

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.04.007
文章编号: 1005-8982 (2023) 04-0033-06

实验研究·论著

氯化两面针碱促进骨髓瘤细胞凋亡的机制研究*

罗曼¹, 古学奎¹, 蓝海²

(1. 广州中医药大学第一附属医院 血液科, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学
顺德医院 血液科, 广东 佛山 528300)

摘要: 目的 探究氯化两面针碱促进骨髓瘤细胞凋亡的机制。**方法** 将人多发性骨髓瘤(MM)细胞株 RPMI 8226 培养至对数生长期, 采用 CCK-8 法检测细胞活性并测定半数抑制浓度(IC₅₀)。将 MM 细胞株 RPMI 8226 随机分为空白组、硼替佐米(BTZ)组、氯化两面针碱(NCe)组和 BTZ+NCE 组。BTZ 组加入 500 μL 10 nmol/L BTZ 溶液, 参照 IC₅₀ 在 NCE 组加入 500 μL 4.5 μmol/L NCE, BTZ+NCE 组加入 250 μL 10 nmol/L BTZ 和 250 μL 4.5 μmol/L NCE, 继续培养 24 h。采用流式细胞术检测各组细胞凋亡情况, 实时荧光定量聚合酶链反应、Western blotting 检测各组细胞 STK4、YAP1、Cl-caspase-3 mRNA 和蛋白的表达。**结果** 与空白孔相比, 其余各孔的细胞存活率均降低($P < 0.05$); 与 0 μmol/L NCE 孔比较, 1 μmol/L、2 μmol/L、4 μmol/L、8 μmol/L NCE 孔的细胞存活率均降低($P < 0.05$)。孵育 24 h 的 IC₅₀ 为 (4.56 ± 0.64) μmol/L。与空白组比较, BTZ 组、NCE 组及 BTZ+NCE 组细胞凋亡率升高($P < 0.05$)。与空白组比较, BTZ 组、NCE 组及 BTZ+NCE 组 STK4 mRNA 和蛋白相对表达量降低($P < 0.05$), YAP1 和 Cl-caspase-3 mRNA 和蛋白相对表达量升高($P < 0.05$)。**结论** 氯化两面针碱可以抑制骨髓瘤细胞增殖, 促进其凋亡, 该作用可能通过抑制 STK4/YAP1 通路来实现。

关键词: 骨髓瘤; 氯化两面针碱; 细胞凋亡; 细胞增殖; 体外研究

中图分类号: R733.3

文献标识码: A

Mechanism of nitidine chloride on promoting apoptosis of myeloma cells*

Luo Man¹, Gu Xue-kui¹, Lan Hai²

(1. Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China; 2. Department of Hematology, Shunde Hospital, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Foshan, Guangdong 528300, China)

Abstract: Objective To explore the mechanism of nitidine chloride on promoting apoptosis of myeloma cells. **Methods** Multiple myeloma (MM) cell lines RPMI 8226 were cultured to the logarithmic phase, and the cell viability and the half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) were detected via the CCK8 assay. RPMI 8226 cells were randomly divided into blank group, bortezomib (BTZ) group, nitidine chloride (NCE) group and BTZ + NCE group. The cells in the BTZ group, Nce group and the BTZ + NCE group were then cultured for another 24 hours in the presence of 500 μL 10 nmol/L of BTZ, 500 μL 4.5 μmol/L of NCE according to the IC₅₀, and 250 μL 10 nmol/L of BTZ plus 250 μL 4.5 μmol/L of NCE, respectively. Annexin V-FITC/PI double labeling was performed to measure the cell apoptosis, while quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blotting were applied to detect the relative mRNA and protein expressions of STK4, YAP1, and Cl-caspase-

收稿日期: 2022-08-29

* 基金项目: 广东省中医药管理局科研项目(No: 20211137)

[通信作者] 蓝海, E-mail: 13711782243@163.com; Tel: 13711782243

3 in each group, respectively. **Results** Compared with the blank wells, the cell survival rates of other wells decreased ($P < 0.05$). Compared with the wells without NCe, the cell survival rates of wells with 1 $\mu\text{mol/L}$, 2 $\mu\text{mol/L}$, 4 $\mu\text{mol/L}$ and 8 $\mu\text{mol/L}$ of NCe also decreased ($P < 0.05$), and the IC_{50} at 24 h of culture was $(4.56 \pm 0.64) \mu\text{mol/L}$. Compared with the blank group, the apoptosis rates were higher, the relative mRNA and protein expressions of STK4 were lower ($P < 0.05$), and the relative mRNA and protein expressions of YAP1 and Cl-caspase-3 were higher in the BTZ group, NCe group and BTZ + NCe group ($P < 0.05$). **Conclusions** Nitidine chloride can inhibit the proliferation of myeloma cells and promote their apoptosis, which may be achieved by regulating the STK4/YAP1 pathway.

Keywords: myeloma; nitidine chloride; apoptosis; cell proliferation; in vitro study

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种发生于骨髓的、由多灶性单克隆性浆细胞增生形成的肿瘤,患者易发生贫血、溶骨性病变、肾衰竭及高钙血症^[1]。MM年发病率达0.4%,是病死率较高的恶性血液疾病^[2]。MM无法彻底治愈,随着病程发展还会不断出现复杂的基因突变等,因此治疗存在诸多困难^[3]。目前临床治疗MM主要以硼替佐米(Bortezomib, BTZ)等蛋白酶体抑制剂和来那度胺等免疫调节剂为主,但治疗后期耐药性增加导致疗效欠佳^[4]。近年来,虽然肿瘤细胞免疫治疗(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)技术、造血干细胞移植技术不断发展,但临床上仍只有约57% MM患者生存期>6年^[5]。因此急需寻找新的靶向治疗药物提高MM患者生存时间和生存质量。

中医认为MM属于“骨痹”“骨蚀”范畴,由肾阳虚导致精血亏损、骨骼失荣。因此中医治疗MM主张活血化瘀、补肾养精^[6]。中药两面针具有活血化瘀的功效,氯化两面针碱(nitidine chloride, NCe)是其主要生物活性的生物碱^[7]。现代药理学研究表明,NCe具有抗癌、抗炎、抗氧化等作用^[8]。广东省第二人民医院还开发了NCe作为抗MM的新药物用途^[9]。但目前为止,NCe促进MM凋亡的机制尚不明确。本研究以人MM细胞株RPMI 8226为研究对象,探究NCe促进其凋亡的机制,以期为临床治疗MM提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞来源、主要试剂与仪器

1.1.1 细胞来源 人MM细胞株RPMI 8226购自中国科学院细胞库。将细胞在含20% FBS、100 u/mL青霉素、100 u/mL链霉素和2 mmol/L谷氨酰胺的RPMI 1640培养基中培养,二氧化碳培养箱参数设置为

37 $^{\circ}\text{C}$ 、95%湿度、5%二氧化碳 CO_2 。隔天换液并传代1次。

1.1.2 主要试剂 氯化两面针碱(5 mg,纯度96.59%,产品编号T5S0761)、硼替佐米(5 mg,纯度100.00%,产品编号T2399)、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)(100 mL,纯度99%,产品编号T0341)购自上海陶素生化科技有限公司,PBS(货号:12483020)、IMDM培养基(货号:12440500)购自美国Gibco公司,Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒(货号:C0038,上海碧云天生物科技有限公司),Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒(货号:40302ES20,上海翌圣生物科技有限公司),MTT细胞增殖试剂盒(货号:M1020,北京索莱宝科技有限公司),MolPure[®] Cell RNA Kit培养细胞RNA提取试剂盒(货号:19231ES08)、Hifair[®] III One Step qRT-PCR SYBR Green Kit一步法逆转录定量试剂盒(货号:11143ES50)、RIPA lysis buffer RIPA裂解液(货号:2010ES60)购自上海翌圣生物科技有限公司,丝氨酸/苏氨酸激酶4(serine/threonine kinase 4, STK4)、Yes 关联蛋白1(Yes-associated protein 1, YAP1)、切割半胱氨酸蛋白酶-3(Cleaved-caspase-3, Cl-caspase-3)兔抗人一抗、HRP标记山羊抗兔二抗购自美国CST公司。

1.1.3 主要仪器 C170二氧化碳细胞培养箱(德国Eppendorf公司),CytoFLEX流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司),DNM-9606酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司),Countess全自动细胞计数仪、E-Gel Imager凝胶成像仪购自美国赛默飞世尔公司,QuantStudio 5实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪(美国ABI公司)。

1.2 CCK-8法检测细胞活性

取对数生长期的MM细胞1 000 r/min离心

5 min,弃上清液,PBS溶液清洗1遍。无血清培养液重悬细胞,加入96孔板中,每孔100 μL (2×10^3 个/孔),置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%二氧化碳培养箱中继续培养12 h。分别加入0 $\mu\text{mol/L}$ 、1 $\mu\text{mol/L}$ 、2 $\mu\text{mol/L}$ 、4 $\mu\text{mol/L}$ 、8 $\mu\text{mol/L}$ NCe溶液50 μL ,10 nmol/L BTZ溶液50 μL ,每个浓度设置4个复孔,放回培养箱培养24 h后加入10 μL 5 mg/mL的CCK-8溶液。设置调零孔(仅加入等体积培养液、DMSO和CCK-8溶液)和空白孔(加入等量细胞、DMSO和CCK-8溶液)。置于培养箱继续孵育1 h,用酶标仪测定各孔450 nm处光密度(optical density, OD)。计算细胞存活率=(实验孔OD值-调零孔OD值)/(空白孔OD值-调零孔OD值) $\times 100\%$,并根据细胞存活率计算半数抑制浓度(half-maximal inhibitory concentration, IC_{50})值。

1.3 细胞分组

取对数生长期的MM细胞,随机分为空白组、BTZ组、NCe组和BTZ+NCe组,在6孔培养板中接种细胞,每组接种的细胞密度为 2×10^5 个/孔,设置4个复孔。BTZ组加入500 μL 10 nmol/L BTZ溶液,参照 IC_{50} 在NCe组加入500 μL 4.5 $\mu\text{mol/L}$ NCe,BTZ+NCe组加入250 μL 10 nmol/L BTZ和250 μL 4.5 $\mu\text{mol/L}$ NCe。置于培养箱中24 h备用。

1.4 流式细胞术检测细胞凋亡

取1.3中分组细胞1 000 r/min离心5 min,收集细胞,PBS洗涤2次,1 000 r/min离心5 min后弃去PBS,加入100 μL $1 \times$ Binding Buffer重悬细胞。加入5 μL Annexin V-FITC和10 μL PI Staining Solution轻摇混匀。避光、室温下反应15 min。加入400 μL $1 \times$ Binding Buffer,混匀后采用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.5 qRT-PCR检测细胞STK4、YAP1、Cl-caspase-3 mRNA的表达

取1.3中分组细胞1 000 r/min离心5 min,收集细胞,采用RNA提取试剂盒提取细胞中总RNA,一步法逆转录定量试剂盒与引物(引物序列见表1)在42 $^{\circ}\text{C}$ 、10 min条件下逆转录,并在qRT-PCR仪中扩增定量。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性10 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸2 min,共30个循环。以 β -actin为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因相对表达量。

表1 qRT-PCR引物序列

基因名称	引物序列	引物长度/bp
STK4	正向: 5'-GGCAATAGACATTAGA-3'	517
	反向: 5'-CAATAGGACATAGACAT-3'	
YAP1	正向: 5'-CAATAGACATAGACCA-3'	431
	反向: 5'-ATAGACATAGACATAG-3'	
Cl-caspase-3	正向: 5'-GCATTAGACATAGGAA-3'	160
	反向: 5'-TGACATAGCATATACCG-3'	
β -actin	正向: 5'-CGATTAGACCAGATTCAG-3'	22
	反向: 5'-CCCATAGTTAGCATAGAA-3'	

1.6 Western blotting检测细胞STK4、YAP1、Cl-caspase-3蛋白的表达

取1.3中分组细胞1 000 r/min离心5 min,收集细胞,PBS溶液洗涤1次,加入200 μL RIPA裂解液混匀,充分裂解后12 000 r/min离心5 min,取上清液,采用BCA试剂盒测定蛋白浓度。测定浓度后进行SDS-PAGE凝胶电泳,待溴酚蓝指示带跑出后停止。转膜、封闭(5%脱脂奶粉)、一抗过夜孵育(1:1 000稀释)、二抗孵育1 h(1:500稀释),最后用TBST溶液洗膜,加入ECL化学发光剂中显色。在凝胶成像仪中观察目的蛋白条带,以 β -actin为内参蛋白计算蛋白相对表达量。

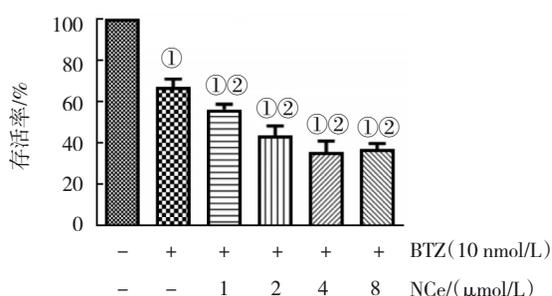
1.7 统计学方法

数据分析采用SPSS 21.0统计软件。计量资料均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用方差分析,两两比较用LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各孔细胞存活率比较

空白孔及0 $\mu\text{mol/L}$ 、1 $\mu\text{mol/L}$ 、2 $\mu\text{mol/L}$ 、4 $\mu\text{mol/L}$ 、8 $\mu\text{mol/L}$ NCe孔的细胞存活率分别为(99.96 \pm 0.02)%、(67.93 \pm 5.72)%、(58.37 \pm 4.62)%、(43.85 \pm 4.62)%、(37.94 \pm 3.80)%和(40.67 \pm 3.54)%。经方差分析,差异有统计学意义($F = 148.097$, $P = 0.000$)。与空白孔相比,其余各孔细胞存活率均降低($P < 0.05$);与0 $\mu\text{mol/L}$ NCe孔相比,1 $\mu\text{mol/L}$ 、2 $\mu\text{mol/L}$ 、4 $\mu\text{mol/L}$ 、8 $\mu\text{mol/L}$ NCe孔的细胞存活率均降低($P < 0.05$)。孵育24 h的 IC_{50} 为(4.56 \pm 0.64) $\mu\text{mol/L}$ 。见图1、2。



①与空孔比较, $P < 0.05$; ②与 0 $\mu\text{mol/L}$ Nce 孔比较, $P < 0.05$ 。

图 1 不同浓度 Nce 孔 MM 细胞存活率比较

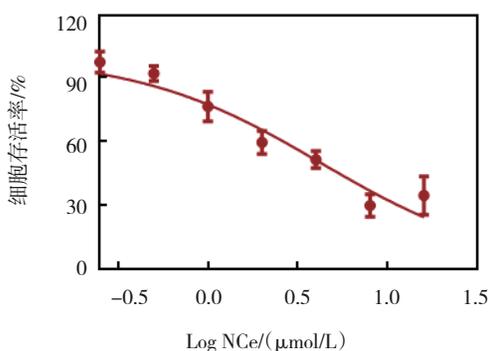


图 2 Nce 的量-效关系曲线

2.2 各组细胞凋亡率比较

空白组、BTZ 组、Nce 组及 BTZ+Nce 组的细胞凋亡率分别为 $(3.14 \pm 0.81)\%$ 、 $(18.21 \pm 2.38)\%$ 、 $(8.31 \pm 1.02)\%$ 和 $(31.07 \pm 3.31)\%$, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 115.384, P = 0.000$)。与空白组相比, BTZ 组、Nce 组及 BTZ+Nce 组细胞凋亡率升高 ($P < 0.05$)。见图 3。

2.3 各组细胞 STK4、YAP1、Cl-caspase-3 mRNA 相对表达量比较

空白组、BTZ 组、Nce 组及 BTZ+Nce 组细胞 STK4、YAP1、Cl-caspase-3 mRNA 相对表达量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白组比较, BTZ 组、Nce 组及 BTZ+Nce 组 STK4

mRNA 相对表达量降低 ($P < 0.05$), YAP1 和 Cl-caspase-3 mRNA 相对表达量升高 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组 STK4、YAP1、Cl-caspase-3 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	STK4 mRNA	YAP1 mRNA	Cl-caspase-3 mRNA
空白组	0.81 ± 0.16	0.13 ± 0.05	0.09 ± 0.01
BTZ 组	$0.33 \pm 0.09^\dagger$	$0.58 \pm 0.12^\dagger$	$0.41 \pm 0.13^\dagger$
Nce 组	$0.57 \pm 0.11^\dagger$	$0.39 \pm 0.07^\dagger$	$0.38 \pm 0.07^\dagger$
BTZ + Nce 组	$0.11 \pm 0.02^\dagger$	$1.17 \pm 0.21^\dagger$	$0.98 \pm 0.15^\dagger$
F 值	31.619	47.431	49.982
P 值	0.000	0.000	0.000

注: †与空白组比较, $P < 0.05$ 。

2.4 各组细胞 STK4、YAP1、Cl-caspase-3 蛋白相对表达量比较

空白组、BTZ 组、Nce 组及 BTZ+Nce 组细胞 STK4、YAP1、Cl-caspase-3 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白组相比, BTZ 组、Nce 组及 BTZ+Nce 组 STK4 蛋白相对表达量降低 ($P < 0.05$), YAP1 和 Cl-caspase-3 蛋白相对表达量升高 ($P < 0.05$)。见表 3 和图 4。

表 3 各组细胞 STK4、YAP1、Cl-caspase-3 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	STK4 蛋白	YAP1 蛋白	Cl-caspase-3 蛋白
空白组	0.53 ± 0.11	0.09 ± 0.01	0.05 ± 0.00
BTZ 组	$0.12 \pm 0.02^\dagger$	$0.31 \pm 0.03^\dagger$	$0.29 \pm 0.02^\dagger$
Nce 组	$0.24 \pm 0.03^\dagger$	$0.16 \pm 0.01^\dagger$	$0.11 \pm 0.01^\dagger$
BTZ + Nce 组	$0.07 \pm 0.00^\dagger$	$0.91 \pm 0.14^\dagger$	$0.74 \pm 0.10^\dagger$
F 值	50.706	107.614	148.457
P 值	0.000	0.000	0.000

注: †与空白组比较, $P < 0.05$ 。

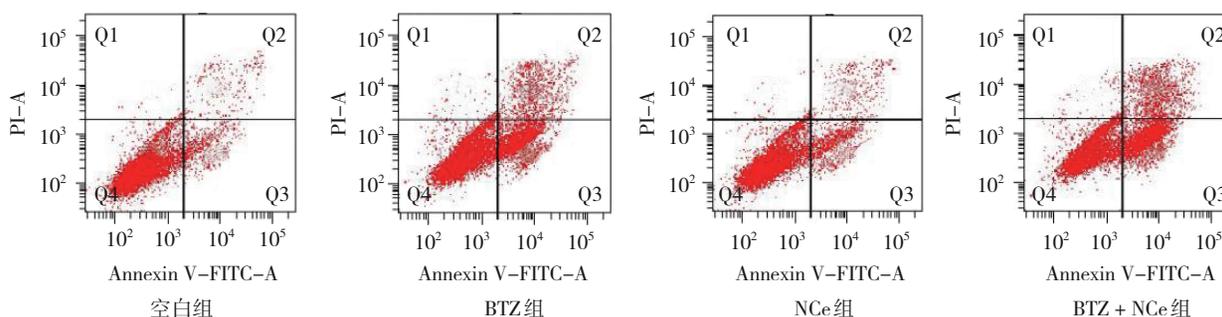
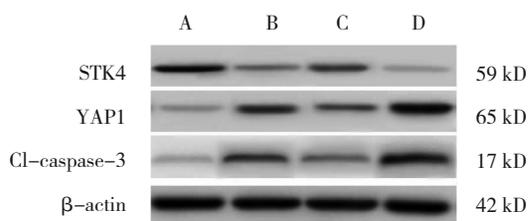


图 3 各组细胞的流式细胞图



A:空白组; B:BTZ组; C:NcE组; D:BTZ+NcE组。

图4 各组细胞STK4、YAP1、Cl-caspase-3蛋白的表达

3 讨论

MM是一种异质性疾病,多见于老年群体,并且随着人口老龄化加剧其发病率逐年上升。MM早期可无明显症状,后期逐渐出现骨痛、贫血、肾功能损害等^[10]。目前临床上主要以药物治疗和造血干细胞移植为主,但都不能大幅延长患者的生存时间,并且药物治疗后期还会出现耐药^[11]。中医古籍对MM并无记载,但根据其临床症状将其归为“骨痹”“骨蚀”“虚劳”等症的范畴^[12]。众多学者对MM的中医病机进行探讨,认为MM主要由机体阴阳失调、痰瘀阻滞、肾虚血瘀导致,而肾主骨髓,肾虚而致骨髓失养、邪伏骨髓^[13]。故治疗MM应以活血化瘀、滋肾养精为主。两面针属芸香目芸香科植物,其根、茎、叶均可入药,具有活血化瘀、解毒消肿、祛风通络的功效。NcE是两面针的主要活性物质,现代药理学研究发现其具有抗癌、抗炎等作用^[14]。并且近年来大量关于NcE具有促进癌细胞凋亡的研究相继报道^[15-16],还有NcE抗MM的专利^[9]。但目前为止,鲜有关于NcE促进MM细胞凋亡机制的报道。

既往研究显示,BTZ对MM 24 h的 IC_{50} 为10 nmol/L^[17],因此本研究采用10 nmol/L BTZ进行后续研究。在本研究中,与空白孔相比,其余添加了BTZ与不同浓度NcE孔的细胞存活率均降低,提示NcE有抑制细胞活性的作用,并且与BTZ协同作用可以增强抑制效果。与袁翠林等^[18]研究显示,NcE可以抑制食管癌细胞增殖,且随着NcE浓度升高抑制作用愈加显著。本研究中,与空白组相比,BTZ组、NcE组及BTZ+NcE组细胞凋亡率升高,提示NcE可以促进MM细胞凋亡,且与BTZ有协同作用。BTZ属蛋白酶体抑制剂,主要用于治疗MM和套细胞淋巴瘤。但随着其使用时间的增加,MM患者后期大多产生BTZ耐药性^[19]。但在本研究中,BTZ与NcE联合作用于MM细胞后,可以更好地降低MM细胞

的存活率,抑制其增殖。并且BTZ+NcE组凋亡率显著高于BTZ组和NcE组,说明NcE不仅可以促进细胞凋亡,还与BTZ有协同作用。

本研究结果显示,与空白组相比,BTZ组、NcE组及BTZ+NcE组STK4 mRNA和蛋白相对表达量降低,YAP1、Cl-caspase-3 mRNA和蛋白的相对表达量升高,说明NcE可以调节STK4/YAP1通路,激活Caspase-3促进MM细胞凋亡。袁翠林等^[18]研究结果也表明NcE可以上调食管癌细胞Cl-caspase-3蛋白的表达。Hippo通路是在果蝇中最早发现的,其主要通过STK4来调节下游YAP1,以控制细胞增殖和凋亡。YAP1在众多肿瘤细胞的表达显著高于正常细胞^[20]。但与其他肿瘤细胞不同的是,基因表达谱分析显示MM细胞中YAP1被下调^[21]。有研究显示,MM患者的预后与YAP1水平呈正相关^[22]。因此在MM等其他血液系统相关的恶性肿瘤中,YAP1或与抑瘤作用有关^[23]。

综上所述,氯化两面针碱可以抑制MM细胞增殖,促进MM细胞凋亡,并且该作用可能通过调节STK4/YAP1通路实现。

参 考 文 献 :

- [1] 王婧,商京晶,金松,等.伊沙佐米全口服方案治疗复发难治多发性骨髓瘤的疗效分析[J].中华内科杂志,2022,61(1):95-98.
- [2] Medical Masterclass contributors, FIRTH J. Haematology: multiple myeloma[J]. Clin Med (Lond), 2019, 19(1): 58-60.
- [3] 中国抗癌协会骨肿瘤和骨转移瘤专业委员会.多发性骨髓瘤骨病外科治疗专家共识(2022版)[J].中国肿瘤临床,2022,49(13):649-659.
- [4] 徐彪,冉启杰,李菁媛,等.硼替佐米治疗多发性骨髓瘤效果和安全性随机对照试验Meta分析[J].华南国防医学杂志,2020,34(2):141-145.
- [5] SHINDE P, MELINKERI S, SANTRA M K, et al. Autologous hematopoietic stem cells are a preferred source to generate dendritic cells for immunotherapy in multiple myeloma patients[J]. Front Immunol, 2019, 10: 1079.
- [6] 朱星昊,苗明三,陈亚楠,等.基于文献数据分析探讨中医药治疗多发性骨髓瘤用药规律[J].中国医院药学杂志,2020,40(14):1521-1527.
- [7] 陆国寿,蒋珍藕,黄周锋,等.两面针果壳的化学成分分析及活性[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(11):154-160.
- [8] 董涛,吴倩.氯化两面针碱体外对人喉癌Hep-2细胞增殖、凋亡、侵袭及迁移的影响[J].中国医药导报,2019,16(16):17-20.
- [9] 广东省第二人民医院(广东省卫生应急医院).氯化两面针碱的药物新用途:CN202110142735.8[P].2021-4-30.

- [10] JAGOSKY M H, USMANI S Z. Extramedullary disease in multiple myeloma[J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2020, 15(2): 62-71.
- [11] PAWLYN C, DAVIES F E. Toward personalized treatment in multiple myeloma based on molecular characteristics[J]. *Blood*, 2019, 133(7): 660-675.
- [12] 余莹, 程健, 胡玲. 多发性骨髓瘤骨髓微环境"肾虚"本质的探讨与思考[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(1): 267-273.
- [13] 中国医药教育协会血液学专业委员会, 中国中西医结合学会血液学专业委员会骨髓瘤专家委员会. 多发性骨髓瘤中西医结合诊疗专家共识(2019)[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(28): 2169-2175.
- [14] 贾茗博, 孙莹, 王莹, 等. 氯化两面针碱通过 JAK2/STAT3 信号通路对胶质瘤细胞上皮-间质转化的抑制作用[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2021, 47(1): 73-81.
- [15] YANG X G, JIANG B W, JING Q Q, et al. Nitidine chloride induces S phase cell cycle arrest and mitochondria-dependent apoptosis in HaCaT cells and ameliorates skin lesions in psoriasis-like mouse models[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 863: 172680.
- [16] HUANG X, HU M C, LI K J, et al. Nitidine chloride efficiently induces autophagy and apoptosis in melanoma cells via AMPK-mTOR signaling pathway[J]. *Pharmazie*, 2020, 75(9): 440-442.
- [17] WONG K Y, CHIM C S. Venetoclax, bortezomib and S63845, an MCL1 inhibitor, in multiple myeloma[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2020, 72(5): 728-737.
- [18] 袁翠林, 娄净, 谢璐迪, 等. 氯化两面针碱对人食管癌 Eca109 细胞抑制作用及机制研究[J]. *中草药*, 2019, 50(20): 4969-4973.
- [19] 唐举贤, 陈琪, 张凤, 等. 外泌体介导多发性骨髓瘤细胞对硼替佐米的耐药[J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39(4): 485-489.
- [20] 路子扬, 刘丽, 苏丽萍, 等. Ajuba 和 YAP1 在食管鳞状细胞癌中的表达及相关性[J]. *新疆医科大学学报*, 2020, 43(5): 573-576.
- [21] CASTANEDA O, BAZ R. Multiple myeloma genomics-a concise review[J]. *Acta Med Acad*, 2019, 48(1): 57-67.
- [22] ALLEGRA A, PIOGGIA G, INNAO V, et al. New insights into YES-associated protein signaling pathways in hematological malignancies: diagnostic and therapeutic challenges[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(8): 1981.
- [23] KYRIAZOGLOU A, NTANANIS-STATHOPOULOS I, TERPOS E, et al. Emerging insights into the role of the hippo pathway in multiple myeloma and associated bone disease[J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2020, 20(2): 57-62.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 罗曼, 古学奎, 蓝海. 氯化两面针碱促进骨髓瘤细胞凋亡的机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(4): 33-38.

Cite this article as: LUO M, GU X K, LAN H. Mechanism of nitidine chloride on promoting apoptosis of myeloma cells[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(4): 33-38.