

棣酰胺对急性髓系白血病细胞线粒体功能的影响

邓 娜^{1,2†}, 高议雁^{1,2†}, 李佳瑞^{1,2},

张 镒^{1,2}, 李君兰^{1,3,4}, 周佳钰^{1,2}, 宋佳蕾^{1,3,4*}

¹贵州中医药大学基础医学院; ²贵州中医药大学药学院;

³贵州中医药大学 分子生物学重点实验室; ⁴贵州中医药大学 分子诊断研究中心, 贵阳 550025

摘 要: 探讨棣酰胺对急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 细胞线粒体的作用。MTT 法测定棣酰胺对 AML 细胞 HEL 生长增殖的影响, PI 法测定细胞周期的变化。流式细胞技术分析棣酰胺对细胞凋亡率的影响, Western blot 检测线粒体凋亡途径相关蛋白的变化, 钙黄绿素法分析棣酰胺对线粒体通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) 的影响, JC-1 染料检测线粒体膜电位的变化, 荧光素酶实验测定三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 水平。结果显示棣酰胺抑制 HEL 细胞的生长增殖并呈现时间和浓度依赖性, 阻滞细胞周期于 G0/G1 期。棣酰胺诱导 HEL 细胞线粒体途径凋亡, 激活 HEL 细胞 mPTP 的开放, 降低了线粒体膜电位和 ATP 水平。以上结果说明, 棣酰胺改变了 HEL 细胞的线粒体功能, 从而抑制细胞增殖。

关键词: 棣酰胺; 急性粒细胞白血病; 线粒体通透性转换孔; 线粒体膜电位; 凋亡

中图分类号: R932 文献标识码: A

Effect of rocaglamide on mitochondria function in erythroleukemia cells

DENG Na^{1,2†}, GAO Yi-yan^{1,2†}, LI Jia-rui^{1,2},

ZHANG Yi^{1,2}, LI Jun-lan^{1,3,4}, ZHOU Jia-yu^{1,2}, SONG Jia-lei^{1,3,4*}

¹School of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine; ²School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine; ³The Key Laboratory of Molecular Biology, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine; ⁴Molecular Diagnosis Research Center, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

Abstract: This study aims to explore the effect of rocaglamide on mitochondria function in acute myeloid leukemia (AML) cell line HEL. MTT assay was used to determine the effect of rocaglamide on the proliferation of HEL cells. Cell cycle was analyzed by PI staining. Flow cytometry was used to detect the apoptotic rate of HEL cells. Western blot was used to detect mitochondrial apoptosis pathway related protein. The effect of rocaglamide on mitochondrial membrane permeability was analyzed by calcein method. JC-1 dye was used to detect the changes in mitochondrial membrane potential. Luciferase experiment was used to determine the effect of rocaglamide on ATP level. The results showed that rocaglamide inhibited the proliferation of HEL cells in a time- and concentration-dependent manner and arrested cell cycle of HEL cells at G0/G1 phase. Rocaglamide induced mitochondrial pathway apoptosis, activated the opening of the mPTP, and reduced the mitochondrial membrane potential of HEL cells as well as the ATP level. The above results indicated that rocaglamide remodeled the mitochondrial function of HEL cells, thereby inhibiting the proliferation of AML cells.

Key words: rocaglamide; acute myelogenous leukemia; mitochondrial permeability transition pore; mitochondrial membrane potential; apoptosis

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是一类髓系干细胞或祖细胞恶性克隆性血液肿瘤, 以骨髓和血液中非正常血细胞快速增殖并干扰正常血细胞功能为特点。AML

发展快速,若未得到及时治疗应对在数周或数月内便可致命,其在急性白血病中有最高发生率并且在血液疾病中有最高死亡率^[1]。据目前统计全球约100万人患有AML,患AML死亡人数超过10万^[2,3]。AML细胞中线粒体与正常细胞线粒体明显不同,AML发生常伴随着线粒体功能的改变,如:线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)突变、线粒体代谢酶缺陷、线粒体膜通透性改变或原癌基因/抑癌基因改变等^[4,5]。相比较于正常造血细胞,AML细胞中有高拷贝数的mtDNA和需要更多氧耗^[6]。近期有研究对癌症基因组图谱数据库中收集的200名AML患者进行了分析,显示8%的患者存在一种或多种线粒体呼吸链复合物基因突变^[7]。线粒体参与AML发病进程另一个证据支持是,AML病人中异柠檬酸脱氢酶基因常发生突变改变了线粒体代谢^[8]。AML通过改变线粒体功能使AML细胞凋亡耐受、化疗药物耐受或富有侵袭性,这成为肿瘤治疗方案失败的重要原因。线粒体靶向药物有巨大潜能成为有效的选择性抗肿瘤药物。

米仔兰是一种传统民间中药,为楝科植物米仔兰(*Aglaia odorata* Lour.)的枝叶,其药性味辛、性微温,具有祛风湿、散瘀肿的功效^[9]。《贵州中草药名录》记载米仔兰全省有栽培,枝、叶治跌打,痈疽^[10]。楝酰胺是来源于中药植物米仔兰枝叶的天然产物^[11]。楝酰胺具有抗白血病活性虽已有报道,然而其抗白血病的机制还不完全清楚,楝酰胺对AML细胞线粒体功能的影响缺乏足够探讨^[12]。本论文利用AML细胞HEL作为研究对象,阐明线粒体在楝酰胺抗AML细胞增殖中作用,以期为主线粒体靶向药物的研发提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

楝酰胺(纯度>98%,MCE公司);BCL-2抗体(美国Abcam公司,批号:ab32124);cleaved Caspase-9抗体(美国CST公司,批号:7237);cleaved Caspase-3抗体(美国CST公司,批号:9664);PARP1抗体(美国CST公司,批号:9532);cleaved PARP1抗体(美国CST公司,批号:5625);COX IV抗体(上海碧云天生物技术有限公司,批号:AC610)GAPDH抗体(杭州贤至生物科技有限公司,批号:AB-P-R001); β -actin抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:20536-1-AP);抗兔IgG二抗(美国CST公司,批号:5151P);胎牛血清(以色列Biological Industries公司,批号:04-001-1ACS);细胞凋亡检测试剂盒(美国BD Pharmingen公司,批号:2119964);线粒体膜电位检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号:C2006);线粒体通透性转换孔检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号:C2009S)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

AML细胞HEL由贵州省天然产物研究中心惠赠。37℃、5%CO₂下,并添加含5%胎牛血清的RPMI1640培养基培养。

1.2.2 MTT法测定细胞抑制率

以终浓度为 3.125、6.25、12.5、25、50、100 nmol/L 的 槲 砜 胺 作 用 于 HEL 细胞，0.1% 的 DMSO (0 nmol/L 槲 砜 胺) 作 为 对 照。分 别 于 0、1、2、3 d 测 定 570 nm 处 吸 光 值。抑 制 率 的 计 算 方 法：抑 制 率 = (对 照 组 OD 值 - 处 理 组 OD 值) / 对 照 组 OD 值 × 100%。

1.2.3 流式细胞技术测定细胞周期和细胞凋亡

以终浓度为 4、20、100 nmol/L 的 槲 砜 胺 处 理 HEL 细胞，0.1% 的 DMSO 作 为 对 照。HEL 细胞处理 1 d 后 进 行 细 胞 周 期 的 测 定，75% 乙 醇 固 定 后，37 °C 条 件 下，PI 染 液 染 色 30 min。HEL 细胞处理 2 d 后 进 行 细 胞 凋 亡 的 测 定，FITC-Annexin 和 PI 染 料 染 色 15 min。流 式 细 胞 仪 分 析 各 组 细 胞。

1.2.4 JC-1 法测定线粒体膜电位

采 用 不 同 浓 度 的 槲 砜 胺 作 用 于 HEL 细胞 2 d，加 入 JC-1 染 色 工 作 液，37 °C 条 件 下 染 色 20 min。收 集 细 胞，JC-1 染 色 缓 冲 液 洗 涤 并 重 悬 细 胞，流 式 细 胞 仪 检 测 线 粒 体 膜 电 位 变 化。

1.2.5 钙黄绿素法测定线粒体通透性转换孔

钙黄绿素法测定线粒体通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) 的 开 放 与 关 闭。加 槲 砜 胺 至 HEL 细胞，0.1% 的 DMSO 作 为 对 照，1 d 后 收 集 细 胞。氯 化 钴 荧 光 淬 灭 液 为 含 氯 化 钴 的 钙 黄 绿 素 乙 酰 甲 酯 (Calcein AM) 染 色 液，37 °C 避 光 染 色 30 min。检 测 缓 冲 液 洗 涤 并 重 悬 细 胞，流 式 细 胞 仪 检 测 和 分 析。实 验 设 置 离 子 霉 素 作 为 钙 黄 绿 素 阳 性 对 照，用 于 检 测 mPTP 的 开 放。未 经 槲 砜 胺 处 理 HEL 细胞 由 不 含 氯 化 钴 的 Calcein AM 染 色，作 为 钙 黄 绿 素 阴 性 对 照，用 于 检 测 mPTP 的 关 闭。

1.2.6 Western blot检测线粒体凋亡蛋白的表达

用 槲 砜 胺 处 理 HEL 细胞 1 d，RIPA 裂 解 液 提 取 HEL 细 胞 的 总 蛋 白。蛋 白 变 性 后，进 行 SDS-PAGE。湿 转 法 转 膜，免 疫 印 迹 反 应，参 照 文 献 进 行^[11]。

1.2.7 荧光素酶检测三磷酸腺苷水平

采 用 荧 光 素 酶 检 测 三 磷 酸 腺 苷 (adenosine triphosphate, ATP) 水 平，将 槲 砜 胺 作 用 于 HEL 细胞 2 d，ATP 检 测 裂 解 液 裂 解 细 胞。4 °C 12 000 g 离 心 5 min，取 少 量 上 清，用 于 蛋 白 浓 度 的 测 定，剩 余 上 清 用 于 ATP 浓 度 测 定。用 ATP 检 测 裂 解 液 稀 释 ATP 标 准 溶 液，检 测 设 置 为 0、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3 和 10 μmol/L 的 ATP 标 准 曲 线。取 20 μL 标 准 品 或 样 品，加 入 100 μL ATP 检 测 工 作 液 至 96 孔 板 中，测 定 荧 光 值。样 品 ATP 的 浓 度 以 nmol/mg 形 式 表 示。

1.2.8 统计分析处理

采 用 GraphPad Prism 9 绘 制 统 计 图，实 验 数 据 以 平 均 值 ± 标 准 偏 差 ($\bar{x} \pm s$) 的 形 式 表 示，采 用 *t* 检 验 进 行 组 间 均 值 比 较 和 统 计 分 析。*P* < 0.05 表 示 差 异 有 统 计 学 意 义。

2 实验结果

2.1 槲砜胺抑制AML细胞的增殖

用 不 同 浓 度 的 槲 砜 胺 处 理 HEL 细胞 1~3 d，MTT 法 测 定 细 胞 的 抑 制 率 和 IC₅₀。结 果 显 示，槲 砜 胺 在 HEL 细 胞 上 的 抑 制 率 随 作 用 浓 度 和 时 间 的 增 加 而 升 高。槲 砜 胺 在 HEL 细 胞 上

作用 3 d 的 IC_{50} 为 11.94 ± 1.10 nmol/L (见图 1A)。细胞周期测定发现, 如图 1B 所示, 与对照组 (0 nmol/L 槲酰胺) 相比, 槲酰胺 (20、100 nmol/L) 处理组, G0/G1 期细胞比例增加, S 期细胞比例明显减少。上述结果表明槲酰胺能够抑制 HEL 细胞增殖, 阻滞细胞周期于 G0/G1 期。

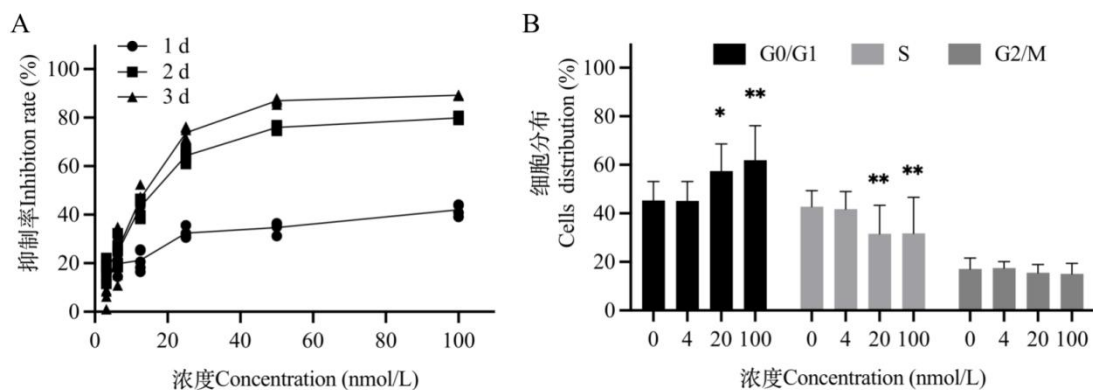


图 1 槲酰胺抑制 AML 细胞增殖 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Proliferation inhibition of rocaglamide on AML cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注: 与对照组 (0 nmol/L) 比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 下同。Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, the same below.

2.2 槲酰胺诱导 AML 细胞凋亡

流式细胞技术测定槲酰胺处理 HEL 细胞的凋亡变化。结果显示, 槲酰胺 (20、100 nmol/L) 处理组的凋亡细胞数目明显增加、活细胞数目明显下降, 且随着槲酰胺处理浓度的增加, 细胞的凋亡率逐渐上升、活细胞比例呈现下调趋势 (见图 2)。以上结果说明槲酰胺诱导 HEL 细胞发生凋亡。

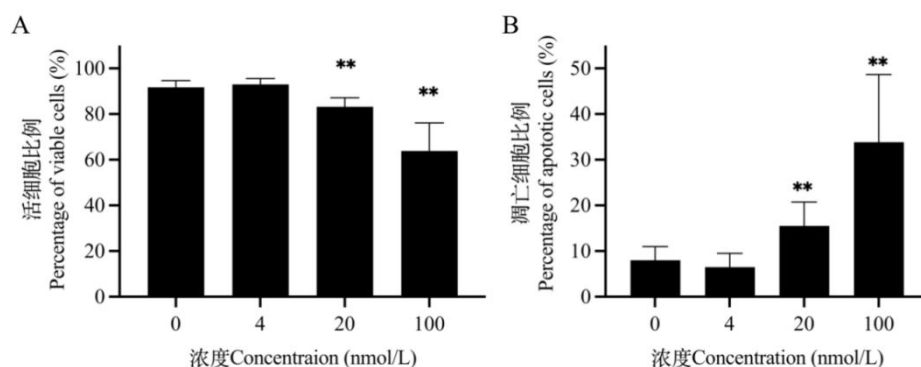


图 2 槲酰胺诱导 AML 细胞凋亡 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Apoptosis of AML cells induced by rocaglamide ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.3 槲酰胺对 AML 细胞线粒体凋亡蛋白的影响

Western blot 分析槲酰胺对 BCL-2、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3、PARP1、cleaved PARP1 蛋白表达水平的影响。实验结果发现, 与对照组相比, 槲酰胺处理组 BCL-2 和 PARP1 蛋白表达水平下调, 激活的 cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3、cleaved PARP1 蛋白表达水平上调。分离线粒体和细胞质测得线粒体细胞色素 c (cytochrome c, Cyt c) 下调, 细胞质 Cyt c 上调 (见图 3)。

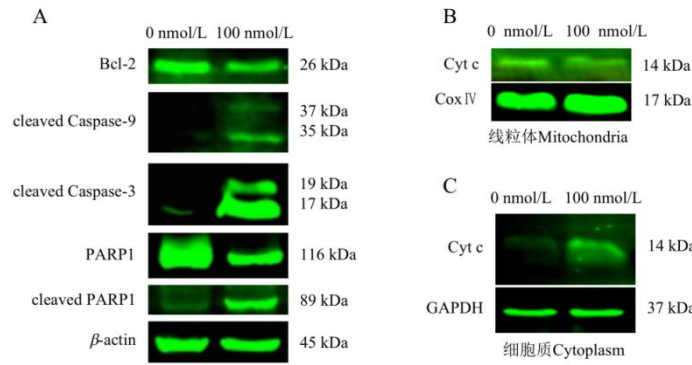


图3 槲酰胺对 AML 细胞线粒体凋亡蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of rocaglamide on mitochondria apoptosis associated protein in AML cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.4 槲酰胺对AML细胞线粒体膜电位的影响

以 4、20、100 nmol/L 浓度的槲酰胺处理 HEL 细胞 1 d 后，荧光探针 JC-1 测定细胞线粒体膜电位变化。线粒体膜电位较高时，JC-1 以聚合物形式聚集产生红色荧光；线粒体膜电位较低时，JC-1 以单体形式游离，产生绿色荧光^[13]。实验结果发现，槲酰胺处理组（20、100 nmol/L）较对照组 HEL 细胞，绿色荧光降低、红色荧光增加，即：JC-1 单体呈现下调、JC-1 聚合物呈现上调，表明 HEL 细胞线粒体膜电位降低。且随着槲酰胺处理浓度的增加，HEL 细胞线粒体膜电位呈现持续降低的趋势（见图 4）。

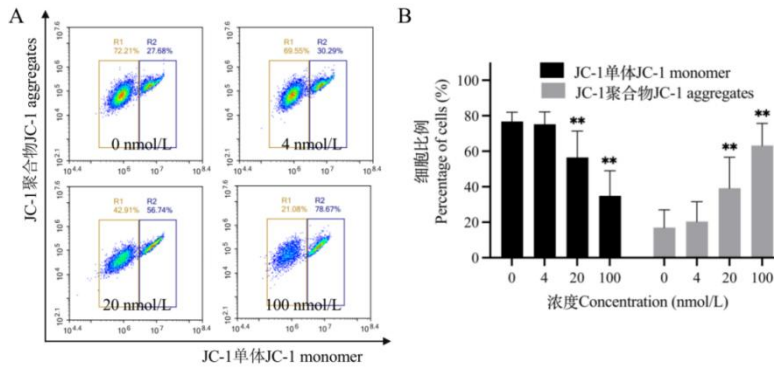


图4 槲酰胺对 AML 细胞线粒体膜电位的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of rocaglamide on mitochondrial membrane potential in AML cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.5 槲酰胺对AML细胞mPTP的影响

mPTP 是线粒体外膜和内膜的非特异性通道，允许大小高达 1.5 kDa 的分子的通过，在细胞死亡过程中参与线粒体内物质的释放^[14]。在细胞极度应激的条件下 mPTP 的开放是引起细胞死亡的关键事件，在细胞的生存和凋亡的调控过程中扮演着重要角色，同时 mPTP 在肿瘤发生发展中发挥重要作用^[15]。异常的 mPTP 开放导致线粒体膜电位的改变，引起凋亡因子由线粒体释放至细胞质中，诱发细胞死亡^[16]。实验以 4、20、100 nmol/L 浓度的槲酰胺处理 HEL 细胞 1 d 后，Calcein AM 染色测定细胞 mPTP 的变化。

Calcein AM 进入细胞中被水解呈现钙黄绿素绿色荧光。氯化钴可淬灭细胞质中钙黄绿素绿色荧光，然而 mPTP 关闭时，氯化钴不能进入线粒体，因此线粒体内呈现钙黄绿素绿色荧光；mPTP 开放时，氯化钴进入线粒体，淬灭线粒体中钙黄绿素绿色荧光。因此钙黄绿素

绿色荧光的强弱来判断线粒体 mPTP 开放的程度，绿色荧光越强，开放程度越低，反之，绿色荧光越弱开放程度越高。实验结果发现，与 0 nmol/L 的 榭酰胺对比发现，4、20 nmol/L 的 榭酰胺使得钙黄绿素绿色荧光阳性 HEL 细胞比例下调，而钙黄绿素阴性比例上调，表明 HEL 细胞线粒体 mPTP 呈现开放状态。100 nmol/L 的 榭酰胺处理 HEL 细胞线粒体 mPTP 并未明显呈现开放状态，可能与 mPTP 开关的动态性有关。离子霉素为诱导细胞外 Ca^{2+} 大量进入细胞内并导致 mPTP 开放的钙离子载体，离子霉素处理后钙黄绿素绿色荧光也随之下调，为钙黄绿素阴性对照。HEL 细胞经不含氯化钴的 Calcein AM 染色，呈现强绿色荧光，作为钙黄绿素阳性对照，绿色荧光上调（见图 5）。上述结果说明低浓度 榭酰胺激活 mPTP 开放。榭酰胺导致 mPTP 开放并降低线粒体电位和对线粒体凋亡蛋白的影响，说明 榭酰胺诱导 HEL 细胞发生线粒体途径凋亡。

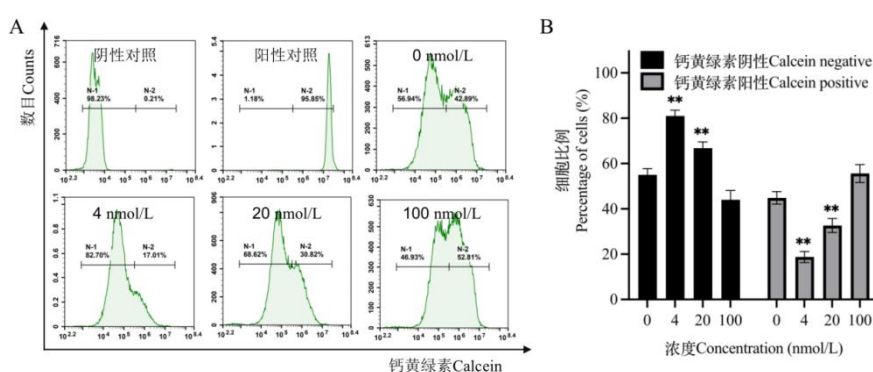


图 5 榭酰胺对 AML 细胞线粒体 mPTP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect of rocaglamide on mPTP in AML cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.6 榭酰胺对 AML 细胞 ATP 水平的影响

线粒体通过氧化磷酸化产生 ATP，被称为细胞的能量工厂。以 4、20、100 nmol/L 浓度的 榭酰胺处理 HEL 细胞 1 d 后，萤火虫荧光素酶检测细胞裂解液中 ATP 浓度。结果表明 4、20、100 nmol/L 浓度的 榭酰胺下调了 HEL 细胞的 ATP 水平（见图 6）。

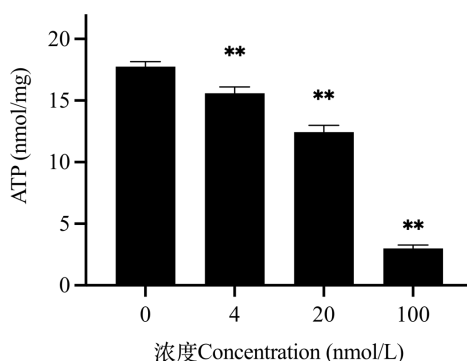


图 6 榭酰胺对 AML 细胞 ATP 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effect of rocaglamide on the level of ATP in AML cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3 讨论与结论

线粒体不仅是细胞的动力中心，也是细胞的武器库，在细胞新陈代谢、氧感应、在细

胞凋亡过程中发挥着重要作用^[17]。破坏线粒体参与的这些生理过程将引发肿瘤起始、生长、存活和转移^[18]。因而，恢复线粒体正常生理功能有助于抑制 AML 发展恶化。正常细胞与 AML 细胞线粒体功能的差异，为研发选择性靶向 AML 新型药物提供了重要的生物化学基础。

本文研究表明槲酰胺明显抑制了 AML 细胞的生长增殖并呈现时间和浓度依赖性。采用流式细胞技术检测和 Western blot 证明了槲酰胺诱导凋亡，并通过调节线粒体途径对细胞凋亡发挥作用。细胞的内在凋亡途径直接涉及线粒体，氧化应激、DNA 损伤、胞质高钙浓度和癌基因激活，可能会启动线粒体凋亡途径。该通路总体上由 BCL-2 家族蛋白介导调节，该家族蛋白分为两大类：促凋亡（例如 BAX、BAK、PUMA）和抗凋亡（例如 BCL-2、BCL-XL、MCL-1）蛋白^[19]。BCL-2 家族密切参与了 Cyt c 穿过线粒体外膜的过程。BCL-2 家族的促凋亡成员，通过增加线粒体的通透性，促进线粒体 Cyt c 的释放，并激活 Caspase-9 和下游 Caspase-3，最终诱导细胞凋亡。与之相反，BCL-2 家族的抗凋亡成员抑制细胞凋亡。与正常样本或完全缓解的 AML 患者相比，BCL-2 等抗凋亡蛋白在不同类型的白血病恶性肿瘤中显著上调，特别是在晚期骨髓增生异常综合征和新诊断的 AML 中^[20]。现今已有特异性 BCL-2 抑制剂 venetoclax（ABT-199）用于治疗 17p 缺失的复发性慢性淋巴细胞白血病（CLL）和 AML^[20]。

Cyt c 是由线粒体隔离的一种重要有效的促凋亡蛋白^[21]。过去几年的研究表明，Cyt c 是除了参与线粒体氧化磷酸化的电子传递体之外，还是激活细胞质 Caspase-9 所需的成分之一。研究发现向分离的线粒体中添加促凋亡 BCL-2 家族成员诱导 Cyt c 释放，而 BCL-2 家族促凋亡成员的过度表达会阻止这种情况的发生^[22, 23]。Caspase 抑制剂通常能够恢复细胞的凋亡^[24, 25]。Caspase-3 和 Caspase-9 敲除小鼠在发育过程中神经元凋亡减少，并且损伤后细胞凋亡表现出显著缺陷^[26, 27]。在本研究中，流式细胞检测槲酰胺促进 AML 细胞凋亡，分析槲酰胺对线粒体凋亡相关蛋白质表达水平的影响发现，槲酰胺抑制促凋亡蛋白 BCL-2 的表达、增加细胞质 Cyt c 和 cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3 的表达水平。由此说明槲酰胺诱发 AML 细胞线粒体途径凋亡。

确认槲酰胺诱导急性髓系白血病细胞凋亡后，进一步地分析槲酰胺对线粒体 mPTP、线粒体膜电位的影响。mPTP 对细胞存活和凋亡有非常重要作用。在健康的细胞中，线粒体内膜可维持正常的线粒体膜电位梯度以保证细胞呼吸及能量供应。但在细胞凋亡或死亡的过程中，mPTP 的开放显著改变了线粒体的通透性。持续的 mPTP 开放，导致 Ca^{2+} 过载、线粒体氧化型谷胱甘肽、线粒体中活性氧水平升高，最终导致 Cyt c 的释放及线粒体膜电位降低和消失^[28]。在本研究中，槲酰胺激活 mPTP 开放、导致 HEL 细胞线粒体膜电位下降。

总之，槲酰胺在线粒体凋亡途径、mPTP、线粒体膜电位等方面影响线粒体，从而抑制 AML 细胞增殖，为槲酰胺抗 AML 细胞活性机制的阐明和线粒体靶向药物的研发提供研究基础。

参考文献

- 1 Lin M,Chen B.Advances in the drug therapies of acute myeloid leukemia(except acute wpromyelocytic leukemia)[J].Drug Des Devel Ther,2018,12:1009-1017.
- 2 Disease GBD,Injury I,Prevalence C.Global,regional,and national incidence,prevalence,and years lived with disability for 310 diseases and injuries,1990-2015:a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015[J].Lancet,2016,388:1545-1602.
- 3 Mortality GBD,Causes of Death C.Global,regional,and national life expectancy,all-cause mortality,and cause-specific mortality for 249 causes of death,1980-2015:a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015[J].Lancet,2016,388:1459-1544.
- 4 Ichim G,Lopez J,Ahmed SU,et al.Limited mitochondrial permeabilization causes DNA damage and genomic instability in the absence of cell death[J].Mol Cell,2015,57:860-872.
- 5 Lopez J,Tait SW.Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within[J].Br J Cancer,2015,112:957-962.
- 6 Liyanage SU,Hurren R,Voisin V,et al.Leveraging increased cytoplasmic nucleoside kinase activity to target mtDNA and oxidative phosphorylation in AML[J].Blood,2017,129:2657-2666.
- 7 Wu S,Akhtari M,Alachkar H.Characterization of mutations in the mitochondrial encoded electron transport chain complexes in acute myeloid leukemia[J].Sci Rep,2018,8:13301.
- 8 Issa GC,DiNardo CD.Acute myeloid leukemia with IDH1 and IDH2 mutations: 2021 treatment algorithm[J].Blood Cancer J,2021,11:107.
- 9 Hu XM,Zhang WK,Zhu QS,et al.Chinese Materia Medica(中华本草)[M].Shanghai:Shanghai Scientific and Technical Publishers,1999:3856-3857.
- 10 Chen DY,Chen JM,Yang JZ,et al.Chinese Herbal Medicine in Guizhou(贵州中草药名录)[M].Guiyang:Guizhou:People's Publishing House,1988:287-288.
- 11 Song JL,Yuan CM,Yang J,et al.Novel flavagline-like compounds with potent Fli-1 inhibitory activity suppress diverse types of leukemia[J].FEBS J,2018,285:4631-4645.
- 12 Zeng LZ,Wang CL,Liu WL,et al.Rocaglamide inhibits the proliferation of chronic myelogenous leukemia cells partly via aerobic glycolysis[J].NAT PRO RES DEV(天然产物研究与开发),2024,36:804-810.
- 13 Lin J,Wu G,Chen J,et al.Electroacupuncture inhibits sodium nitroprusside-mediated chondrocyte apoptosis through the mitochondrial pathway[J].Mol Med Rep,2018,18:4922-4930.

- 14 Petronilli V, Penzo D, Scorrano L, et al. The mitochondrial permeability transition, release of cytochrome c and cell death. Correlation with the duration of pore openings *in situ*[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276:12030-12034.
- 15 Rasola A, Bernardi P. The mitochondrial permeability transition pore and its involvement in cell death and in disease pathogenesis[J]. *Apoptosis*, 2007, 12:815-833.
- 16 Berridge MV, Herst PM, Lawen A. Targeting mitochondrial permeability in cancer drug development[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2009, 53:76-86.
- 17 Cao JJ, Tan CP, Chen MH, et al. Targeting cancer cell metabolism with mitochondria-immobilized phosphorescent cyclometalated iridium(III) complexes[J]. *Chem Sci*, 2017, 8:631-640.
- 18 Armstrong JS. Mitochondrial medicine: pharmacological targeting of mitochondria in disease[J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 151:1154-1165.
- 19 Youle RJ, Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9:47-59.
- 20 Zhou JD, Zhang TJ, Xu ZJ, et al. BCL2 overexpression: clinical implication and biological insights in acute myeloid leukemia[J]. *Diagn Pathol*, 2019, 14:68.
- 21 Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/Caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade[J]. *Cell*, 1997, 91:479-489.
- 22 Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival[J]. *Science*, 1998, 281:1322-1326.
- 23 Antonsson B, Martinou JC. The Bcl-2 protein family[J]. *Exp Cell Res*, 2000, 256:50-57.
- 24 Nicholson DW. ICE/CED3-like proteases as therapeutic targets for the control of inappropriate apoptosis[J]. *Nat Biotechnol*, 1996, 14:297-301.
- 25 Robertson GS, Crocker SJ, Nicholson DW, et al. Neuroprotection by the inhibition of apoptosis[J]. *Brain Pathol*, 2000, 10:283-292.
- 26 Wang J, Lenardo MJ. Roles of caspases in apoptosis, development, and cytokine maturation revealed by homozygous gene deficiencies[J]. *J Cell Sci*, 2000, 113:753-757.
- 27 Zheng TS, Hunot S, Kuida K, et al. Caspase knockouts: matters of life and death[J]. *Cell Death Differ*, 1999, 6:1043-1053.
- 28 Saotome M, Katoh H, Satoh H, et al. Mitochondrial membrane potential modulates regulation of mitochondrial Ca^{2+} in rat ventricular myocytes[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288:H1820-1828.

收稿日期: 2024-05-13

接受日期:

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(82260854); 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2022]一般 485);
贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合 KY 字[2022]267 号); 大学生创新创业训练计划项目
(2022001244050)

†共同第一作者

*通信作者 Tel: 18685001652; E-mail: jialei_song@163.com