4 讨论

I/R 是急性心肌梗死后各种心肌再灌注治疗常见的病理生理改变，常常影响再灌注治疗的效果，使心功能改善不明显，甚至出现心律失常、心肌能量代谢障碍、心肌顿抑等严重并发症。

心功能是反映 I/R 损伤严重程度的指标。本实验结果表明：I/R 组大鼠的心脏 dp/dt_{max}、dp/dt_{min}、HR 在再灌注期的心功能明显低于空白组，说明 I/R 损伤模型复制成功。ZCF 能减轻 I/R 导致的心功能损伤，使再灌注时各项心功能指标升高，说明 ZCF 可以调节 I/R 离体心脏的血流动力学，发挥一定的抗心肌 I/R 损伤的作用。复灌后期，ZCF 中剂量组的作用较 ZCF 高剂量组强，这可能是由于芳香新塔花总黄酮中含有一定的杂质，高剂量对心脏产生了一定的毒性。

大量的研究资料表明，心肌 I/R 时心肌细胞内产生大量的氧自由基，引发脂质过氧化作用，并形成脂质过氧化的代谢产物 MDA。MDA 可破坏细胞膜，从而使大量 Ca^{2+}内流，细胞内 Ca^{2+}超负荷，引起细胞挛缩和超微结构的损伤，因此酶的活性和细胞代谢受损，甚至造成细胞死亡[5]。MDA 是脂质过氧化的代谢产物，其含量变化可间接反映细胞受自由基损伤的程度。SOD 是一种带负电荷金属蛋白酶，能够通过歧化方式清除超氧阴离子[6]，保护机体免受氧自由基损伤，其活性的高低可间接反映机体清除氧自由基的能力。本实验结果表明：I/R 组 SOD 活性降低，MDA 含量增高，说明大鼠离体心脏 I/R 产生大量的自由基，造成心肌损伤。与 I/R 模型对照组比较，ZCF 高剂量组可显著提高 I/R 后 SOD 活力，降低 MDA 含量，提示 ZCF 有一定的抗自由基、减少脂质过氧化的作用。

心肌 I/R 使心肌细胞膜损伤，破坏了膜的完整性，导致膜通透性增加，大量的心肌酶外漏。心肌酶 CK、 LDH 被认为是心肌细胞受损程度的重要标志酶。本实验结果表明，ZCF 可浓度依赖性抑制 I/R 大鼠心肌组织中 CK 和 LDH 活性的降低，因此 ZCF 可以减少心肌 I/R 时心肌细胞的破坏，保护心肌组织。

综上所述，ZCF 对大鼠离体心脏 I/R 具有一定的保护作用，其作用可能与清除氧自由基、减少脂质过氧化反应、提高心肌抗氧化能力，维持细胞膜的完整性有关。

REFERENCES

[1] 杨伟俊, 顾政一, 满尔哈巴, 等. 芳香新塔花中黄酮类成分的研究 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(2): 375-376.

[2] LIAO J J, XU J G, YANG W J, et al. Antioxidant activity and hypoxia-reoxygenation injury protective effects of flavonoids from *Ziziphora clinopodioides* on neonatal rat cardiomyocytes [J]. Global Tradit Chin Med(环球中医药), 2011, 4(4): 256-259.

[3] YANG W J, HAMULATI, SUN Y H, et al. Protective effects of *Ziziphora clinopodioides* on rat acute myocardial ischemia and neonatal rat cardiomyocytes [J]. Drugs Clinic(现代药物与临床), 2010, 25(3): 214-218.

[4] LI J L, CHEN Z N, LYU J H, et al. Effect of saponin of Yulangsan on myocardial ischemia reperfusion injury in isolated rat hearts [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(9): 250-253.

[5] XU H, YU X, QU S, et a1. *In vive* and *in vitro* cardioprotective effects of panax quinquefolium 2O(S)-protopanaxadiol saponins(PQDS), isolated from *Panax quinquefolium* [J]. Pharmazie, 2013, 68(4): 287-292.

[6] MATOUK A I, TAYE A, HEEBA G H, et a1. Quercetin augments the protective effect of losartan against chronic doxorubicin cardiotoxicity in rats [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2013, 36(2): 443-450.

收稿日期：2014-07-22

白藓碱单用及联合全反式维甲酸对急性髓性白血病细胞的分化治疗作用

邵雪晶，齐晓甜，刘宇佳，鲜苗，应美丹，杨波，何俏军*(浙江大学药学院药理毒理和生化药学研究所，浙江省抗肿瘤药物临床前研究重点实验室，杭州 310058)

摘要：目的 探索白藓碱单用及联合全反式维甲酸(ATRA)对急性髓性白血病细胞(AML)的分化治疗作用。**方法** 不同浓度的白藓碱单独或联合 ATRA 作用于 3 株不同 AML 亚型的细胞株(NB4、U937 和 HL60)，利用细胞计数考察细胞增殖抑制情况；通过 PI 染色结合流式细胞术检测细胞凋亡；检测细胞表面抗原 CD11b 和细胞核形态考察细胞分化；RT-PCR 和

基金项目：中央高校基本科研业务费专项资金资助(2014XZZX004)

作者简介：邵雪晶，女，博士生 Tel: (0571)88206915 E-mail: shaoxj90@163.com 齐晓甜与第一作者对本文具有同等贡献 *通信作者：何俏军，男，博士，教授 Tel: (0571)88208400 E-mail: qiaojunhe@zju.edu.cn

Western blotting 法观察细胞分化相关转录因子 CEBP β和 PU.1 的 mRNA 和蛋白水平。**结果** 白薇碱单用及联合 ATRA 均能明显诱导 AML 细胞发生分化，表现为抑制细胞增殖、增加细胞表面 CD11b 的表达，使细胞核形态出现马蹄形甚至分叶形；白薇碱单用及联合 ATRA 均能在 mRNA 水平和蛋白水平上增加分化相关转录因子 CEBPβ和 PU.1 的表达。**结论** 白薇碱能够单独或协同 ATRA 诱导不同 AML 亚型细胞发生分化，并且其诱导分化作用可能是通过调控分化相关转录因子 CEBPβ和 PU.1 引起的。

关键词：白薇碱；全反式维甲酸；急性髓性白血病；分化；转录因子

中图分类号：R285.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1007-7693(2015)03-0268-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.003

Single and Combined Effects of Dictamnine with All-*trans* Retinoic Acid(ATRA) on Differentiation of Acute Myeloid Leukemia(AML) Cells

SHAO Xuejing, QI Xiaotian, LIU Yujia, XIAN Miao, YING Meidan, YANG Bo, HE Qiaojun*(*Institute of Pharmacology and Toxicology, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Province Key Laboratory of Anti-Cancer Drug Research, Hangzhou 310058 China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the single and combined effects of dictamnine with all-*trans* retinoic acid (ATRA) on acute myeloid leukemia(AML) cells. **METHODS** Cell proliferation assay was performed by manual cell counting in Burker chambers; apoptosis was detected by flow cytometry with PI staining; CD11b expression level and cell morphologic changes were used to determine AML cell differentiation. The expression levels of transcription factors CEBP β and PU.1 were analyzed by western blotting and real-time PCR. **RESULTS** Both dictamnine single treatment and its combination treatment with ATRA could inhibit AML cell proliferation and induce CD11b expression and morphologic changes, while no obvious apoptosis was observed. Comparing with ATRA or dictamnine single treatment, the mRNA and protein levels of CEBPβ and PU.1 were up-regulated in dictamnine and ATRA cotreated AML cells. Meanwhile, dictamnine alone also had the same effect to induce the expression of CEBPβ and PU.1. **CONCLUSION** Dictamnine alone can induce AML cell differentiation and also contribute to the ATRA-induced differentiation of AML cells, and the activation of CEBPβ and PU.1 are involved in this process.

KEY WORDS: dictamnine; all-*trans* retinoic acid(ATRA); acute myeloid leukemia(AML); differentiation; transcription factors

急性髓性白血病(acute myeloid leukemia，AML)是我国最常见的恶性血液病，其主要的标志之一是严重的髓系分化障碍。20 世纪 70 年代，全反式维甲酸(all-*trans* retinoid acid，ATRA)用于治疗 M3 亚型的 AML，即急性早幼粒性白血病(acute promyeloid leukemia，APL)，获得了巨大的成功[1]，因此基于 ATRA 的诱导分化治疗方案是临床上治疗 APL 的主要策略之一。针对其高复发率、不良反应大等缺点，临床上多采用三药联合治疗(ATRA+砷剂+化疗)的方案，大大提高了目前 APL 患者的完全缓解率。但是，如何进一步提高患者治愈率、多次复发患者的再次缓解，特别是扩大 ATRA 的临床适应范围至各类 AML 患者，都需要进一步的研究与探讨，因此寻找新的诱导分化药物或可协同 ATRA 的药物是白血病分化治疗研究中的热点之一[2]。

白薇碱，化学名为 4-甲氧基呋喃并[2，3-b]喹啉(4-methoxyfuro[2，3-b]quinoline)，分子式 $C_{12}H_9NO_2$，分子量 199.21，属呋喃喹啉类生物碱，能够抑制血小板聚集、松弛血管、并降低血压等，具有抗菌、抗病毒和治疗皮肤湿疹和皮肤瘙痒的作用。近年来，白薇碱的抗肿瘤作用逐渐受到关注，文献报道白薇碱能够杀伤宫颈癌、结肠癌、口腔癌和前列腺癌等肿瘤细胞[3]，同时 Huang 等[4]发现白薇碱衍生物对鼠源性白血病细胞 WEHI-3 具有细胞毒性。但是关于白薇碱单独或联合 ATRA 对 AML 细胞的作用尚无文献报道。

因此，本研究以三株 AML 的不同亚型细胞系(NB4、U937 和 HL60)作为研究对象，观察天然来源的白薇碱单独或与 ATRA 联合后对细胞增殖、细胞凋亡和细胞分化的影响，结果表明白薇碱单用可以诱导 AML 细胞发生分化，同时也能协同 ATRA 诱导不同亚型的 AML 细胞发生分化。因此，本研究首次报道天然来源的白薇碱具有诱导 AML 细胞分化的作用，并且白薇碱和 ATRA 合用不仅可丰富 ATRA 分化治疗的合用方案，还能扩大 ATRA 的临床适应症，为白血病的分化治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂

白薇碱(南京泽朗医药科技有限公司，批号：ZL20130213BX)；ATRA(Sigma 公司，批号：081M1547V)；细胞培养基 RPMI-1640(Hyclone 公司，批号：AYL178402AC)；南美 Hyclone 胎牛血清(Gibco 公司，批号：NXD0606)；抗鼠 CD11b-PE 抗体(美国 BD 公司，批号：4057949)；碘化丙啶和 RNA 酶 A 来自联科生物公司(批号：4106842，2126220)；瑞士吉姆萨染色液(北京赛驰生物科技有限公司)；QuantiTect^{TM} SYBR Green PCR 试剂盒(Takara 公司，批号：A4403)；CEBPβ和 PU.1 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司(批号：2，1)；GAPDH 内参(Santa Cruz Biotechnology 公司，批号：D1014)。

白薇碱用 DMSO 配置形成 40 mg·mL^{-1} 储备液；ATRA 用 EtOH 配置形成 10 mmol·mL^{-1} 储备液；以上均于–20 ℃避光保存。所有实验中，DMSO 或 EtOH 溶剂的浓度均≤0.1%。

1.2 细胞株

AML NB4 和 HL60 细胞由美国南加州大学 Lingtao Wu 教授惠赠；AML U937 细胞购自中科院上海细胞所。上述细胞均用含有 10% 胎牛血清的 RPMI-1640，于 37 ℃，5% CO_2 的细胞培养箱中培养。

1.3 细胞增殖和凋亡检测

AML 细胞以 10 万·mL^{-1} 密度接种于 6 孔板中，各设溶剂对照组和给药组，分别作用 24，48 和 72 h 后，用血细胞计数板计算细胞数目。凋亡则采用 PI 染色结合流式细胞术分析 Sub-G_0 的细胞百分比。

1.4 细胞分化检测

细胞分化检测指标包括细胞表面抗原 CD11b 和细胞核形态变化 2 种。为了检测细胞表面抗原 CD11b 的变化，收集药物作用后的细胞(1×10^6)，用 100 μL 含有 3% BSA 的 PBS 封闭 45 min，之后在 4 ℃孵育 CD11b-PE 45 min，最后采用流式细胞仪检测 CD11b 的表达水平(每个样本计数 10 000 个细胞)；为了观察细胞核形态的变化，收集药物作用后的细胞(1×10^6)，用 100 μL PBS 重悬，用离心涂片机将细胞悬液 20 μL 直接离心沉淀于载玻片上，待干燥后，用甲醇固定，采用瑞氏吉姆萨染色液染色后，镜检并采集图片。

1.5 实时荧光定量 PCR

收集药物作用后的细胞(1×10^6)，Trizol 裂解并提取总 RNA，采用逆转录试剂盒(TransGen Biotech)合成 cDNA。按照试剂盒(QuantiTect^{TM} SYBR Green PCR kits)进行目的片段的扩增。所采用的引物序列如下：GAPDH：正向 5’-GTCATCCATGACAACTTTGG-3’，反向 5’-GAGCTTGACAAAGTGGTCGT-3’；CEBPβ：正向 5’-ACAGCGACGAGTACAAGATCC-3’，反向 5’-GCAGCTGCTTGAACAAGTTCC-3’；PU.1：正向 5’-ATGTGCCTCCAGTACCCATC-3’，反向 5’-TCTTCTGGTAGGTCATCTTC-3’。

1.6 Western Blotting 检测相关蛋白

收集细胞，提取蛋白并定量。将 20 μg 总蛋白混合上样缓冲液，100 ℃加热 5 min 使蛋白变性，10% SDS-PAGE 胶分离，蛋白条带转到 PVDF 膜，5% 脱脂牛奶封闭，一抗 4 ℃过夜，辣根过氧化物酶标记的二抗孵育，ECL 显影。

1.7 数据分析

统计数据均表示为 $\bar{x}\pm s$。均值的显著性差异用 t 检验(双侧)。

2 结果

2.1 白薇碱单用及联合 ATRA 对急性髓性白血病细胞增殖的影响

在 3 株 AML 细胞(NB4、U937 和 HL60)中，采用不同浓度的白薇碱单用或与 ATRA 联合作用 1，2 和 3 d 后，进行细胞计数。给予白薇碱后，与对照组相比，3 株细胞的增殖均受到明显的抑制，其抑制强度随着白薇碱作用浓度增加和作用时间延长而增强，具有时间依赖和浓度依赖性。同时，不同浓度的白薇碱均与 ATRA 具有明显协同抑制 AML 细胞增殖的能力，存在显著性差异。以上结果提示，白薇碱不管是单用还是联合 ATRA 均能明显抑制 AML 细胞的增殖。结果见图 1。

2.2 白薇碱单用及联合 ATRA 对 AML 细胞凋亡的影响

在观察到白薇碱单用及和 ATRA 合用均能明显抑制 AML 细胞增殖的基础上，进一步采用 PI 单染结合流式细胞术分析细胞 Sub-G_0 百分比，以此来考察细胞凋亡情况。

实验结果表明，不管是白薇碱单用或者与 ATRA 合用均不会明显诱导 3 株 AML 细胞(NB4、U937 和 HL60)发生凋亡。这也提示白薇碱单用及联合 ATRA 对于 AML 细胞的增殖抑制效果并不是由于诱导细胞凋亡介导的。结果见图 2。

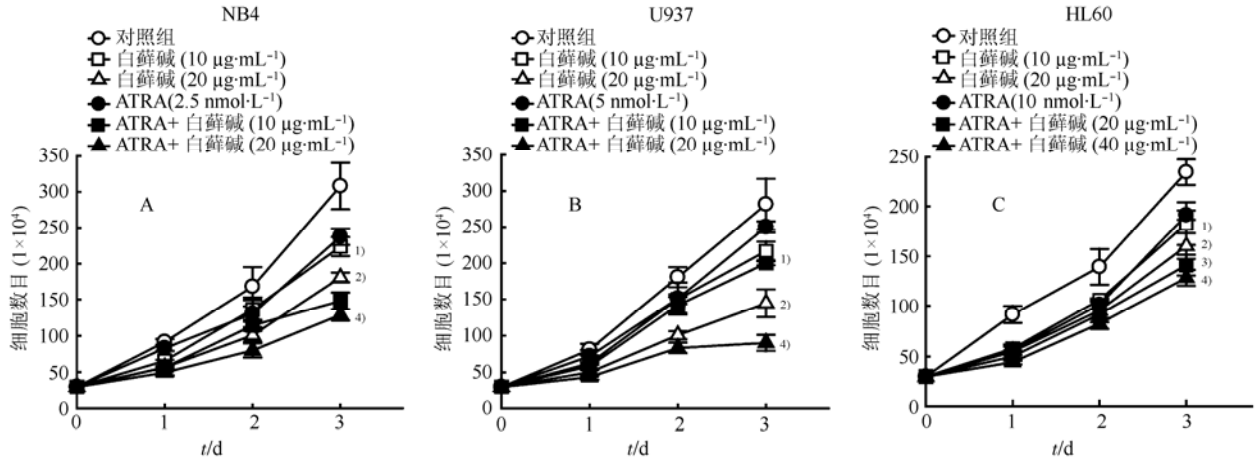

图 1　白薛碱单用及联合 ATRA 对 3 株 AML 细胞增殖能力的影响

A–NB4 细胞；B–U937 细胞；C–HL60 细胞。与对照组比较，$^{1)}P<0.05$，$^{2)}P<0.01$；与 ATRA 单用组比较，$^{3)}P<0.01$，$^{4)}P<0.001$。

Fig. 1　Single and combined effect of dictamnine with ATRA on AML cells growth.

A–NB4 cells; B–U937 cells; C–HL60 cells. Compaired with control group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$; Compaired with ATRA, $^{3)}P<0.01$, $^{4)}P<0.001$.

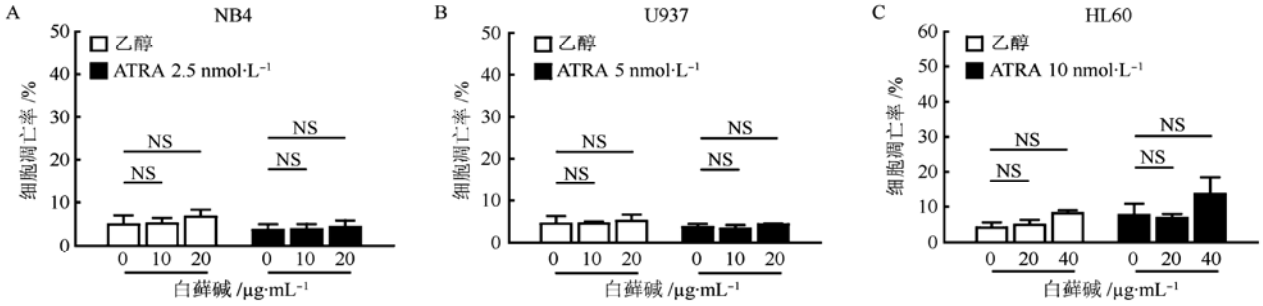

图 2　三株 AML 细胞在白薛碱单用及联合 ATRA 后的细胞凋亡情况

A–NB4 细胞；B–U937 细胞；C–HL60 细胞；白薛碱或 ATRA 均作用于 AML 细胞 72 h；NS–无显著性差异。

Fig. 2　Single and combined effect of dictamnine with ATRA on AML cells apoptosis.

A–NB4 cells; B–U937 cells; C–HL60 cells; Cells were treated with dictamnine or ATRA for 72 h; NS–no signuificant changes.

2.3　白薛碱单用及联合 ATRA 对 AML 细胞分化的影响

考察白薛碱及 ATRA 对 AML 细胞分化的影响，采用了包括细胞表面 CD11b 表达和细胞核形态变化在内的 2 个经典细胞分化指标。

实验结果显示，与空白对照组比较，10 μg·mL^{-1} 和 20 μg·mL^{-1} 白薛碱处理 NB4 细胞后，细胞 CD11b 表达水平明显增高($P<0.05$)，且具有浓度依赖关系；同时，白薛碱和 ATRA 联合处理组与 ATRA 单用组相比，CD11b 表达率也呈显著增加(分别是 $P<0.01$ 和 $P<0.001$)。在另 2 株 AML 细胞株(U937 和 HL60)中，白薛碱单用均具有明显诱导细胞表面 CD11b 表达上调的作用，并且能够协同 ATRA 增强细胞 CD11b 的表达。结果见图 3。

同时，瑞氏吉姆萨染色结果表明，与空白对照组相比，白薛碱单用处理 AML 细胞(NB4、U937 和 HL60)后，细胞核偏向一侧，且形态不规则，细胞核/浆比例降低，出现马蹄形的核形态。白薛碱与 ATRA 联合作用组，细胞核/浆比例进一步降低，出现马蹄形甚至分叶形的细胞核状态。结果见图 4。

以上结果从细胞表面抗原表达和细胞核形态变化两方面证实，白薛碱单用具有诱导 AML 细胞分化的作用，并且能够协同 ATRA 促进 AML 细胞分化。

2.4　白薛碱单用及联合 ATRA 对急性髓性白血病细胞 CEBPβ和 PU.1 表达的影响

转录因子表达的严密调控是保证正常造血功能的重要条件，一旦转录因子表达失衡则很可能引起白血病的发生，因此检测了白薛碱单用以及联合 ATRA 作用于 AML 细胞后的分化相关转录因子的 mRNA 水平及蛋白表达情况的变化。

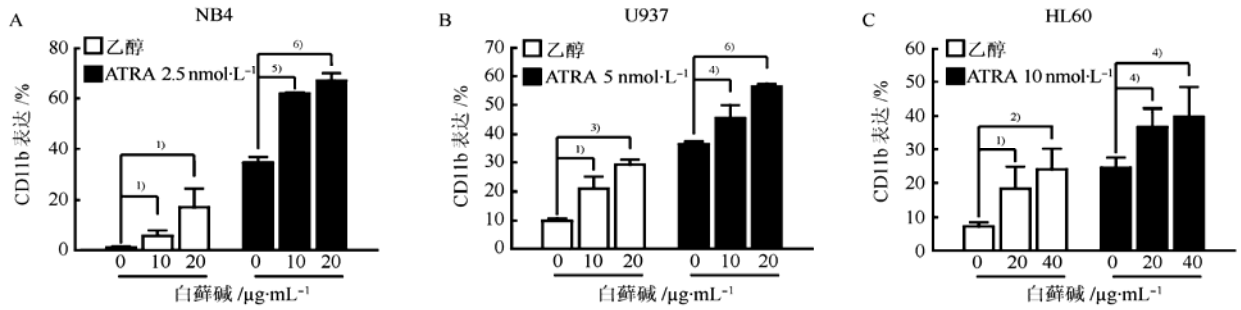

图 3　3 株 AML 细胞在白藓碱单用及联合 ATRA 后的表面抗原 CD11b 表达变化

A–NB4 细胞；B–U937 细胞；C–HL60 细胞；白藓碱或 ATRA 均作用于 AML 细胞 72 h；与对照组比较，[1)]P<0.05，[2)]P<0.01，[3)]P<0.001；与 ATRA 单用组比较，[4)]P<0.05，[5)]P<0.01，[6)]P<0.001。

Fig. 3　Single and combined effect of dictamnine with ATRA on CD11b expression of AML cells

A–NB4 cells; B–U937 cells; C–HL60 cells; Cells were treated with dictamnine or ATRA for 72 h; Compaired with Control, [1)]P<0.05, [2)]P<0.01, [3)]P<0.001; Compaired with ATRA, [4)]P<0.05, [5)]P<0.01, [6)]P<0.001.

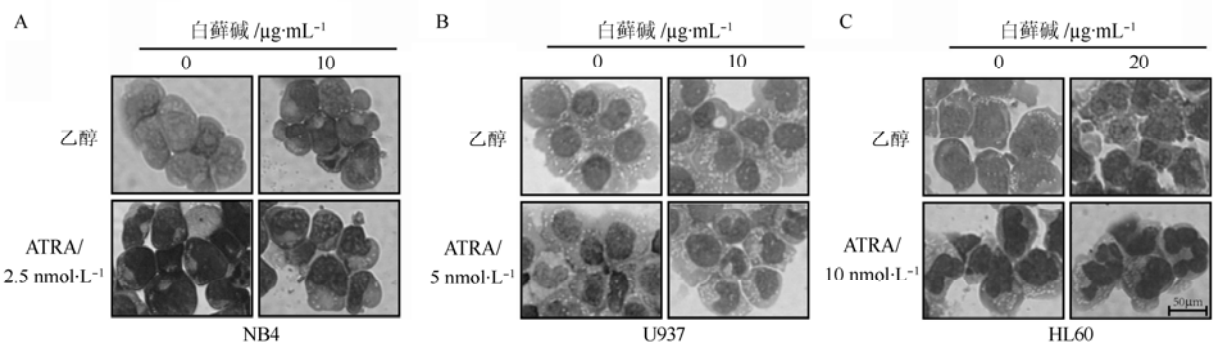

图 4　3 株 AML 细胞在白藓碱单用及联合 ATRA 后的核形态改变(200×)

A–NB4 细胞；B–U937 细胞；C–HL60 细胞；白藓碱或 ATRA 均作用于 AML 细胞 72 h 后采用瑞士吉姆萨染色法观察细胞核形态。

Fig. 4　Single and combined effect of dictamnine with ATRA on morphologic changes of AML cells(200×)

A–NB4 cells; B–U937 cells; C–HL60 cells; Cells were treated with dictamnine or ATRA for 72 h and stained using Wright-Giemsa solution for morphologic analysis of differentiation.

不同浓度的白藓碱处理 NB4 细胞后，实时荧光定量 RT-PCR 结果显示，随着白藓碱浓度的增加，CEBPβ和 PU.1 的 mRNA 水平呈浓度依赖性上调；并且相对于 ATRA 单用组，白藓碱和 ATRA 联合应用可以明显增加 CEBPβ和 PU.1 的 mRNA 表达水平，具有显著性差异。结果见图 5A 和 5B。

Western Blotting 结果同样表明，白藓碱可以明显增加 NB4 细胞中 CEBPβ和 PU.1 的蛋白表达，同时具有协同 ATRA 促进 CEBPβ和 PU.1 上调的效果，见图 5B。

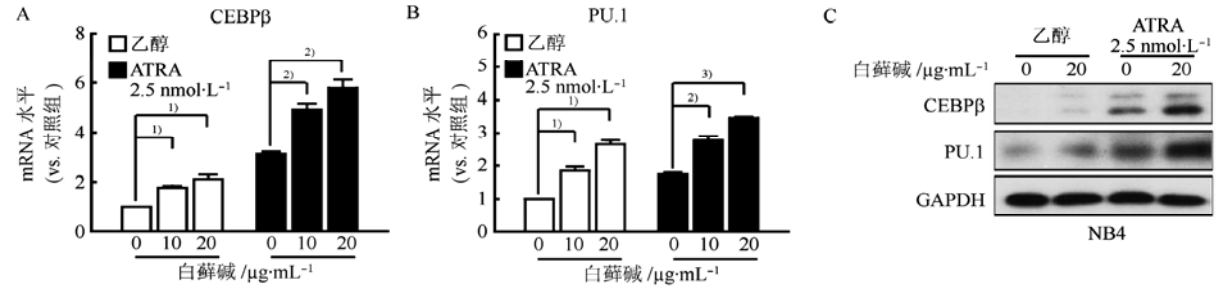

图 5　NB4 细胞在白藓碱单用及联合 ATRA 后 CEBPβ和 PU.1 的 mRNA 水平和蛋白表达

A–CEBPβ基因的 mRNA；B–PU.1 基因的 mRNA；C–CEBPβ和 PU.1 的蛋白表达；白藓碱或 ATRA 均作用于 NB4 细胞 72 h；与对照组比较，[1)]P<0.05；与 ATRA 单用组比较，[2)]P<0.05，[3)]P<0.01。

Fig. 5　Single and combined effect of dictamnine with ATRA on mRNA level and protein expression of CEBPβ and PU.1 in NB4 cells.

A–CEBPβ mRNA; B–PU.1 mRNA; C–protein expression of CEBPβ and PU.1; NB4 cells were treated with dictamnine or ATRA for 72 h; Compared with control group, [1)]P<0.05; compaired with ATRA, [2)]P<0.05, [3)]P<0.01。

以上结果均提示，白薇碱可以明显促进分化相关转录因子(CEBPβ和 PU.1)的表达，从而发挥单用或联合 ATRA 促进 AML 细胞分化的作用。

3 讨论

ATRA 是目前临床上用于治疗 APL 的一线用药，主要通过诱导未分化成熟的白血病细胞发生分化从而达到治疗目的。虽然目前的三联治疗方案(ATRA+砷剂+化疗)可以使 APL 病人的完全缓解率达到 90%以上[5]，但是仍然存在着部分患者不敏感或者复发率高、不良反应大[6]等问题。本研究发现天然来源的白薇碱能够协同 ATRA 诱导 APL 亚型 NB4 细胞发生分化，提示白薇碱可作为一种新的候选增敏剂提高 ATRA 的分化疗效，这一发现不仅有望丰富 APL 临床治疗方案，而且有望减轻 ATRA 在治疗过程中的不良反应。

AML 是由于正常髓系细胞分化发育过程中不同阶段的造血祖细胞恶性转化造成的，FAB(French-American-British)根据其恶性克隆的成熟阶段及其形态学上的不同，将 AML 分为包括 M0~M7 的 8 个亚型。目前 ATRA 诱导分化疗法只在 APL 亚型(M3 亚型)上取得了很好的治疗效果，但是于其他亚型的 AML 疗效不佳。本研究中使用的 3 株 AML 细胞分别属于不同的 AML 亚型(NB4/M3；U937/M5；HL60/M2)[7]，细胞增殖和分化结果(图 1，3 和 4)均显示白薇碱不仅能够协同 ATRA 促进 APL 亚型的 NB4 细胞发生分化，而且还能诱导除 APL 亚型以外的其他亚型的 U937 和 HL60 细胞发生分化。以上结果提示白薇碱与 ATRA 合用可以明显诱导多种 AML 亚型发生分化，为扩大 ATRA 分化治疗的临床适应症提供了潜在的方案。

许多重要的转录因子严密调控髓系细胞的生成，当其表达失衡则可能引起白血病发生，大量文献表明 PU.1[8-10]和 CEBPβ[11]的表达上调在 ATRA 诱导分化过程中发挥着重要作用。图 5 结果显示，白薇碱单用或联合 ATRA 均能诱导或进一步促进 PU.1 和 CEBPβ的 mRNA 和蛋白表达水平增加，初步提示白薇碱可能与 ATRA 一样均是通过促进分化相关转录因子(PU.1 和 CEBPβ)的表达而发挥诱导 AML 细胞分化的作用，其进一步的分子机制仍需深入探讨。

综上所述，本研究从细胞增殖、细胞表面抗原 CD11b 以及细胞核形态变化 3 个方面，证明天然来源的白薇碱能够单独或协同 ATRA 诱导不同类型的 AML 亚型发生细胞增殖抑制和细胞分化，并且其可能分子机制是通过恢复分化相关转录因子 PU.1 和 CEBPβ的表达调控。白薇碱和 ATRA 的联合使用，不仅有望增强 ATRA 的临床疗效，而且可扩大 ATRA 临床适应症，为临床治疗 AML 提供新的治疗方案。同时由于白薇碱来源于天然化合物，其本身具有一定的诱导分化能力，如果对其进行进一步的结构改造和修饰，有望将白薇碱开发为崭新的分化诱导药物。

REFERENCES

[1] KOGAN S C. Curing APL: differentiation or destruction? [J]. Cancer Cell, 2009, 15(1): 7-8.

[2] PETRIE K, ZELENT A, WAXMAN S. Differentiation therapy of acute myeloid leukemia: past, present and future [J]. Curr Opin Hematol, 2009, 16(2): 84-91.

[3] HUANG Y T, HUANG D M , GUH J H, et al. CIL-102 interacts with microtubule polymerization and causes mitotic arrest following apoptosis in the human prostate cancer PC-3 cell line [J]. J Biol Chem, 2005, 280(4): 2771-2779.

[4] HUANG A C, CHUNG J G, KUO S C, et al. Synthesis and cytotoxic activity of certain 2,3,4,9-tetrahydrofuro [2,3-b] quinolin-3,4-dione and ethyl 2-(substituted aniline)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate derivatives in murine leukemia WEHI-3 cells [J]. In Vivo, 2007, 21(2): 227-236.

[5] SANZ M A, LO-COCO F. Modern approaches to treating acute promyelocytic leukemia [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(5): 495-503.

[6] MONTESINOS P, BERGUA J M, VELLENGA E, et al. Differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and anthracycline chemotherapy: characteristics, outcome, and prognostic factors [J]. Blood, 2009, 113(4): 775-783.

[7] TAN K B, LING L U, BUNTE R M, et al. *In vivo* efficacy of a novel liposomal formulation of safingol in the treatment of acute myeloid leukemia [J]. J Control Release, 2012, 160(2): 290-298.

[8] MUELLER B U, PABST T, FOS J, et al. ATRA resolves the differentiation block in t(15;17) acute myeloid leukemia by restoring PU.1 expression [J]. Blood, 2006, 107(8): 3330-3338.

[9] DE MARCHIS M L, BALLARINO M, SALVATORI B, et al. A new molecular network comprising PU.1, interferon regulatory factor proteins and miR-342 stimulates ATRA-mediated granulocytic differentiation of acute promyelocytic leukemia cells [J]. Leukemia, 2009, 23(5): 856-862.

[10] WANG K, WANG P, SHI J, et al. PML/RARalpha targets promoter regions containing PU.1 consensus and RARE half sites in acute promyelocytic leukemia [J]. Cancer Cell, 2010, 17(2): 186-197.

[11] DUPREZ E, WAGNER K, KOCH H, et al. C/EBPbeta: a major PML-RARA-responsive gene in retinoic acid-induced differentiation of APL cells [J]. EMBO J, 2003, 22(21): 5806-5816.

收稿日期：2014-08-14