, 常作为细胞凋亡通路的标志性蛋白<sup>[27]</sup>。NF-κB 在肿瘤细胞中具有重要的抗凋亡活性, 抑制肿瘤细胞 NF-κB 的活性, 能够引起肿瘤细胞凋亡进而抑制肿瘤细胞的生长<sup>[28-30]</sup>。细胞周期紊乱是多种恶性肿瘤发生发展的重要机制之一。一般来说, 细胞周期分

为3个时相G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>/M。在过去的几十年中,科研人员发现,许多疾病的发生发展与细胞周期的调控息息相关,尤其是恶性肿瘤细胞,细胞周期调节失衡导致细胞无限增殖。因此,肿瘤细胞周期调控是抗肿瘤药物的重要作用靶点<sup>[31-32]</sup>。

本研究显示不同浓度的TN对SHI-1细胞株的活性具有抑制效果,且随着浓度的增加对SHI-1细胞增殖的抑制作用增强,同时,TN可诱导SHI-1细胞凋亡并且使S期比例明显降低,G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>以及G<sub>2</sub>/M期细胞升高。下调Caspase-3, Caspase-8和NF-κB的蛋白表达。因此,TN具有显著抑制SHI-1细胞增殖的效果,且该作用可能是通过抑制凋亡相关蛋白NF-κB和Caspase-8诱导Caspase-3所介导的细胞凋亡途径、改变细胞周期来实现的。本研究首次报道TN对急性单核细胞白血病细胞株SHI-1的增殖抑制及凋亡作用,为后续更深入地研究TN诱导白血病细胞的凋亡机制提供实验基础,并扩展了TN在抗肿瘤方面的潜在应用,同时也为临床治疗白血病药物的发现提供实验依据。

[参考文献]

[1] ESTEY E, DOHNER H. Acute myeloid leukaemia [J]. *Lancet (London, England)*, 2006, 368 (9550): 1894-1907.

[2] DOHNER H, WEISDORF D J, BLOOMFIELD C D. Acute myeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373 (12): 1136-1152.

[3] SHORT N J, RYTTING M E, CORTES J E. Acute myeloid leukaemia [J]. *Lancet (London, England)*, 2018, 392(10147): 593-606.

[4] NEWMAN D J, CRAGG G M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019 [J]. *J Nat Prod*, 2020, 83 (3): 770-803.

[5] 晋文,李飞杨,黄宇蓉,等. 雷公藤内酯酮与2,6-二甲基-β-环糊精包合物的制备及性能研究[J]. *分析化学*, 2019, 47(8): 1235-1242.

[6] 李慧杰,洪坤,李晓强,等. 雷公藤内酯酮的药理活性及其机制研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20202423.

[7] 张滨. LXRα-SREBF1-PNKP通路在胰腺癌DNA修复中的关键作用及其干预研究[D]. 苏州:苏州大学, 2019.

[8] 张鼎. 雷公藤内酯酮体外抗胰腺癌Pane-1细胞作用及机制的初步探究[D]. 苏州:苏州大学, 2019.

[9] WANG Z, MA D, WANG C, et al. Triptonide inhibits the pathological functions of gastric cancer-associated

fibroblasts [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.046.

[10] 王振飞,贾永峰,牟永平,等. 雷公藤内酯酮抑制胃癌细胞恶性行为的作用与机理研究[J]. *中医药通报*, 2017, 16(5): 67-69.

[11] XIANG S, ZHAO Z, ZHANG T, et al. Triptonide effectively suppresses gastric tumor growth and metastasis through inhibition of the oncogenic Notch1 and NF-kappaB signaling pathways [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, doi:org/10.1016/j.taap.2019.114870.

[12] ZHANG M, TAN S, YU D, et al. Triptonide inhibits lung cancer cell tumorigenicity by selectively attenuating the Shh-Gli1 signaling pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019, doi: 10.1016/j.taap.2019.01.002.

[13] YANG P, DONG F, ZHOU Q. Triptonide acts as a novel potent anti-lymphoma agent with low toxicity mainly through inhibition of proto-oncogene Lyn transcription and suppression of Lyn signal pathway [J]. *Toxicol Lett*, 2017, doi: 10.1038/s41418-020-0514-3.

[14] 赖旭宇,陈世伟. 雷公藤内酯酮用于制备Gli基因抑制剂和防治肝癌药物的生物医药用途: 江苏, 中华人民共和国, CN108309990A [P]. 2018/07/24.

[15] 何骏. 中草药单体的抗肿瘤作用[D]. 苏州:苏州大学, 2016.

[16] PAN Y, MENG M, ZHENG N, et al. Targeting of multiple senescence-promoting genes and signaling pathways by triptonide induces complete senescence of acute myeloid leukemia cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, doi:10.1016/j.bcp.2016.11.024

[17] LI X X, DU F Y, LIU H X, et al. Investigation of the active components in *Tripterygium wilfordii* leading to its acute hepatotoxicity and nephrotoxicity [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, doi:10.1016/j.jep.2015.01.004.

[18] 马军,张伯龙. 白血病[M]. 北京:北京大学医学出版社, 2007.

[19] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA-Cancer J Clin*, 2018, 68 (6): 394-424.

[20] TALLMAN M S, GILLILAND D G, ROWE J M. Drug therapy for acute myeloid leukemia [J]. *Blood*, 2005, 106(4): 1154-1163.

[21] COOMBS C C, TALLMAN M S, LEVINE R L. Molecular therapy for acute myeloid leukaemia [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(5): 305-318.

[22] REED J C. Apoptosis-targeted therapies for cancer [J]. *Cancer Cell*, 2003, 3(1): 17-22.

- [23] SPENCER S L, SORGER P K. Measuring and modeling apoptosis in single cells[J]. Cell, 2011, 144(6):926-939.
- [24] KERR J F, WINTERFORD C M, HARMON B V. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy [J]. Cancer, 1994, 73(8):2013-2026.
- [25] LOWE S W, LIN A W. Apoptosis in cancer [J]. Carcinogenesis, 2000, 21(3):485-495.
- [26] PIRNIA F, SCHNEIDER E, BETTICHER D C, et al. Mitomycin C induces apoptosis and Caspase-8 and -9 processing through a Caspase-3 and Fas-independent pathway[J]. Cell Death Differ, 2002, 9(9):905-914.
- [27] WYLLIE A H. "Where, O death, is thy sting" A brief review of apoptosis biology[J]. Mol Neurobiol, 2010, 42(1):4-9.
- [28] WANG C Y, MAYO M W, Baldwin A S, Jr. TNF- and cancer therapy-induced apoptosis: potentiation by inhibition of NF-kappaB [J]. Science (New York, NY), 1996, 274(5288):784-787.
- [29] KARIN M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression [J]. Nature, 2006, 441(7092):431-436.
- [30] KIM H J, HAWKE N, BALDWIN A S. NF-kappaB and IKK as therapeutic targets in cancer[J]. Cell Death Differ, 2006, 13(5):738-747.
- [31] PARK M T, LEE S J. Cell cycle and cancer [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2003, 36(1):60-65.
- [32] 陈晔光, 张传茂, 陈佳. 分子细胞生物学[M]. 北京: 清华大学出版社, 2011:339.

[责任编辑 张丰丰]

· 书讯 ·

## 结肠癌、子宫内膜癌、卵巢癌三重癌诊治进展 ——评《癌症·基础卷:癌症分子生物学导论》

重复癌也可以称为多原发癌,指的是同一个体中的单个器官或者多个器官同时或者前后发生两个或者两个以上相互独立的原发性恶性肿瘤。重复癌在消化系统患者当中具有较高的发生率,根据恶性肿瘤的发生时间也可分为同时性多原发癌或异时性多原发癌。临床角度判断重复癌的标准主要为,每个肿瘤在组织学方面的表现都属于恶性;每个肿瘤都各自有各自的病理形态;个体中存在着两个或两个以上病灶,对转移或者复发的情况能明确地诊断。多重癌的发生时间通常在同时或者数月之间甚至是十多年之后,区域癌变的过程能够持续一生。对结肠癌、子宫内膜癌、卵巢癌三重癌的诊疗可以结合《癌症·基础卷:癌症分子生物学导论》一书进行深入研究,积累相关经验和数据,为以后的癌症治疗提供优秀数据。

《癌症·基础卷:癌症分子生物学导论》共三部分37章,第一部分包括7章,论述了癌症分子生物学的一般原理,为理解癌细胞的行为提供了基本框架。第二部分是关于新分子生物学信息如何影响19种常见癌症的生物学研究进展,重点在于目前的新发现如何被临床转化成影响癌症患者的临床管理措施。本版中增加了第三部分遗传咨询,遗传咨询是癌症患者和癌症医学的另一个重要的结合领域。

《癌症·基础卷:癌症分子生物学导论》定义三重癌属于多重癌的一种,指同一个患者在同一时期或者不同时期中的单个或者多个器官组织中出现原发恶性肿瘤。两个肿瘤的间隔至少在2 cm以上,如果出现在同一位置则至少间隔5年以上。针对结肠癌、子宫内膜癌、卵巢癌三重癌诊治进展研究,采用全子宫/双侧附件切除术/盆腔淋巴结清扫术/骶前淋巴清扫术/主动脉旁淋巴结清扫术/大网膜切除术联合的治疗方法。临床会诊方面考虑到结肠癌不除外的情况,采取同时进行右半结肠的切除术。针对三重癌的情况其主要治疗原则遵循早发现、早诊断、早治疗原则,治疗方法多采用手术结合术后化疗、放疗或者综合治疗等方式。三重癌在临床上较为罕见,因现代家庭的系家通常较小,因此基因突变外显并不明显,价值检测费用较高,通常不容易辨别和诊断出来。在结肠癌、子宫内膜癌和卵巢癌三重癌的检测方面需要胃肠外科医生、妇科医生以及病理医生加强对临床患者的筛查,尤其是对年轻患者要进行详细的家族史和病史询问,对患者身体进行完善检查,如有必要在术前也可以进行肠镜检查,在手术的过程中更要仔细对除结肠以外的肠癌进行探查,长期对患者进行回访,确保能够尽早诊治并且为患者提供相应的遗传咨询。通过治疗过程积累有效的手术经验和相关诊断数据,为后期治疗提供有效参考。

我国多重癌的发病率正在不断提升,人们生活水平提高,健康意识的增强,定期体检能够在一定程度上增加早期肿瘤的诊断和治疗发病率;肿瘤患者采取化疗、放疗治疗刺激多重癌发病率;我国正在逐渐步入老龄化,一定程度上也增加了第二肿瘤的发病率。目前我国在临床治疗方面并未明确多重癌的具体发病机制,影响因素主要有医源性化疗放疗治疗、机体免疫力下降、内分泌系统失调、机体易感染性、遗传性以及生活环境等方面。《癌症·基础卷:癌症分子生物学导论》中指出,多重癌发病极大程度是受到化放疗影响,原发癌症患者在进行治疗时不应盲目进行化放疗,而是根据自身实际情况制定出有针对性的治疗方案,如果已经采取了化放疗进行治疗则需要长期随访,这样才能够及时发现多重癌的疑似病例。临床治疗方面应当以相关位置的单个癌症治疗方法为基本出发点,通过对病理类型、病变位置合理分析来制定相应的治疗方案。如果患者不存在手术禁忌的情况则立刻采用根治性切除手术,术后在通过化放疗作为辅助治疗。如果患者不慎错过最佳手术治疗时间,则根据癌症的具体病发情况采取化疗、放疗、姑息手术等综合治疗方法。《癌症·基础卷:癌症分子生物学导论》对同时性多重癌的临床治疗方面提出要先处理症状明显能够危及生命并且预后较差的肿瘤,进行同时性多重癌诊断治疗时要仔细并且严格观察,杜绝误诊而导致错失治疗时机的情况发生。异时性多重癌经常会被诊断为转移癌,因此在临床诊断方面需要多加重视。

《癌症·基础卷:癌症分子生物学导论》可以为医学相关专业学生作参考书籍进行阅读,也可为在职临床医师作参考资料。  
(作者林丹,李清丽,楼江燕,四川大学华西第二医院 四川大学出生缺陷与相关妇科疾病教育部重点实验室,成都 610041)