

Flavaglines 类化合物对人白血病 HEL 细胞的作用及机制*

龙群^{1,2,3}, 肖潇^{1,2,3}, 宋晶睿^{2,3}, 饶青^{2,3}, 苑春茂^{2,3}, 何志旭^{1**}, 李艳梅^{2,3**}

(1. 贵州医科大学 基础医学院 免疫教研室 & 组织工程与干细胞实验中心, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550014; 3. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550014)

[摘要] 目的: 探讨 Flavaglines 类化合物对人白血病 HEL 细胞的作用及机制。方法: 取 HEL 细胞培养至对数生长期, 以 DMSO 组为空白对照组, 采用四唑盐 (MTT) 法检测阳性对照药阿霉素 (0.100、0.050、0.030、0.010 及 0.006 $\mu\text{mol/L}$)、化合物 M8 (0.20、0.10、0.05、0.03 及 0.01 $\mu\text{mol/L}$) 及 M9 (2.50、1.25、0.63、0.30 及 0.16 $\mu\text{mol/L}$) 对 HEL 细胞作用 72 h 后的吸光度值 (OD) 并计算抑制率和半抑制浓度 (IC_{50}) 值; 采用流式细胞仪检测 M8 (0.20、0.05 及 0.02 $\mu\text{mol/L}$) 和 M9 (1.00、0.50 及 0.25 $\mu\text{mol/L}$) 对 HEL 细胞作用 24、48 及 72 h 后的细胞凋亡率; 采用 Western blot 分析 M8 (0.20 $\mu\text{mol/L}$) 和 M9 (1.00 $\mu\text{mol/L}$) 对 HEL 细胞作用 24 h 后 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2)、Caspase3、Cleave-Caspase3、磷酸化信号传导转录激活蛋白 3 (p-Stat3) 及 c-Myc 蛋白表达的变化。结果: MTT 结果显示, 阿霉素及化合物 M8、M9 抑制 HEL 细胞增殖的抑制率均随浓度的增加而增高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), IC_{50} 值分别为 (0.06 \pm 0.001) $\mu\text{mol/L}$ 及 (0.02 \pm 0.010) $\mu\text{mol/L}$ 、(0.21 \pm 0.060) $\mu\text{mol/L}$; 流式细胞仪结果显示, 化合物 M8 和 M9 促进 HEL 细胞的凋亡率随浓度的增加而增高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); Western blot 结果显示, 与 DMSO 组比较, M8 和 M9 组 HEL 细胞的 Bcl-2、Caspase3、p-Stat3 及 c-Myc 蛋白表达减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), Cleave-Caspase3 蛋白表达增加 ($P < 0.01$)。结论: Flavaglines 类化合物 M8 和 M9 可通过影响 Stat3 信号通路而促进 HEL 细胞发生凋亡。

[关键词] 白血病; 细胞凋亡; 环戊烷苯啉咪喃类化合物; HEL 细胞; 抑制增殖; 信号传导转录激活蛋白 3

[中图分类号] R915 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-8388(2020)05-0505-06

DOI: 10.19367/j.cnki.2096-8388.2020.05.002

Effect of Flavaglines on Leukemia HEL Cells and its Mechanism

LONG Qun^{1,2,3}, XIAO Xiao^{1,2,3}, SONG Jingrui^{2,3}, RAO Qing^{2,3}, YUAN Chunmao^{2,3}, HE Zhixu¹, LI Yanmei^{2,3}

(1. Department of Immunology & Stem Cell and Tissue Engineering Research Center, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. State Key Laboratory for Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, Guizhou, China; 3. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academic of Sciences, Guiyang 550014, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect and mechanism of flavaglines on human leukemia HEL cells. **Methods:** Compounds M8 and M9 are flavaglines. Based on the treatment, HEL cells at logarithmic growth phase were treated with DMSO as blank group, treated with doxorubicin (0.100, 0.050, 0.030, 0.010 and 0.006 $\mu\text{mol/L}$) as positive group, treated with compound M8 (0.20, 0.10, 0.05, 0.03 and 0.01 $\mu\text{mol/L}$) as M8 group and compound M9 (2.50, 1.25, 0.63, 0.30 and 0.16 $\mu\text{mol/L}$) as M9 group. At 72 h after the above treatment, MTT assay was used to determine OD values. Cell growth inhibition rates and IC_{50} were calculated. Flow cytometry was used to detect cellular apoptosis induced by M8 and M9. Western blot was used to detect the protein levels of B

* [基金项目] 国家自然科学基金项目 (81872772、81960546、U1812403-4); 贵州省科技计划项目 [黔科合平人才 (2019)5406、QKH20181409、QKH20192762、QKH20205008]

** 通信作者 E-mail: hzx@gmc.edu.cn; liyanmei518@Hotmail.com

lymphoma-2 (Bcl-2), Caspase3, Cleaved-Caspase3, phospho-Stat3 and c-Myc. **Results:** The MTT assay showed that the cell growth inhibitory rates of doxorubicin, compounds M8 and M9 were increased in a dose-dependent manner ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and their IC_{50} values were $(0.06 \pm 0.001) \mu\text{mol/L}$ And $(0.02 \pm 0.010) \mu\text{mol/L}$, $(0.21 \pm 0.060) \mu\text{mol/L}$, respectively. Flow cytometry analysis showed that compound M8 and M9 induced cellular apoptosis in a dose-dependent manner ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Western blot analysis revealed that compared with the DMSO group, both compounds M8 and M9 downregulated the expression levels of Bcl-2, Caspase3, phospho-Stat3 and c-Myc ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), while upregulated the expression levels of cleaved Caspase3 ($P < 0.01$). **Conclusion:** Flavaglines M8 and M9 can promote the apoptosis of HEL cells by affecting the Stat3 signaling pathway.

[**Key words**] leukemia; apoptosis; cyclopentane benzidine furans; HEL cell; proliferation inhibition; signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3)

白血病是由于基因突变导致造血干细胞或造血祖细胞恶性克隆增生的一种血液肿瘤,全世界每年至少有 54 000 人被诊断为白血病,5 年存活率低于 60%;据 2018 年全球数据表明,960 万癌症相关死亡病例中白血病死亡病例占比 3.2%^[1-2]。白血病对人类健康的威胁主要是因为恶性增殖、凋亡受阻和分化障碍等因素可形成白血病细胞,而后在骨髓和肝脾等组织器官中大量增殖、广泛浸润,最终导致白血病患者出现贫血、出血、发热、易感染、肝脾淋巴结肿大及疼痛等临床表现^[3]。目前白血病主要有化学治疗、放射治疗、靶向治疗、免疫治疗及干细胞移植等治疗方法^[4-5],部分白血病患者的预后可以得到极大的改善,相当多的患者可获得治愈或者长期稳定缓解;但也有部分病人在临床治疗过程中会复发、药物抗性和发生其它副作用^[6],因此白血病的治疗仍然是大家关注的重点之一。科学家正不断探索新的针对白血病的化疗药物,其中靶向猫肉瘤病毒麦克唐纳株[Feline sarcoma virus (strain McDonough), FMS]样的酪氨酸激酶 3 (Fms-like tyrosine kinase 3, Flt3) 的米喹妥林 (protein kinase C 412, PKC412) 已于 2017 年获得批准上市^[7],另外靶向丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK/Erk kinase, MEK)、B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, BCL-2) 基因、肿瘤蛋白 53 (tumour protein 53, TP53)、信号转导及转录激活蛋白 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 等抑制剂药物也正在研究中^[8-9]。Flavaglines 是一类具有环戊烷苯并咪唑骨架的复杂天然产物^[10],在肿瘤细胞中具有良好活性,但是对非肿瘤细胞却几乎没有毒性或是毒性很小^[11-12],因此受到了化学家和生物

学家的广泛关注。虽然 Flavaglines 在肿瘤细胞中的活性报道已经很多,但其对白血病中的作用机制研究并不多,尤其是在人白血病细胞系 (human erythroleukemia, HEL) 细胞中的研究更少,因此本研究主要对 Flavaglines 类化合物 (M8、M9) 在白血病 HEL 细胞中抑制增殖的作用及机制进行初步研究,以扩大抗白血病药物研究的药库。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 化合物及细胞株 Flavaglines (M8 和 M9) 由贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室苑春茂老师课题组合成,阿霉素 (10 mg/支) 购于中国碧云天公司;HEL 细胞由加拿大多伦多大学惠赠。

1.1.2 主要试剂和仪器 胎牛血清购于美国 VACCA 公司,RPMI1640 培养基购于美国 Gibco 公司,二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 购于上海 Sangon 公司,四唑盐 (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT) 试剂、二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白浓度测定试剂盒、细胞裂解液 (immunol precipitation, IP) 及蛋白酶抑制剂 (phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF) 购于北京索莱宝公司,Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒购于美国 BD 公司,Bcl-2 及 c-Myc 抗体购于美国 Abcam 公司,Caspase 3 和磷酸化信号传导与活化转录因子 3 (phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3, p-Stat3) 购于美国 CST 公司, GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate

dehydrogenase) 购于中国正能;3111 细胞培养箱和 1384 型 A2 型超净工作台购于美国 Thermo 公司, Axio Vert A1 倒置显微镜购于美国 ZEISS 公司, Synergy 2 Multi-Mode Reader 多功能酶标仪购于美国 BioTek 公司, NovoCyte 2040R 流式细胞仪购于美国 ACEA 公司。

1.2 方法

1.2.1 HEL 细胞培养 HEL 细胞使用含 5% 血清的培养基于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。

1.2.2 MTT 法检测化合物活性 取处于对数生长期的 HEL 细胞计数均匀铺板于 96 孔板中, 细胞浓度为 6 000 个/孔; 阳性对照药阿霉素 (0.100、0.050、0.030、0.010 及 0.006 μmol/L)、化合物 M8 (0.20、0.10、0.05、0.03 及 0.01 μmol/L) 和 M9 (2.50、1.25、0.63、0.30 及 0.16 μmol/L), 分别对 HEL 细胞作用 72 h 后, 加入 MTT 试剂 10 μL, 培养箱中反应 4 h, 3 000 r/min 离心 30 min, 吸尽多余液体后再加入二甲基亚砷溶解结晶 160 μL; 用多功能酶标仪在 490 nm 吸收光处读取吸光度值 (optical density, OD), 计算各浓度药物对 HEL 细胞的抑制率 [抑制率 (%) = (对照组 OD - 治疗组 OD) / 对照组 OD × 100%], 运用 Forecast 通过抑制率计算半抑制浓度 (50% inhibiting concentration, IC₅₀)。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡 取处于对数生长期的 HEL 细胞计数铺板于 6 孔板中, 细胞浓度为 20 × 10⁷ 个/L; 根据 1.2.2 项下 IC₅₀ 分别设置化合物 M8 为 0.20、0.05 及 0.02 μmol/L, 化合物 M9 为 1.00、0.50 及 0.25 μmol/L, 均以 DMSO 组为对照, 分别培养 24、48 及 72 h; 收集细胞, 预冷 PBS 洗 2 次, 采用 Annexin V-FITC/PI 双染法在流式细胞仪上检测 HEL 细胞的凋亡率。

1.2.4 Western blot 检测 HEL 细胞相关蛋白的表达 在 HEL 细胞生长到对数生长期时, 收集细胞计数铺板于 60 mm × 60 mm 的小皿中, 细胞浓度为 50 × 10⁷ 个/L。药物组设置 M8 (0.20 μmol/L) 和 M9 (1.00 μmol/L), 以 DMSO 为对照组, 处理 HEL 细胞 24 h 后收集细胞, 预冷 PBS 充分洗掉培养基; 加蛋白酶抑制剂的 IP 裂解液 (IP: PMSF = 100:1) 冰上裂解 30 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 去除絮状沉淀; BCA 蛋白定量试剂盒测定提取的蛋白浓度, 确定上样量; 用 5 × SDS buffer, 95 °C 变性 5 min; 按蛋白质分子量进行 100 V SDS-PAGE 电泳 120 min, 胶上的蛋白质用 220 mA 的恒流, 120 min 转到 PVDF 膜, 3% BSA 室温封闭 1 h, 孵育一抗 Bcl-2、

Caspase3、p-Stat3、c-Myc 及 GAPDH (4 °C 过夜); 孵育一抗完成后用 1 × TBS 洗 3 次, 室温敷二抗 2 h (慢摇), 用 1 × TBS 洗 3 次后用 Odyssey 红外成像仪上扫膜分析蛋白表达情况。

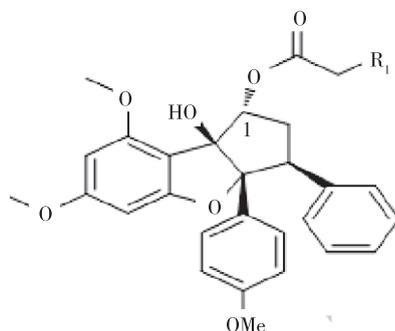
1.3 统计学分析

使用 GraphPad Prism 5 软件进行数据分析, 定量数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组样本进行单因素方差分析, 组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 化合物 M8 和 M9 的活性

化合物 M8、M9 的结构如图 1 所示, 以环戊烷苯啉咪喃为基本骨架, R₁ = OH 为化合物 M8, R₁ = Cl 为化合物 M9; MTT 法检测结果显示, 化合物 M8 (0.20、0.10、0.05、0.03 及 0.01 μmol/L)、M9 (2.50、1.25、0.63、0.30 及 0.16 μmol/L) 及阿霉素 (0.100、0.050、0.030、0.010 及 0.006 μmol/L) 对 HEL 细胞作用 72 h 后, 对 HEL 细胞的抑制率均随浓度的增加而增高 (*P* < 0.05 或 *P* < 0.01); 通过计算, 化合物 M8、M9 及阿霉素的 IC₅₀ 值分别为 (0.02 ± 0.010) μmol/L、(0.21 ± 0.060) μmol/L 及 (0.06 ± 0.001) μmol/L, 与阿霉素和化合物 M9 比较, 化合物 M8 在 HEL 细胞中的 IC₅₀ 值较小 (*P* < 0.01)。见图 2。



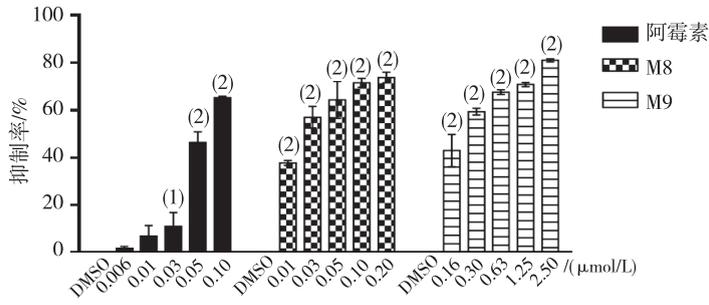
注: R₁ = OH, 为 M8; R₁ = Cl, 为 M9。

图 1 化合物 M8 和 M9 的结构

Fig. 1 Structure of compounds M8 and M9

2.2 化合物 M8 和 M9 对 HEL 细胞凋亡的影响

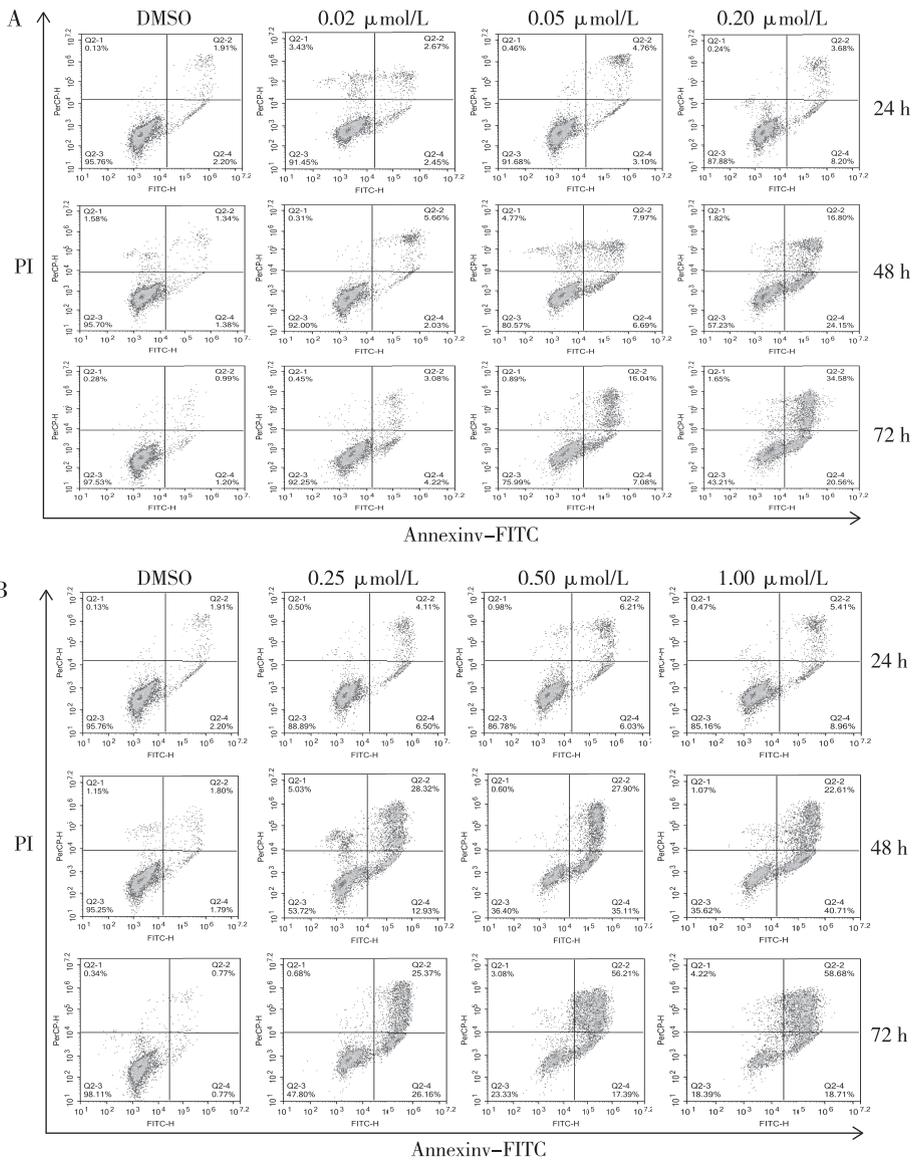
流式细胞检测结果显示, 与各时间点 DMSO 组比较, 化合物 M8 和 M9 组 HEL 细胞的凋亡率均随浓度的增加而增高 (*P* < 0.05 或 *P* < 0.01)。见图 3 和图 4。



注:与 DMSO 组比较, ⁽¹⁾ $P < 0.05$, ⁽²⁾ $P < 0.01$ 。

图 2 阿霉素、化合物 M8、M9 对 HEL 细胞作用 72 h 后的抑制率

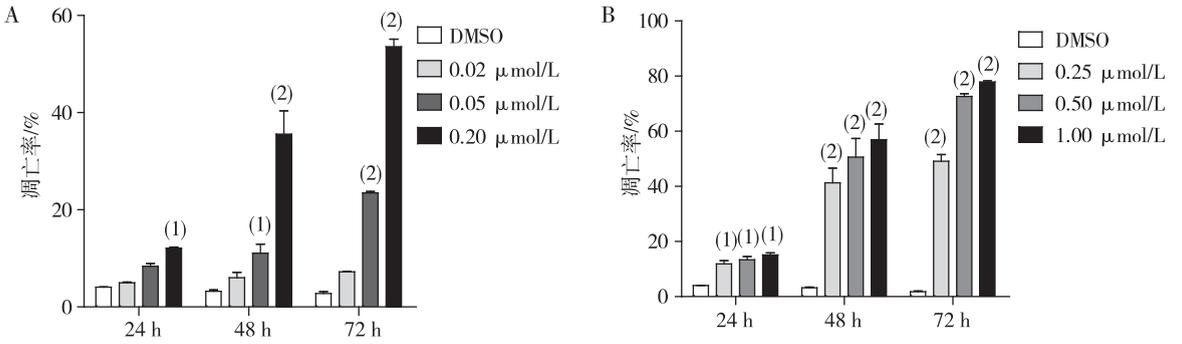
Fig. 2 Cell growth inhibition rates of doxorubicin, compounds M8 and M9 on HEL cells after 72 h of treatment



注:A 为 M8,B 为 M9。

图 3 化合物 M8 和 M9 对 HEL 细胞作用 24、48 及 72 h 时的流式细胞仪凋亡检测结果

Fig. 3 Apoptosis rates of compounds M8 and M9 on HEL cells after 24, 48 and 72 h of treatment



注:A为M8,B为M9;与DMSO组比较,⁽¹⁾ $P < 0.05$,⁽²⁾ $P < 0.01$ 。

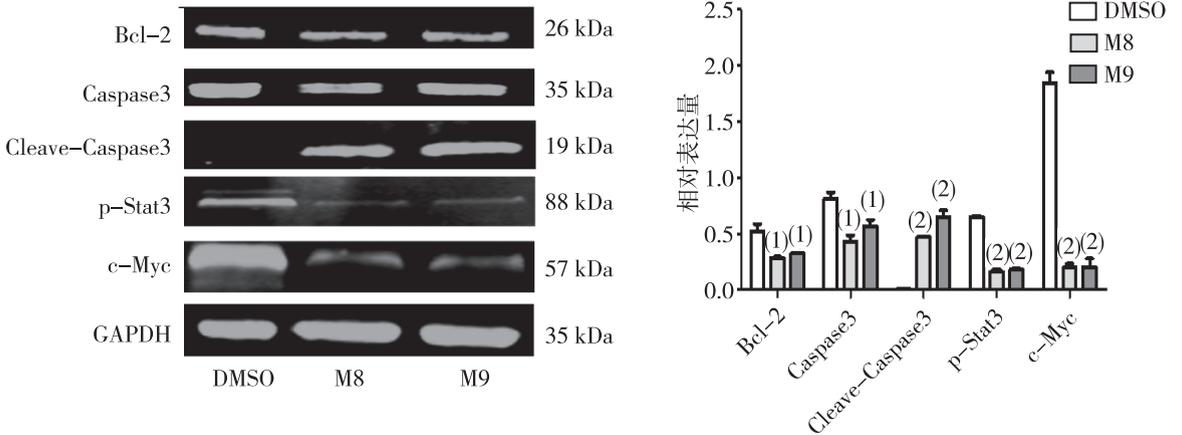
图4 化合物M8和M9对HEL细胞作用24、48及72h的细胞凋亡

Fig.4 Apoptosis rates of compounds M8 and M9 on HEL cells after 24,48 and 72 h of treatment

2.3 化合物M8和M9对HEL细胞相关蛋白的影响

Western blot结果显示,与DMSO组比较,化合物M8(0.20 μmol/L)和M9(1.00 μmol/L)组HEL

细胞中Bcl-2、Caspase3、p-Stat3及c-Myc蛋白的表达减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),Cleave-Caspase3蛋白明显增加($P < 0.01$)。见图5。



注:A为Western blot检测结果;B为蛋白相对表达量直条图;与DMSO组比较,⁽¹⁾ $P < 0.05$,⁽²⁾ $P < 0.01$ 。

图5 化合物M8和M9作用24h后HEL细胞相关蛋白的表达

Fig.5 Expression levels of related proteins of compounds M8 and M9 on the on HEL cells after 24 h of treatment

3 讨论

本研究结果显示,化合物M8、M9及阳性对照药阿霉素对HEL细胞作用72h后,抑制HEL细胞增殖的抑制率均随浓度的增加而增高,与DMSO组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),72h的 IC_{50} 值分别为(0.02 ± 0.010) μmol/L、(0.21 ± 0.060) μmol/L及(0.06 ± 0.001) μmol/L,与阿霉素和M9比较,化合物M8在HEL细胞中的 IC_{50} 值较小($P < 0.01$),提示化合物M8在HEL细胞中的活性优于阳性对照药阿霉素及化合物

M9;流式细胞仪结果显示,化合物M8、M9对HEL细胞分别作用24、48及72h后均能促进HEL细胞发生凋亡,凋亡率也随浓度的增加而增高,与各时间点DMSO组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),提示化合物M8、M9可以通过促进HEL细胞凋亡发挥抗白血病作用。在蛋白水平上,化合物M8、M9能够抑制Bcl-2、Caspase3、p-Stat3及c-Myc蛋白的表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),并使Cleave-Caspase3明显增多($P < 0.01$),说明化合物M8、M9可通过调控Stat3/c-Myc信号通路来促进白血病HEL细胞凋亡。

已知,Bcl-2蛋白是细胞内源性凋亡的主要调

节因子,与线粒体损伤的细胞凋亡密切相关^[13]。事实上,Bcl-2 已经成为刺激各种癌细胞凋亡的最有价值的靶点之一^[14-15]。如靶向 Bcl-2 的 ABT-737、Navitoclax 和 Venetoclax 等小分子抑制剂在体内和体外都显示了良好的疗效^[16-17]。而 Caspase3 的激活则是启动凋亡程序的必经之路^[18]。由此可见,Flavaglines (M8 和 M9) 可通过下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 来激活 Caspase3 蛋白,从而促进白血病 HEL 细胞凋亡,而不是细胞坏死。凋亡是细胞的一种程序性死亡,与细胞坏死不同,凋亡细胞发生形态学变化,如细胞皱缩、核凝结、DNA 断裂及膜泡形成等,但不破坏细胞膜的完整性,对细胞周围产生的炎症反应很轻^[19],这在肿瘤的治疗上具有重要意义,因此目前很多抗肿瘤药物的研究都是从诱导肿瘤细胞凋亡的机制入手^[20-22]。

在前期的研究中,Flavaglines 主要是通过抑制翻译起始因子 eIF4A 调控 MAPK 信号通路,从而诱导肿瘤细胞凋亡^[23-24],但本研究结果显示化合物 M8 和 M9 可以使 p-Stat3 明显减少($P < 0.01$)。已知,Stat3 是一种信号传导活化转录因子,在细胞中起到传递信号和启动基因转录的双重作用^[25],Stat3 信号异常可通过抑制细胞凋亡,诱导细胞增殖、血管生成、侵袭和转移,诱发炎症等促进肿瘤的发生和进展,更关键的是在肿瘤耐药方面中扮演了重要角色^[26]。许多研究已证明 Stat3 在白血病、乳腺癌、胃癌及肺癌等多种人类肿瘤中过度激活,并与预后相关^[25-28]。因此,鉴定和开发靶向抑制 Stat3 激活的新型药物已经成为一个肿瘤治疗的方向^[29]。本研究结果还显示,M8 和 M9 可以明显抑制 c-Myc 蛋白的表达($P < 0.01$)。c-Myc 蛋白是一种经典的原癌蛋白,在造血干细胞的自我更新、增殖、分化中起重要调控作用,但在大多数肿瘤中过度表达^[30];同时 c-Myc 蛋白又是由 Stat3 下游靶点基因 *c-myc* 编码表达的蛋白质,因此抑制 p-Stat3/c-Myc 的表达,对肿瘤的治疗尤其是白血病的治疗具有重要意义^[31]。

综上所述,Flavaglines 化合物 M8、M9 对白血病 HEL 细胞均具有良好的活性,且 M8 活性优于阳性药阿霉素和 M9;初步探讨了 Flavaglines 化合物 M8、M9 作用于 Stat3/c-Myc 信号通路促进白血病 HEL 细胞凋亡的机制,提示化合物 M8、M9 在白血病治疗中具有潜在的应用价值,其具体的抗白血病分子机制值得进一步研究。

4 参考文献

- [1] BAKKER E, QATTAN M, MUTTI L, et al. The role of microenvironment and immunity in drug response in leukemia[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2016, 1863(3): 414-426.
- [2] 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: A Cancer Journal for Clinicians*, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] DAVIS A S, VIERA A J, MEAD M D. Leukemia: an overview for primary care[J]. *American Family Physician*, 2014, 89(9): 731-738.
- [4] ALLART-VORELLI P, PORRO B, BAGUET F, et al. Haematological cancer and quality of life: a systematic literature review [J]. *Blood Cancer Journal*, 2015, 5(4): 305-314.
- [5] 李欣瑜, 许吕宏, 方建培. 小分子靶向药物在儿童急性淋巴细胞白血病的应用进展[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2019, 24(6): 328-333.
- [6] SOARES F S, LETTNIN A P, WAGNER E F, et al. Multi-drug resistance phenotype: Relation between phenotype induction and its characteristics in erythroleukemia cells [J]. *Cell Biology International*, 2019, 43(2): 214-219.
- [7] 刘务玲, 姚尧, 陈娟, 等. 双咪喹马来酰亚胺衍生物 GZWM-051 诱导白血病细胞凋亡的作用及机制[J]. *贵州医科大学学报*, 2019, 44(9): 999-1004.
- [8] REIKVAM H, HAUGE M, BRENNER A K, et al. Emerging therapeutic targets for the treatment of human acute myeloid leukemia (part 1)-gene transcription, cell cycle regulation, metabolism and intercellular communication [J]. *Expert Review of Hematology*, 2015, 8(3): 1-15.
- [9] REIKVAM H, HAUGE M, TUYEN T V, et al. Emerging therapeutic targets in human acute myeloid leukemia (part 2)-bromodomain inhibition should be considered as a possible strategy for various patient subsets [J]. *Expert Review of Hematology*, 2015, 8(3): 315-327.
- [10] 吴剑. 三种药用植物的化学成分与生物活性研究 [D]. 上海: 中国科学院上海药物研究所, 2008.
- [11] CALLAHAN K P, MINHAJUDDIN M, CORBETT C, et al. Flavaglines target primitive leukemia cells and enhance anti-leukemia drug activity[J]. *Leukemia*, 2014, 28(10): 1960-1968.
- [12] RIBEIRO N, THUAUD F, BERNARD Y, et al. Flavaglines as potent anticancer and cytoprotective agents[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 55(22): 10064-10073.

- [13] 贡洁, 胡晓佳, 段海婧, 等. 白藜芦醇通过 PI3K/Akt 信号通路诱导子宫内膜癌 Ishikawa 细胞凋亡机制研究 [J]. 云南中医学院学报, 2018, 41(4): 13-16.
- [14] PILLING A B, HWANG C. Targeting prosurvival BCL2 signaling through Akt blockade sensitizes castration-resistant prostate cancer cells to enzalutamide [J]. The Prostate, 2019, 79(11): 1347-1359.
- [15] CAMPBELL K J, TAITTS W G. Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer [J]. Open Biology, 2018, 8(5): 1-11.
- [16] MONGR R K, MISHRA C B, PRAKASH A, et al. Novel carbazole-piperazine hybrid small molecule induces apoptosis by targeting BCL-2 and inhibits tumor progression in lung adenocarcinoma in vitro and xenograft mice model [J]. Cancers, 2019, 11(9): 1245-1269.
- [17] MONTERO J, LETAI A. Why do BCL-2 inhibitors work and where should we use them in the clinic [J]. Cell Death and Differentiation, 2018, 25(1): 56-64.
- [18] 杨涛, 费振海, 钟兴明. Caspase 家族与细胞凋亡的研究进展 [J]. 浙江医学, 2018, 40(18): 2083-2087.
- [19] LONG J S, RYAN K M. New frontiers in promoting tumour cell death: targeting apoptosis, necroptosis and autophagy [J]. Oncogene, 2012, 31(49): 5045-5060.
- [20] SONG X, GAO T, LEI Q, et al. Piperlongumine induces apoptosis in human melanoma cells via reactive oxygen species mediated mitochondria disruption [J]. Nutrition and Cancer, 2018, 70(3): 1-10.
- [21] ZHAO T, FU Y, SUN H, et al. Ligustrazine suppresses neuron apoptosis via the Bax/Bcl-2 and caspase-3 pathway in PC12 cells and in rats with vascular dementia [J]. Iubmb Life, 2018, 70(1): 60-70.
- [22] PARK G H, SONG H M, PARKK S B, et al. Cytotoxic activity of the twigs of Cinnamomum cassia through the suppression of cell proliferation and the induction of apoptosis in human colorectal cancer cells [J]. BMC Complementary & Alternative Medicine, 2018, 18(1): 28-40.
- [23] ZHANG W, CHU J, CYR A M, et al. Intercepted retro-nazarov reaction: syntheses of amidino-rocaglate derivatives and their biological evaluation as eIF4A inhibitors [J]. Journal of the American Chemical Society, 2019, 141(32): 12891-12900.
- [24] SONG J L, YUAN C M, YANG J, et al. Novel flavagline-like compounds with potent Fli-1 inhibitory activity suppress diverse types of leukemia [J]. The FEBS journal, 2018, 285(24): 4631-4645.
- [25] 吴泽奇, 田莎莎. 信号转导与转录因子 STAT3 在乳腺癌中的研究进展 [J]. 基层医学论坛, 2019, 23(22): 3231-3233.
- [26] 孙思博, 金时代, 郭人花. STAT3 在非小细胞肺癌耐药中的研究进展 [J]. 中国肺癌杂志, 2019, 22(7): 457-463.
- [27] CHENG S H, MEI T, XIANG M Z, et al. STAT3 expression and clinical significance of STAT3 genes in patients with acute myeloid leukemia [J]. Journal of Experimental Hematology, 2019, 27(1): 45-51.
- [28] 宋圆圆, 李晓丽. 磷酸化 STAT3 蛋白与胃癌患者预后及临床病理特征关系的 Meta 分析 [J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2020, 29(2): 148-154.
- [29] JOHNSON D E, OKEEFE R A, GRANDIS J R. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer [J]. Nature reviews. Clinical oncology, 2018, 15(4): 234-248.
- [30] 许慧. *c-Myc* 转录抑制活性在白血病发生发展中的作用 [D]. 上海: 上海师范大学, 2019.
- [31] SU W M, GUO C F, WANG L H, et al. LncRNA MIR22HG abrogation inhibits proliferation and induces apoptosis in esophageal adenocarcinoma cells via activation of the STAT3/*c-Myc*/FAK signaling [J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(13): 4587-4596.

(2020-03-06 收稿, 2020-04-23 修回)
中文编辑: 严征; 英文编辑: 张启芳