隐丹参酮通过 eIF4E 调控 JAK/STAT3 信号通路诱导慢性粒细胞白血病细胞凋亡的作用机制研究

邹禄平，徐 奔，向 航，谭 军，许京淑*
（恩施土家族苗族自治州中心医院血液科，湖北恩施 445000）

摘要：目的 探讨隐丹参酮对慢性粒细胞白血病细胞凋亡的影响及其作用机制。**方法** 将人慢性粒细胞白血病 K562 细胞分组 -1 为正常对照（normal control，NC）组，5、10、20 μmol/L 隐丹参酮组、si-NC 组、si- 核细胞翻译起始因子（eukaryotic translation initiation factor，eIF）4E 组、隐丹参酮组（20 μmol/L）、隐丹参酮（20 μmol/L）＋ pcDNA-NC 组以及隐丹参酮（20 μmol/L）＋ pcDNA-eIF4E 组。细胞计数试剂盒 -8 法检测并计算细胞增殖抑制率；流式细胞术检测细胞周期分布和细胞凋亡；实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应法检测 eIF4E mRNA 表达水平；免疫印迹法检测相关蛋白表达水平。**结果** 与 NC 组相比，5、10、20 μmol/L 浓度隐丹参酮处理组细胞增殖抑制率逐步升高（$P < 0.05$）；G1 期细胞数量占比逐步增加，细胞凋亡率逐步升高（$P < 0.05$）；细胞中 eIF4E mRNA 和蛋白表达水平逐步降低（$P < 0.05$）。与 NC 组相比，si-eIF4E 组细胞增殖抑制率升高（$P < 0.05$）；细胞周期蛋白（Cyclin）D1 和周期蛋白依赖激酶（cyclin dependent kinase，CDK）1 蛋白表达量降低（$P < 0.05$）；B 淋巴细胞瘤（B-cell lymphoma，Bcl）-2 基因蛋白表达量降低，cleaved Caspase-3、Bcl-2 相关 X 蛋白（Bcl-2 associated X protein，Bax）蛋白表达量升高（$P < 0.05$）。与 NC 组相比，隐丹参酮组细胞增殖抑制率升高（$P < 0.05$），Cyclin D1、CDK1 以及 Bcl-2 蛋白表达量降低（$P < 0.05$），cleaved Caspase-3、Bax 蛋白表达量升高（$P < 0.05$）；细胞中磷酸化酪氨酸激酶（p-Janus kinase，p-JAK）/JAK 和磷酸化信号传导和转录激活因子（p-signal transducer and activator of transcription，p-STAT）3/STAT3 比值降低（$P < 0.05$）。与隐丹参酮组比较，隐丹参酮＋ pcDNA-eIF4E 组细胞增殖抑制率降低（$P < 0.05$），Cyclin D1、CDK1、Bcl-2 蛋白表达量升高，cleaved Caspase-3、Bax 蛋白表达量降低（$P < 0.05$）；细胞中 p-JAK/JAK 和 p-STAT3/STAT3 比值升高（$P < 0.05$）。**结论** 隐丹参酮可能通过 eIF4E 调控 JAK/STAT3 信号通路抑制 CML 细胞增殖、阻滞细胞周期进程并促进细胞凋亡。

关键词：隐丹参酮；慢性粒细胞白血病；细胞凋亡；真核细胞翻译起始因子 4E；酪氨酸激酶 / 信号传导和转录激活因子 3 信号通路

中图分类号：R-33　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2026）08-0853-011

引用：邹禄平, 徐奔, 向航, 等. 隐丹参酮通过eIF4E调控JAK/STAT3信号通路诱导慢性粒细胞白血病细胞凋亡的作用机制研究[J]. 世界临床药物, 2026, 47（8）: 853-863. DOI：10.13683/j.wph.2026.08.004

Study on the mechanism of cryptotanshinone regulating the JAK/STAT3 signaling pathway through eIF4E to induce apoptosis in chronic myeloid leukemia cells

ZOU Luping, XU Ben, XIANG Hang, TAN Jun, XU Jingshu*
（*Department of Hematology, the Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi 445000, Hubei Province, China*）

Abstract: ***Objective*** To explore the effect of cryptotanshinone on apoptosis of chronic myeloid leukemia cells and its mechanism of action. ***Methods*** The human chronic myeloid leukemia K562 cells were grouped into the normal control（NC） group, 5, 10, 20 μmol/L cryptotanshinone group, si-NC group, Si-nuclear translation

收稿日期：2025-03-31
作者简介：邹禄平，主治医师，研究方向：血液疾病的中西医结合治疗基础与临床研究。
通信作者：许京淑，副主任医师，研究方向：慢性粒细胞白血病发病机制。
基金项目：湖北省自然科学基金（2012FFBO5906）

initiation factor (eukaryotic translation initiation factor, eIF) 4E group, the cryptotanshinone group (20 μmol/L), the cryptotanshinone (20 μmol/L) + pcDNA-NC group, and the cryptotanshinone (20 μmol/L) + PCDNA-eIF4E group. Cell counting kit-8 method was used to detect and calculate the cell proliferation inhibition rate. The flow cytometry was used to detect the cell cycle distribution and apoptosis. The expression level of eIF4E mRNA was detected by real-time fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. The expression levels of related proteins were detected by western blotting. ***Results*** Compared with the NC group, the cell proliferation inhibition rates in the cryptanshinone treatment groups with concentrations of 5, 10, and 20 μmol/L gradually increased ($P<0.05$). The proportion of cells in the G1 phase gradually increased, and the apoptosis rate gradually rose ($P<0.05$). The expression levels of eIF4E mRNA and protein in cells gradually decreased ($P<0.05$). Compared with the NC group, the inhibition rate of cell proliferation in si-eIF4E group increased ($P<0.05$). The protein expression levels of cyclin D1 and cyclin-dependent kinase (CDK) 1 decreased ($P<0.05$). The protein expression level of the B-cell lymphoma (Bcl) -2 gene decreased, while the cleaved Caspase-3 and Bcl-2 associated X protein (Bax) increased ($P<0.05$). Compared with the NC group, the cell proliferation inhibition rate in the cryptotanshinone group increased ($P<0.05$), the protein expression levels of Cyclin D1, CDK1 and Bcl-2 decreased ($P<0.05$), and the protein expression levels of cleaved Caspase-3 and Bax increased ($P<0.05$). The ratio of phosphorylated tyrosine kinase (p-Janus kinase, p-JAK) /JAK and phosphorylated signal transducer and p-signal transducer and activator of transcription (p-STAT) 3/STAT3 decreased ($P<0.05$). Compared with the cryptotanshinone group, the cell proliferation inhibition rate in cryptotanshinone + pcDNA-eIF4E group decreased ($P<0.05$), the protein expression levels of Cyclin D1, CDK1, and Bcl-2 increased, and the protein expression levels of cleaved Caspase-3 and Bax decreased ($P<0.05$). The ratios of p-JAK/JAK and p-STAT3/STAT3 in the cells increased ($P<0.05$). ***Conclusion*** Cryptotanshinone may inhibit CML cell proliferation, arrest cell cycle progression and promote apoptosis by regulating JAK/STAT3 signaling pathway through eIF4E.

Key words: cryptotanshinone; chronic myeloid leukemia; apoptosis; eukaryotic translation initiation factor 4E; Janus kinase/signal transducer and activator of transcriptio 3 signaling pathway

慢性粒细胞白血病（chronic myeloid leukemia，CML）是一种骨髓克隆性增殖性血液肿瘤，可发生于各年龄人群，发病率较高[1—2]。目前临床治疗CML多以化疗、伊马替尼靶向治疗等为主。但长期使用会引发严重的不良反应和耐药性，均增加了CML临床治疗难度[3]。因此，亟需探寻治疗CML的新药物和潜在靶点。隐丹参酮是丹参中的重要单体化合物，能抑制多种肿瘤细胞生长，包括黑色素瘤、前列腺癌、乳腺癌等[4—5]。隐丹参酮同时具有细胞毒作用、抑制肿瘤细胞增殖和增强抗肿瘤免疫的活性[6]。真核细胞翻译起始因子（eukaryotic translation initiation factor，eIF）4E在翻译起始过程中发挥关键作用[7]。eIF4E过表达可通过上调DNA损伤检查点蛋白启动恶性转化[8]。磷酸化活化的eIF4E是急性髓性白血病的潜在重要治疗靶点[9]。本研究设计通过体外细胞试验，探讨隐丹参酮通过调控eIF4E促进CML细胞凋亡的作用及其分子机制。

1 研究与方法

1.1 材料

人CML K562细胞系（中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心）。洛斯维·帕克纪念研究所（Roswell Park Memorial Institute，RPMI）1640培养基（E37201）、二喹啉甲酸（bicinchoninic acid assay，BCA）试剂盒（J0454）、放射免疫沉淀法（adioimmunoprecipitation assay，RIPA）蛋白裂解液（Y30211）均购自碧云天生物技术公司；Lipofectamine 3000转染试剂（L300180）购自美国

Invitrogen 公司；小干扰 RNA（small interferingRNA，si）- 正常对照组（normal control，NC）、si-eIF4E、pcDNA-NC 以及 pcDNA-eIF4E 均购自金瑞斯生物科技公司；细胞计数试剂盒（cell counting kit，CCK）-8（CHC0854）购自上海晶抗生物工程有限公司；Annexin V- 荧光素异硫氰酸酯（fluorescein isothiocyanate，FITC）/ 碘化丙啶（propidium iodide，PI）细胞凋亡检测试剂盒（CAKB2117）购自北京博奥派克生物科技有限公司；TRIzol 试剂盒（OXL0998-08）、逆转录试剂盒（KRJ2301401）、实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应（quantitative **r**everse **t**ranscription polymerase chain reaction，qRT-PCR）试剂盒（665751-02U）均购自赛默飞世尔科技（中国）有限公司；eIF4E（A790521）、细胞周期蛋白（cyclin）D1（C324768）、周期蛋白依赖激酶（cyclin dependent kinase，CDK）1（C172483）、cleaved Caspase-3、B 淋巴细胞瘤（B-cell lymphoma，Bcl）-2 基因（B371546）、Bcl-2 相关 X 蛋白（Bcl-2 associated X protein，Bax）（C334521）、β- 肌动蛋白（actin）（B237544）、酪氨酸激酶（Janus kinase，JAK）（J342156K）、磷酸化 JAK（p-JAK）（J141722K）、信号传导和转录激活因子（signal transducer and activator of transcription，STAT）3（S335146）、磷酸化 STAT3（p-STAT3）（S278215）一抗和辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记的二抗（H657628）均购自美国 Abcam 公司。

Thermo 3111 型二氧化碳恒温培养箱购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；Model 680 型酶标仪、1659001 型蛋白电泳仪、Trans-Blot SD 型转膜仪均购自美国 Bio-Rad 公司；754PC 型紫外 - 分光光度计购自上海菁华科技仪器有限公司；Cyto FLEX 型流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特公司；CKX53 型倒置荧光显微镜购自日本奥林巴斯公司；LC480 型 qRT-PCR 仪购自瑞士 Roche 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

将 K562 细胞置于含 10% 胎牛血清、1% 青霉素和链霉素的 RPMI-1640 培养基，在温度为 37 ℃，5%CO_2 及饱和湿度的培养箱中培养传代，每 2 d 换 1 次培养液，观察细胞生长状态，取对数期生长的 K562 细胞进行后续试验。

1.2.2 细胞处理与分组

将对数生长期的 K562 细胞接种至 96 孔板，用不同浓度的隐丹参酮（5、10、20 μmol/L）处理 24 h[10]。将 si-NC、si-eIF4E 转染至未经任何处理的 K562 细胞，记为 si-NC 组、si-eIF4E 组；将 pcDNA-NC、pcDNA-eIF4E 转染至 K562 细胞后用 20 μmol/L 的隐丹参酮处理 24 h，分别记为隐丹参酮＋ pcDNA-NC 组、隐丹参酮＋ pcDNA-eIF4E 组，以正常培养、未经任何处理的 K562 细胞作为空白对照组（NC 组），转染过程严格按照 Lipofectamine 3000 转染试剂说明书操作，转染 48 h 后收集细胞进行后续试验。试验独立重复测定 6 次。

1.2.3 CCK-8 法检测细胞增殖抑制率

将各组 K562 细胞接种于 96 孔板，调整密度为 1×10^4 个 / 孔，在 37 ℃、5 %CO_2、饱和湿度的恒温培养箱中培养过夜，待细胞培养 24 h 后，每孔加入 10 μL 的 CCK-8，继续孵育 4 h。用酶标仪检测各孔在 450 nm 波长处的光密度（optical density，OD）值，计算细胞增殖抑制率及半抑制浓度（50% maximal inhibitory concentration，IC_{50}）值。细胞增殖抑制率公式为 $R=(1-n_a)/n_b\times100\%$，式中：R 为细胞增殖抑制率，n_a 为药物组 OD 值，n_b 为对照组 OD 值。试验独立重复测定 6 次。

1.2.4 流式细胞术检测细胞周期分布

各组细胞离心（1 200×g）5 min，收集细胞沉淀，用磷酸盐缓冲液（phosphate buffered solution，PBS）洗涤 2 遍，加入预冷的 75 % 乙醇，在 4 ℃条

件下固定 4 h，离心（1 800×*g*）5 min，弃去上清液，PBS 洗涤，加入 400 μL PI 染液和 100 μL RNase A，4 ℃避光孵育 30 min，采用流式细胞仪测定细胞周期分布。

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡

各组细胞离心（1 200×*g*）5 min，收集细胞沉淀，用 PBS 洗涤 2 遍，加入结合缓冲液调整细胞密度为 1×10^6 个 /mL，分别加入 5 μL 的 Annexin V-FITC 和 PI 染色液，避光孵育 15 min，采用流式细胞仪测定细胞凋亡情况，计算细胞凋亡率。

1.2.6 qRT-PCR 检测 eIF4E mRNA 表达水平

收集各组待测细胞，用 TRIzol 法提取细胞总 RNA，用紫外 - 分光光度计测定 RNA 纯度和浓度。根据逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录成 cDNA，以甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）为内参基因，采用 qRT-PCR 试剂盒检测基因表达量。引物序列如下。eIF4E 上游引物：5'-CCTACAGAACAGATGGGCACTC-3'，230 bp；下游引物：5'-GCCCAAAAGTCTTCAACAGTATCA-3'，251 bp；GAPDH 上游引物：5'-ATGGGGAAGGTGAAGGTCG-3'，216 bp；下游引物：5'-GGGGTCATTGATGGCAACAATA-3'，257 bp。反应体系（20 μL）：cDNA 模板 2 μL，10 μmol/L 的上下游引物各 0.5 μL，SYBR Green Supermix 试剂 10 μL，ddH_2O 6 μL。反应条件：95 ℃ 30 s，95 ℃ 5 s，60 ℃ 20 s，72 ℃ 35 s，共进行 40 个循环。用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算目的基因相对表达水平。试验独立重复测定 6 次。

1.2.7 免疫印迹法（western blotting，WB）检测相关蛋白表达水平

收集各组待测细胞，采用 RIPA 蛋白裂解液提取细胞总蛋白，BCA 法测定总蛋白浓度。取定量蛋白样品，用十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，转移至聚偏二氟乙烯膜，加入 5 % 脱脂奶粉的缓冲液室温封闭 2 h，TBST 洗涤 3 次，每次 5 min，加入按 1 ∶ 1 000 浓度稀释的一抗，4 ℃条件下孵育过夜，TBST 洗涤 3 次，每次 5 min，加入按 1 ∶ 2 000 浓度稀释的二抗，室温孵育 1 h。用增强化学发光试剂显影，目的蛋白表达水平为目的蛋白条带与内参蛋白条带灰度值之比。试验独立重复测定 6 次。

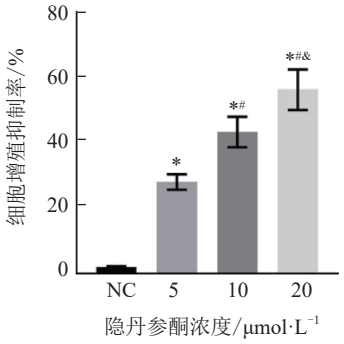
1.3 统计学方法

采用 SPSS25.0 软件进行统计学分析，细胞增殖抑制率、细胞周期分布、细胞凋亡率、mRNA 和蛋白表达量以（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），组间两两比较采用事后 Turkey's 检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度的隐丹参酮对 K562 细胞增殖及细胞周期分布的影响

与 NC 组相比，5、10、20 μmol/L 隐丹参酮组细胞增殖抑制率逐步升高（$F=15.438$，$P<0.05$），见图 1。细胞周期中 G_1 期细胞数量占比逐步增加，S 期和 G_2 期细胞数量占比逐步减少（$F=28.073$，22.610，24.382，$P<0.05$），见图 2。



注：与 NC 组比较，*$P<0.05$；与 5 μmol/L 隐丹参酮组比较，#$P<0.05$；与 10 μmol/L 隐丹参酮组比较，&$P<0.05$。

Note: vs. the NC group, *$P<0.05$; vs. 5 μmol/L cryptotanshinone group, #$P<0.05$; vs. 10 μmol/L cryptotanshinone group, &$P<0.05$.

图 1 不同浓度隐丹参酮对 K562 细胞增殖抑制率的影响

Figure 1 Effects of different concentrations of cryptotanshinone on the proliferation inhibition rate of K562 cells

2.2 不同浓度的隐丹参酮对 K562 细胞凋亡的影响

与 NC 组相比，5、10、20 μmol/L 隐丹参酮组细胞凋亡率随浓度增加而逐步升高（$F = 84.910$，$P < 0.05$），见图 3。

2.3 不同浓度的隐丹参酮对 K562 细胞中 eIF4E 表达的影响

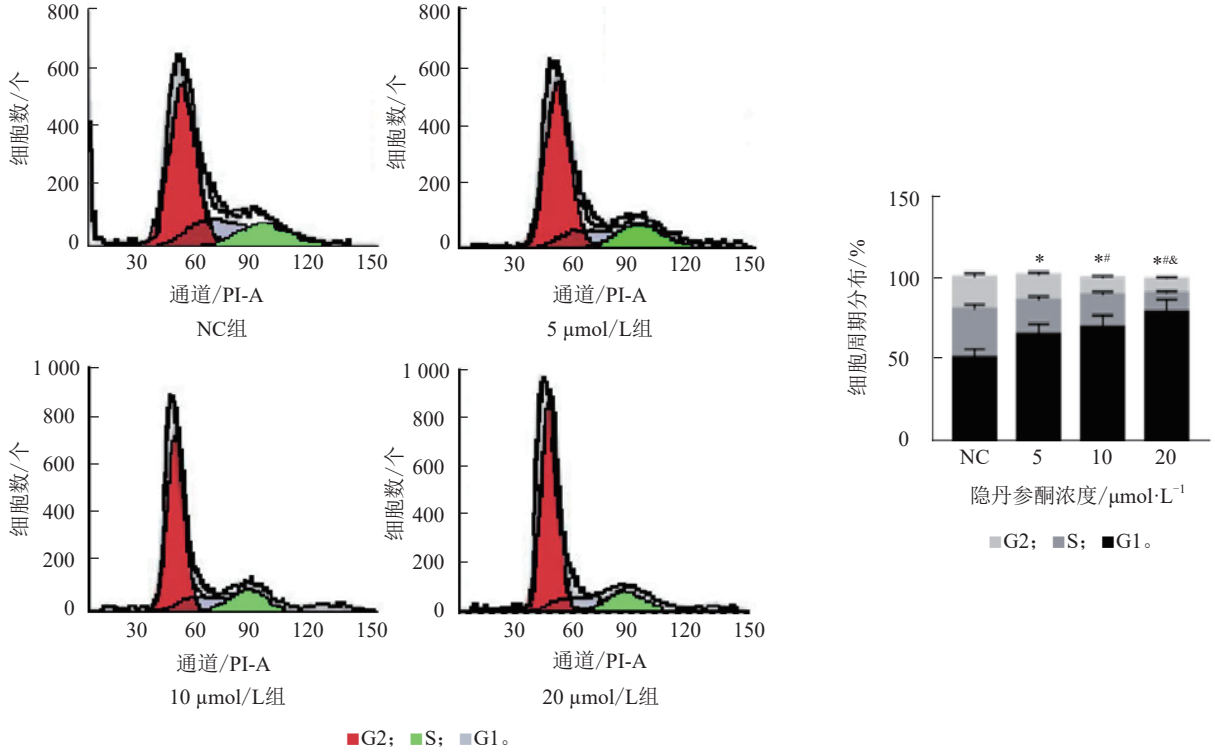
与 NC 组相比，5、10、20 μmol/L 隐丹参酮组的 eIF4E mRNA 表达水平逐步降低 $F = 17.952$，$P < 0.05$），见图 4A。与 NC 组相比，5、10、20 μmol/L 隐丹参酮组的 eIF4E 蛋白表达水平逐步降低（$F = 17.850$，$P < 0.05$），见图 4B。

2.4 转染后各组 K562 细胞中 eIF4E 的表达水平

与 NC 组比较，si-NC 组 eIF4E mRNA 和蛋白表达水平无明显变化（$P > 0.05$），si-eIF4E 组 eIF4E mRNA 和蛋白表达水平均显著降低（$P < 0.05$），见表 1、图 5。与 NC 组比较，隐丹参酮组 eIF4E mRNA 和蛋白表达水平均显著降低（$P < 0.05$）。与隐丹参酮组比较，隐丹参酮＋ pcDNA-NC 组 eIF4E mRNA 和蛋白表达水平无明显变化（$P > 0.05$）；隐丹参酮＋ pcDNA-eIF4E 组 eIF4E mRNA 和蛋白表达水平显著升高（$P < 0.05$），见表 2、图 6。

2.5 低表达 eIF4E 对 K562 细胞增殖、细胞周期分布和凋亡相关蛋白表达的影响

与 NC 组相比，si-NC 组细胞增殖抑制率、细胞周期相关蛋白 Cyclin D1、CDK1、抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 cleaved Caspase-3、Bax 均无明显变化（$P > 0.05$）；si-eIF4E 组细胞增殖抑制率显著升高（$P < 0.05$），Cyclin D1 和 CDK1 蛋白表达

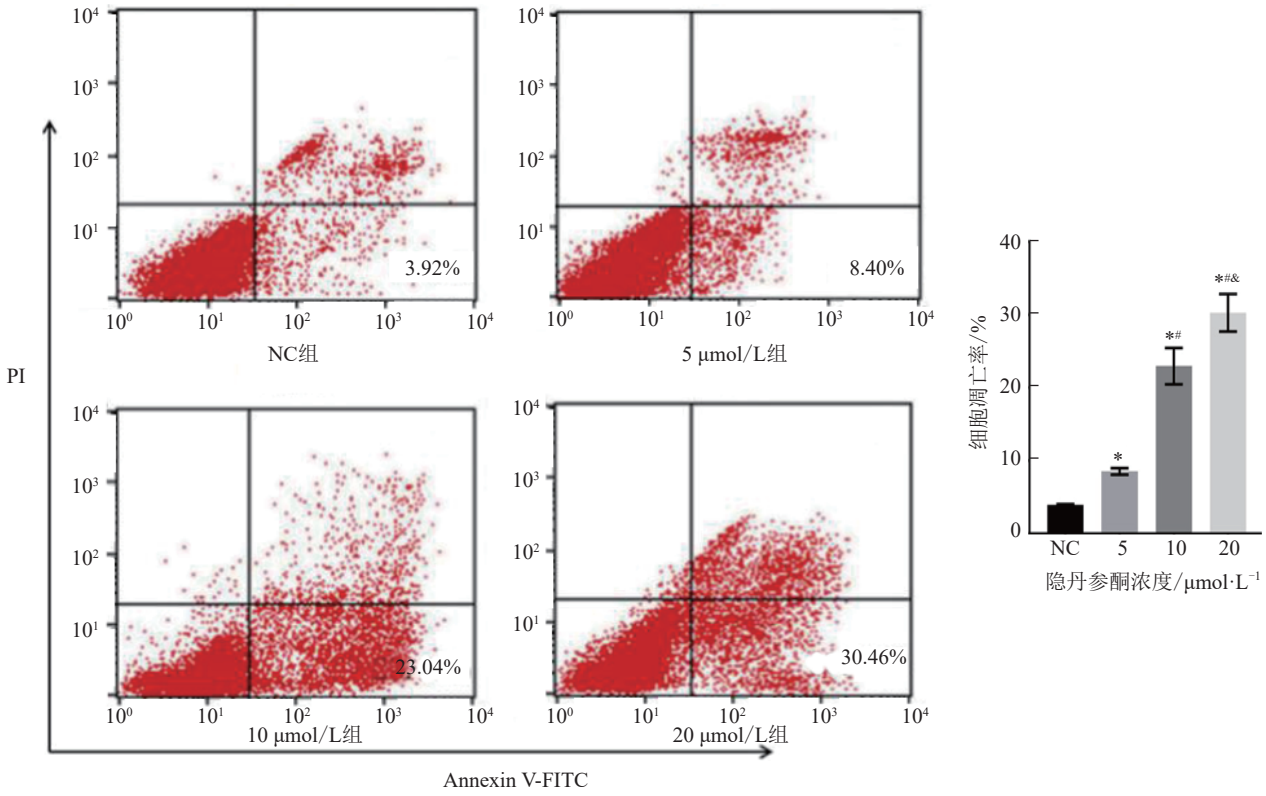


注：与 NC 组比较，*$P < 0.05$；与 5 μmol/L 隐丹参酮组比较，#$P < 0.05$；与 10 μmol/L 隐丹参酮组比较，&$P < 0.05$。

Note: vs. the NC group, *$P < 0.05$; vs. 5 μmol/L cryptotanshinone group, #$P < 0.05$; vs. 10 μmol/L cryptotanshinone group, &$P < 0.05$.

图 2 不同浓度隐丹参酮对 K562 细胞周期分布的影响

Figure 2 Effects of different concentrations of cryptotanshinone on the cell cycle distribution of K562 cells

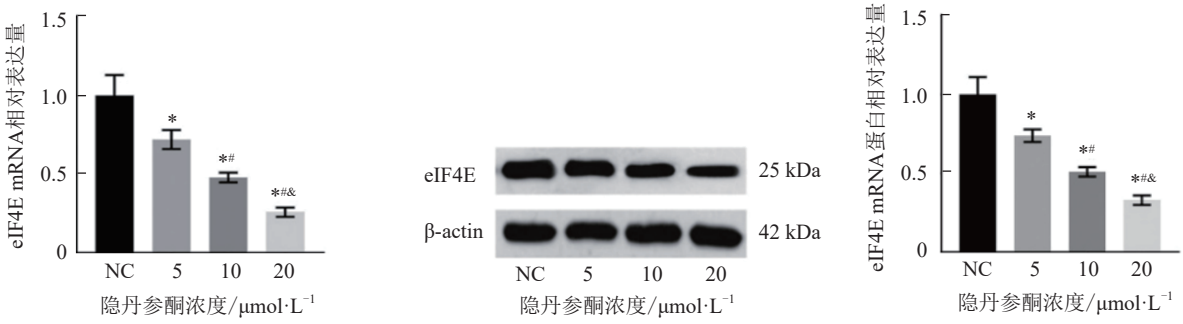


注：与 NC 组比较，*$P < 0.05$；与 5 μmoL/L 隐丹参酮组比较，#$P < 0.05$；与 10 μmoL/L 隐丹参酮组比较，&$P < 0.05$。

Note: vs. the NC group, *$P < 0.05$; vs. 5 μmoL/L cryptotanshinone group, #$P < 0.05$; vs. 10 μmoL/L cryptotanshinone group, &$P < 0.05$.

图 3　不同浓度的隐丹参酮对 K562 细胞凋亡的影响

Figure 3　Effects of different concentrations of cryptotanshinone on the apoptosis of K562 cells



注：A 为 eIF4E mRNA 相对表达量；B 为 eIF4E 蛋白相对表达量。

与 NC 组比较，*$P < 0.05$；与 5 μmol/L 隐丹参酮组比较，#$P < 0.05$；与 10 μmol/L 隐丹参酮组比较，&$P < 0.05$。

Note: Figure A shows the relative expression level of eIF4E mRNA; Figure B shows the relative expression levels of the eIF4E protein. vs. the NC group, *$P < 0.05$; vs. 5 μmol/L cryptotanshinone group, #$P < 0.05$; vs. 10 μmol/L cryptotanshinone group, &$P < 0.05$.

图 4　不同浓度的隐丹参酮对 K562 细胞中 eIF4E 表达的影响

Figure 4　Effects of different concentrations of cryptotanshinone on the expression of eIF4E in K562 cells

表 1 转染 si-eIF4E 后 K562 细胞中 eIF4E 的表达水平 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Expression levels of eIF4E in K562 cells after transfection with si-eIF4E ($\bar{x}\pm s$)

分组	eIF4E mRNA	eIF4E蛋白
NC组	1.00±0.00	0.87±0.08
si-NC组	0.96±0.10	0.88±0.08
si-eIF4E组	0.25±0.02*	0.23±0.02*
*F*值	31.759	25.308
*P*值	＜0.05	＜0.05

注：与 NC 组比较，*P ＜ 0.05。

Note: vs. the NC group, *P ＜ 0.05.

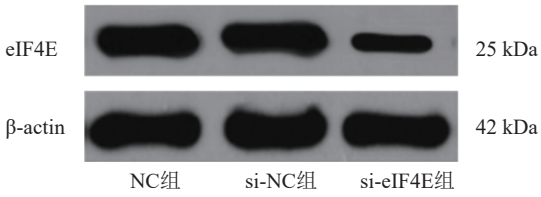


图 5 WB 检测转染 si-eIF4E 后细胞中 eIF4E 蛋白表达

Figure 5 Detection of eIF4E protein expression in cells transfected with si-eIF4E by WB

量显著下降（P ＜ 0.05），抗凋亡蛋白 Bcl-2 蛋白表达量显著降低，促凋亡蛋白 cleaved Caspase-3、Bax 蛋白表达量显著升高（P ＜ 0.05），见表 3、图 7。

2.6 高表达 eIF4E 隐丹参酮对 K562 细胞增殖、细胞周期分布和凋亡相关蛋白表达的影响

与 NC 组相比，隐丹参酮组细胞增殖抑制率显著升高（P ＜ 0.05），Cyclin D1、CDK1 及 Bcl-2 蛋白表达量显著下降（P ＜ 0.05），cleaved Caspase-3、Bax 蛋白表达量升高（P ＜ 0.05）。与隐丹参酮组

表 2 转染 pcDNA-eIF4E 后 K562 细胞中 eIF4E 的表达水平 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Expression levels of eIF4E in K562 cells after transfection with pcDNA-eIF4E ($\bar{x}\pm s$)

分组	eIF4E mRNA	eIF4E蛋白
NC组	1.00±0.00	0.78±0.08
隐丹参酮组	0.32±0.03*	0.19±0.02*
隐丹参酮＋pcDNA-NC组	0.35±0.03	0.20±0.02
隐丹参酮＋pcDNA-eIF4E组	0.89±0.09#	0.66±0.07#
*F*值	27.359	21.850
*P*值	＜0.05	＜0.05

注：与 NC 组比较，*P ＜ 0.05；与隐丹参酮组比较，#P ＜ 0.05。

Note: vs. the NC group, *P ＜ 0.05; vs. cryptotanshinone group, #P ＜ 0.05.

表 3 低表达 eIF4E 对 K562 细胞增殖、细胞周期分布和凋亡相关蛋白表达的影响

Table 3 Effects of low expression of eIF4E on proliferation, cell cycle distribution and expression of apoptosis-related proteins in K562 cells

项目	NC组	si-NC组	si-eIF4E组	*F*值	*P*值
增殖抑制率/%	3.27±0.33	4.26±0.53	42.36±4.10*	65.123	＜0.05
Cyclin D1	0.89±0.09	0.93±0.09	0.54±0.05*	49.127	＜0.05
CDK1	0.77±0.08	0.80±0.08	0.45±0.04*	58.370	＜0.05
Bcl-2	0.85±0.08	0.83±0.08	0.48±0.05*	62.109	＜0.05
Bax	0.30±0.03	0.31±0.03	0.63±0.06*	49.351	＜0.05
cleaved Caspase-3	0.41±0.04	0.42±0.04	0.73±0.07*	34.523	＜0.05

注：与 NC 组比较，*P ＜ 0.05。

Note: vs. the NC group, *P ＜ 0.05.

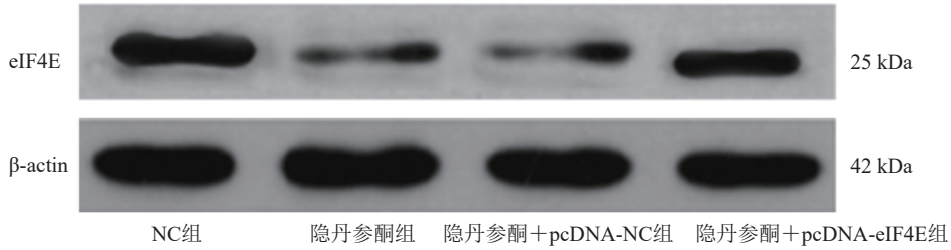


图 6 WB 检测转染 pcDNA-eIF4E 后细胞中 eIF4E 蛋白表达

Figure 6 Detection of eIF4E protein expression in cells transfected with pcDNA-eIF4E by WB

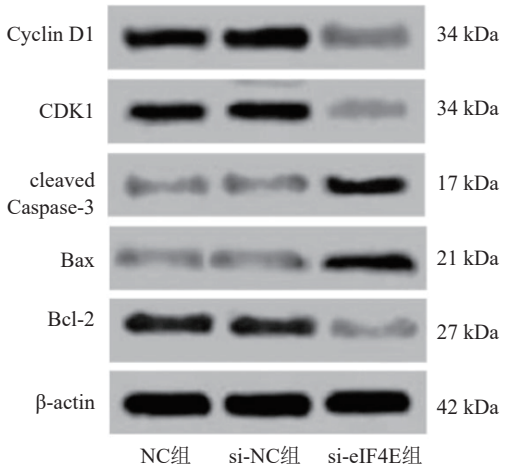


图 7 低表达 eIF4E 对 K562 细胞周期分布和凋亡相关蛋白表达的影响

Figure 7 Effects of low expression of eIF4E on cell cycle distribution and the expression of apoptosis-related proteins in K562 cells

比较，隐丹参酮＋pcDNA-NC 组细胞增殖抑制率、Cyclin D1、CDK1、Bcl-2 和 cleaved Caspase-3、Bax 均无明显变化（$P > 0.05$）；隐丹参酮＋pcDNA-eIF4E 组细胞增殖抑制率显著降低（$P < 0.05$），Cyclin D1、CDK1 及 Bcl-2 蛋白表达量显著升高（$P < 0.05$），cleaved Caspase-3、Bax 蛋白表达量显著降低（$P < 0.05$），见图 8、表 4。

2.7 高表达 eIF4E 对 K562 细胞 JAK/STAT3 信号通路相关蛋白表达的影响

与 NC 组相比，隐丹参酮组 p-JAK/JAK 和 p-STAT3/STAT3 比值均显著降低（$F = 29.215$，26.394，$P < 0.05$）。与隐丹参酮组比较，隐丹参酮＋pcDNA-NC 组 p-JAK/JAK 和 p-STAT3/STAT3 比值无明显变化（$F = 2.712$，1.527，$P > 0.05$），隐丹参酮＋pcDNA-eIF4E 组 p-JAK/JAK 和 p-STAT3/STAT3 比值显著升高（$F = 28.575$，31.843，$P < 0.05$），见图 9。

3 讨论

CML 是一种影响血液及骨髓的恶性血液性疾病，其主要特点是产生的大量不成熟白细胞在骨髓内聚集，干扰骨髓的正常造血功能，导致患者出现贫血、感染等症状，严重影响患者生命健康和生活

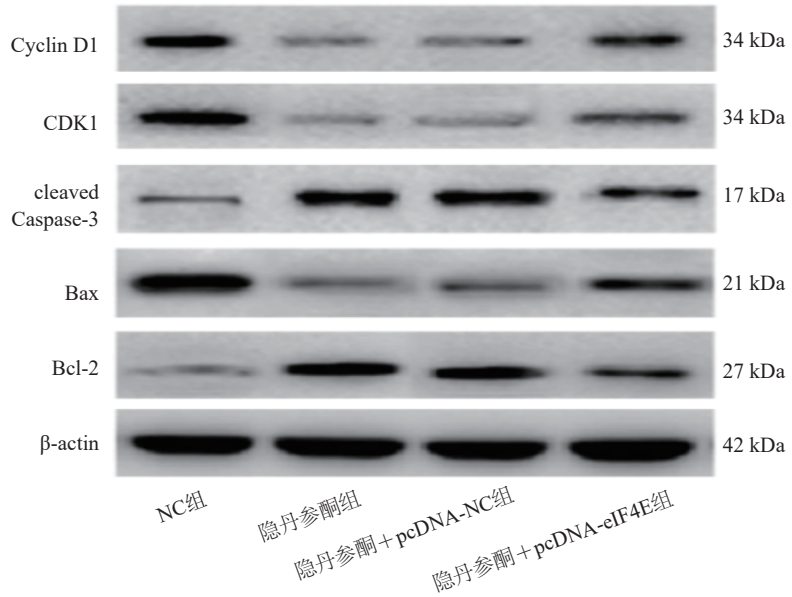


图 8 高表达 eIF4E 对 K562 细胞周期分布和凋亡相关蛋白表达的影响

Figure 8 Effect of high eIF4E expression on cell cycle distribution and expression of apoptosis-related proteins in K562 cells

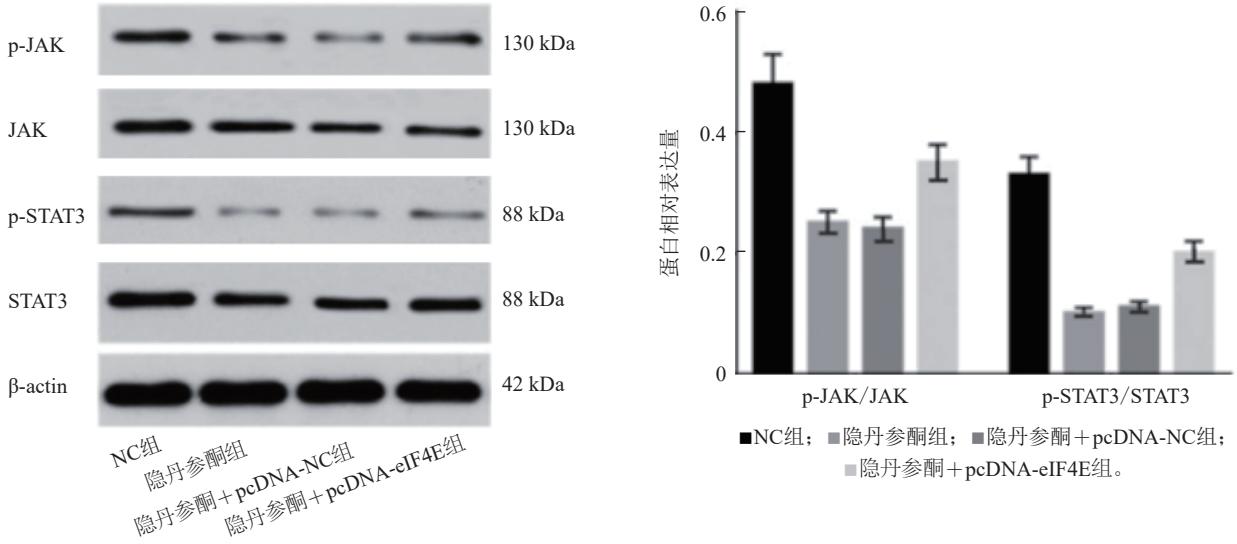
表 4 高表达 eIF4E 对 K562 细胞增殖、细胞周期分布和凋亡相关蛋白表达的影响

Table 4 Effect of high eIF4E expression on proliferation, cell cycle distribution and expression of apoptosis-related proteins in K562 cells

项目	NC组	隐丹参酮组	隐丹参酮＋pcDNA-NC组	隐丹参酮＋pcDNA-eIF4E组	*F*值	P值
增殖抑制率/%	3.27±0.33	55.16±5.48*	54.52±5.60	21.70±2.23#	49.354	＜0.05
Cyclin D1	0.55±0.06	0.20±0.02*	0.22±0.02	0.40±0.04#	31.150	＜0.05
CDK1	0.62±0.06	0.13±0.01*	0.15±0.01	0.39±0.04#	33.285	＜0.05
Bcl-2	1.13±0.11	0.28±0.03*	0.30±0.03	0.54±0.05#	27.159	＜0.05
Bax	0.16±0.01	0.70±0.07*	0.71±0.07	0.42±0.04#	25.317	＜0.05
cleaved Caspase-3	0.14±0.01	0.66±0.06*	0.67±0.06	0.36±0.04#	20.304	＜0.05

注：与 NC 组比较，*P ＜ 0.05；与隐丹参酮组比较，#P ＜ 0.05。

Note: vs. the NC group, *P ＜ 0.05; vs. cryptotanshinone group, #P ＜ 0.05.



注：与 NC 组比较，*P ＜ 0.05；与隐丹参酮组比较，#P ＜ 0.05。

Note: vs. the NC group, *P ＜ 0.05; vs. cryptotanshinone group, #P ＜ 0.05.

图 9 高表达 eIF4E 对 K562 细胞 JAK/STAT3 信号通路相关蛋白表达的影响

Figure 9 Effect of high eIF4E expression on the expression of JAK/STAT3 signaling pathway related proteins in K562 cells

质量。当前化疗是 CML 的主要疗法，但其疗效有限[11]。开发疗效更佳的肿瘤药物以提高临床疗效，延长 CML 患者生存期，降低 CML 患者死亡率是当前临床亟待解决的问题。近年来，研究[5]发现隐丹参酮具有显著的抗肿瘤效果，可通过调控 STAT3/SIRT3 信号通路抑制卵巢癌细胞增殖；还可通过 PTEN/PI3K/AKT 途径抑制膀胱癌细胞增殖及促进细胞凋亡[12]。本研究以 K562 细胞为研究对象，从细胞试验探究隐丹参酮在 CML 中的作用效果。结果显示，不同浓度的隐丹参酮处理后，K562 细胞增殖抑制率、G1 周期细胞数量和细胞凋亡率均显著升高。同时 WB 法检测结果显示，隐丹参酮作用于 K562 细胞可显著下调 Cyclin D1、CDK1 及 Bcl-2 蛋白表达，显著上调 cleaved Caspase-3 和 Bax 蛋白

表达。Cyclin D1 和 CDK1 是细胞周期进程中的关键调控因子，Cyclin D1 主要控制细胞周期从 G1 期向 S 期发展，CDK1 通过形成促有丝分裂因子促进细胞周期进程。Bcl-2 家族是细胞凋亡的关键调节因子，Bcl-2 和 Bax 均为该家族成员，Bcl-2 为凋亡因子，Bax 为促凋亡因子；Caspase 家族蛋白活化是细胞凋亡典型的生物学特征，细胞发生凋亡时，Caspase-3 切割产生 cleaved Caspase-3，进而破坏细胞功能，促进细胞凋亡。隐丹参酮对上述蛋白表达的调控作用进一步证实隐丹参酮可抑制 CML 细胞增殖、阻滞细胞周期进程、促进细胞凋亡。

CML 的发生发展与癌基因的异常活动密切相关。据报道[13]，真核细胞翻译起始因子与 CML 的增殖、侵袭和转移等恶性生物学行为具有相关性。eIF4E 是真核细胞翻译起始因子家族成员之一，正常情况下表达水平极低。当 eIF4E 异常表达会影响细胞恶性转化，eIF4E 通过调控多种蛋白翻译的起始促进肿瘤的形成和进展[14]。研究[15]表明，靶向调控 eIF4E 可起到抑制肿瘤细胞增殖、侵袭和转移的作用。本研究结果显示，低表达 eIF4E 显著升高细胞增殖抑制率，显著下调 Cyclin D1、CDK1 及 Bcl-2 蛋白表达，上调 cleaved Caspase-3 和 Bax 蛋白表达。这说明低表达 eIF4E 抑制 K562 细胞增殖、诱导细胞阻滞于 G_1 期并促进细胞凋亡。本研究结果发现，隐丹参酮处理后 eIF4E 表达水平下降，而高表达 eIF4E 逆转了隐丹参酮对 K562 细胞增殖抑制、细胞周期阻滞和凋亡诱导的作用，提示隐丹参酮可能是通过抑制 eIF4E 表达发挥抗 CML 的作用。

JAK/STAT3 信号通路参与肿瘤发生、进展的重要转导途径。研究[16—17]发现，JAK/STAT3 信号通路在血液性疾病的发生发展中起着重要作用。研究[18]报道，抑制 JAK/STAT3 信号通路活化可抑制人慢性髓系白血病细胞生长和 CML 细胞增殖，还可增强急性 B 淋巴细胞白血病细胞对 MG-132 的敏感性[19]。在本研究中，隐丹参酮处理 K562 细胞后 JAK/STAT3 信号通路中 JAK 和 STAT3 蛋白质磷酸化水平降低，说明隐丹参酮可能通过抑制 JAK/STAT3 信号通路进而抑制 CML 细胞增殖、阻滞细胞周期进程并促进细胞凋亡。此外，高表达 eIF4E 逆转了隐丹参酮对 JAK/STAT3 信号通路蛋白的抑制作用，提示隐丹参酮可能通过 eIF4E 调控 JAK/STAT3 信号通路发挥抗 CML 的效果。

4 结论

综上所述，隐丹参酮可抑制 CML 细胞增殖、阻滞细胞周期进程以及诱导细胞凋亡，其作用机制可能与调控 eIF4E 介导 JAK/STAT3 信号通路有关。本研究为 CML 的治疗提供了候选药物和新思路，但本研究内容有限，隐丹参酮在 CML 中的作用机制仍需进一步研究验证。

参考文献：

[1] Athale U, Hijiya N, Patterson B C, *et al*. Management of chronic myeloid leukemia in children and adolescents: Recommendations from the Children's Oncology Group CML Working Group[J]. Pediatr Blood Cancer, 2019, 66(9): e27827.

[2] 江佩芳, 罗璐婷, 胡建达. 慢性粒细胞白血病诊治进展[J]. 白血病·淋巴瘤, 2020, (4): 202-205.

[3] 张欢, 马洪刚. 酪氨酸激酶抑制剂治疗慢性粒细胞白血病患儿的进展与展望[J]. 检验医学与临床, 2024, 21(11): 1660-1664.

[4] Wu Y H, Wu Y R, Li B, *et al*. Cryptotanshinone: A review of its pharmacology activities and molecular mechanisms[J]. Fitoterapia, 2020, 145: 104633.

[5] 张佳, 李明花, 袁星, 等. 隐丹参酮抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 中医研究, 2020, 33(7): 76-80.

[6] Han Z, Liu S, Lin H, *et al*. Inhibition of murine hepatoma tumor growth by cryptotanshinone involves TLR7-dependent activation of macrophages and induction of adaptive antitumor immune defenses[J]. Cancer Immunol Immunother, 2019, 68(7): 1073-1085.

[7] Borden K L. The eukaryotic translation initiation factor eIF4E wears a "cap" for many occasions[J]. Translation(Austin), 2020, 4(2): e1220899.

[8] Yang X, Zhong W, Cao R. Phosphorylation of the mRNA cap-binding protein eIF4E and cancer[J]. Cell Signal, 2020, 73: 109689.

[9] Jia X, Zhou H. Phospho-eIF4E: A new target for acute myeloid leukemia[J]. Curr Protein Pept Sci, 2021, 22(4): 328-335.

[10] Wang T, Zhang M, Khan M, *et al*. Cryptotanshinone suppresses ovarian cancer via simultaneous inhibition of glycolysis and oxidative phosphorylation[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 170: 115956.

[11] Özgür Yurttaş N, Eşkazan A E. Novel therapeutic approaches in chronic myeloid leukemia[J]. Leuk Res, 2020, 91: 106337.

[12] Liu Y, Lin F, Chen Y, *et al*. Cryptotanshinone inhibites bladder cancer cell proliferation and promotes apoptosis via the PTEN/PI3K/AKT pathway[J]. J Cancer, 2020, 11(2): 488-499.

[13] Huang L, He K, Wang J, *et al*. Inhibition of eukaryotic initiation factor 3B suppresses proliferation and promotes apoptosis of chronic myeloid leukemia cells[J]. Adv Clin Exp Med, 2019, 28(12): 1639-1645.

[14] Volpon L, Osborne M J, Borden K L B. Biochemical and structural insights into the eukaryotic translation initiation factor eIF4E[J]. Curr Protein Pept Sci, 2019, 20(6): 525-535.

[15] Maracci C, Motta S, Romagnoli A, *et al*. The mTOR/4E-BP1/eIF4E signalling pathway as a source of cancer drug targets[J]. Curr Med Chem, 2022, 29(20): 3501-3529.

[16] Ogiya D, Liu J, Ohguchi H, *et al*. The JAK-STAT pathway regulates CD38 on myeloma cells in the bone marrow microenvironment: therapeutic implications[J]. Blood, 2020, 136(20): 2334-2345.

[17] Liu M, Chen F, Yu R, *et al*. Synthesis and Cytotoxicity against K562 cells of 3-*O*-Angeloyl-20-*O*-acetyl ingenol, a derivative of ingenol mebutate[J]. Int J Mol Sci, 2021, 17(8): 1348.

[18] Yang H, Zhang J, Li J, *et al*. Overexpression of miR-574-3p suppresses proliferation and induces apoptosis of chronic myeloid leukemia cells via targeting IL6/JAK/STAT3 pathway[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(5): 4296-4302.

[19] Guo Y, Li X, He Z, *et al*. HDAC3 silencing enhances acute B lymphoblastic leukaemia cells sensitivity to MG-132 by inhibiting the JAK/Signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway[J]. Chemotherapy, 2020, 65(3-4): 85-100.

（编辑：沈佳婕）