紫草素调节 cAMP/PKA/CREB 信号通路对多发性骨髓瘤细胞的影响

陈巧辉[1]，陈德志[1]，许燕玉[1]，林升禄[2]，梁仁佩[3]，王佳坤[1*]
（1. 中国人民解放军联勤保障部队第910医院药剂科，福建泉州 362000；2. 福建医科大学附属协和医院药学部，福建福州 350000；
3. 中国人民解放军联勤保障部队第910医院肿瘤血液内科，福建泉州 362000）

摘要：目的 探讨紫草素调节环磷酸腺苷（cyclic adenosine monophosphate，cAMP）/ 蛋白激酶（protein kinase，PK）A/cAMP 反应元件结合蛋白（cAMP response element binding protein，CREB）信号通路对多发性骨髓瘤（multiple myeloma，MM）细胞的影响。**方法** 取对数生长的 RPMI-8226 细胞，分为 A（空白）组、B（250 μmol/L 紫草素）组、C（500 μmol/L 紫草素）组、D（1 000 μmol/L 紫草素）组、E（SQ22536）组、F（1 000 μmol/L 紫草素＋ SQ22536）组。Hoechst 33324 染色、流式细胞术观察细胞凋亡变化；细胞计数（cell counting kit，CCK）-8 法检测细胞增殖；酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）检测 cAMP 水平；蛋白质印迹法（western blot，WB）检测通路相关蛋白及 cyclin D1、cleaved caspase-3 表达水平。**结果** 与 A 组相比，E 组 RPMI-8226 细胞增殖率、cyclin D1 表达显著增加，凋亡率、cAMP 水平、cleaved caspase-3、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达显著降低（$P < 0.05$），但 B、C、D 组细胞增殖率、cyclin D1 表达显著降低，凋亡率、cAMP 水平、cleaved caspase-3、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达显著增加，不同浓度差异具有统计学意义（$P < 0.05$）；与 E 组相比，F 组细胞增殖率、cyclin D1 表达显著降低，凋亡率、cAMP 水平、cleaved caspase-3、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达显著增加（$P < 0.05$）；与 D 组相比，F 组细胞增殖率、cyclin D1 表达显著增加，凋亡率、cAMP 水平、cleaved caspase-3、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达显著降低（$P < 0.05$）。**结论** 紫草素调节 cAMP/PKA/CREB 信号通路抑制 MM 细胞增殖，促进细胞凋亡。

关键词：紫草素；环磷酸腺苷 / 蛋白激酶 A/ 环磷酸腺苷反应元件结合蛋白信号通路；多发性骨髓瘤；增殖；凋亡
中图分类号：R733.3　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2024）06-0603-06
DOI：10.13683/j.wph.2024.06.006

Effect of shikonin on multiple myeloma cells by regulating the cAMP/PKA/CREB signaling pathway

CHEN Qiaohui[1], CHEN Dezhi[1], XU Yanyu[1], LIN Shenglu[2], LIANG Renpei[3], WANG Jiakun[1*]
(1. Department of Pharmacy, 910th Hospital, Joint Logistic Support Force, People's Liberation Army, Quanzhou 362000, Fujian Province, China; 2. Department of Pharmacy, Union Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fuzhou 350000, Fujian Province, China; 3. Department of Oncology and Hematology, 910th Hospital, Joint Logistic Support Force, People's Liberation Army, Quanzhou 362000, Fujian Province, China)

Abstract: ***Objective*** To investigate the effect of shikonin on cyclic adenosine monophosphate（cAMP）/protein kinase（PK）A/cAMP response element binding protein（CREB） signaling pathway on multiple myeloma cells. ***Methods*** The logarithmically grown RPMI-8226 cells were divided into A（blank） group, B（250 μmol/L shikonin） group, C（500 μmol/L shikonin） group, D（1 000 μmol/L） shikonin group, E（SQ22536） group and F（1 000 μmol/L shikonin＋SQ22536） group. The apoptosis was observed by Hoechst 33324 staining and flow cytometry. Cell counting kit（CCK）-8 was used to detect cell proliferation. The level of cAMP was detected by enzyme linked immunosorbent assay（ELISA）.

收稿日期：2024-01-09
作者简介：陈巧辉，主管药师，研究方向：骨髓瘤细胞相关药物研究。
通信作者：王佳坤，副主任药师，研究方向：骨髓瘤细胞相关药物研究。
基金项目：福建医科大学科研发展基金项目（2021QH1041）

The expression levels of pathway-related proteins, cyclin D1 and cleaved caspase-3 were detected by western blot. ***Results*** Compared with group A, the proliferation rate and cyclin D1 expression of RPMI-8226 cells in group E were significantly increased, and the apoptosis rate, cAMP level, cleaved caspase-3, p-PKA/PKA, and p-CREB/CREB expressions were significantly decreased ($P<0.05$). However, cell proliferation rate and cyclin D1 expression were significantly decreased in groups B, C and D, and apoptosis rate, cAMP level, cleaved caspase-3, p-PKA/PKA, and p-CREB/CREB expression were significantly increased, with statistical differences among different concentrations ($P<0.05$). Compared with group E, cell proliferation rate and cyclin D1 expression in group F were significantly decreased, apoptosis rate, cAMP level, cleaved caspase-3, p-PKA/PKA, and p-CREB/CREB expression were significantly increased in group F ($P<0.05$). Compared with group D, cell proliferation rate and cyclin D1 expression in group F were significantly increased, apoptosis rate, cAMP level, cleaved caspase-3, p-PKA/PKA, and p-CREB/CREB expression were significantly decreased ($P<0.05$). ***Conclusion*** Shikonin inhibits the cell proliferation and promote apoptosis of MM cells by regulating the cAMP/PKA/CREB signaling pathway.

Key words: shikonin; cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A/cyclic adenosine monophosphate response element binding protein signaling pathway; multiple myeloma; proliferation; apoptosis

多发性骨髓瘤（multiple myeloma，MM）目前被认为是一种不可治愈的癌症，约占所有血液癌症的10%，5年生存率为40%，临床常伴有贫血、炎症感染、肾功能下降及骨痛等[1—2]。目前治疗MM药物包括来那度胺、硼替佐米及沙利度胺等，但长期服用这些合成药物常会引发疲劳、食欲不振、恶心及腹泻等不良反应[3]。因此，亟需开发更有效、毒性小的药物治疗MM。紫草素是从紫草中提取的萘醌色素，其表现出广泛的生物活性，特别是抗癌活性[4]。Li等[5]研究提出，紫草素在MM中可诱导乳酸脱氢酶释放和细胞死亡，是一种潜在的治疗MM药物。环磷酸腺苷（cyclic adenosine monophosphate，cAMP）是第1个被发现的第二信使，主要通过蛋白激酶（protein kinase，PK）A及其下游效应子如cAMP反应元件结合蛋白（cAMP response element binding protein，CREB）参与许多生理和病理过程，在细胞信号转导中起关键作用，尤其是肿瘤细胞的生长与恶性发展，包括MM在内[6]。但关于紫草素对治疗MM恶性发展是否与cAMP/PKA/CREB信号通路有关尚未报道，因此本研究旨在探讨紫草素调节cAMP/PKA/CREB信号通路对MM细胞的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

人MM细胞系RPMI-8226购自美国典型培养物保藏中心；链霉素-青霉素（15140122）购自美国纽约赛默飞世尔科技公司；细胞计数（cell counting kit，CCK）-8试剂盒（A311-01）购自南京诺唯赞生物科技公司；胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）（10099141）购自广州赛国生物科技有限公司；化学发光试剂盒（P0018M）、Hoechst染色试剂盒（C0003）、Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒（C1062M）均购自上海碧云天公司；紫草素（纯度≥98.0%，ZBP-011029）购自青岛捷世康生物科技有限公司；cAMP抑制剂-SQ22536（98.41%，HY-100396）购自美国新泽西MCE公司；细胞周期素D1（cyclin D1，ab16663）、裂解的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3（cleaved caspase-3，ab32042）、PKA（ab32514）、CREB（ab32515）、磷酸化（phosphorylation，p）-PKA（ab32390）、p-CREB单克隆抗体（ab32096）、酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（ab138880）均购自英国剑桥Abcam公司。流式细胞仪（BD Accuri C6）购自北京北嘉美仪生物科技有

限公司；荧光显微镜（BX53）购自日本奥林巴斯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与分组

RPMI-8226 细胞培养在补充有 10% FBS、100 U/ml 青霉素及 100 μg/ml 链霉素的 RPMI-1640 培养基中，保持在 5% 二氧化碳、37℃培养箱中。取对数生长的 RPMI-8226 细胞，分为 A（空白）组、B（250 μmol/L 紫草素）组、C（500 μmol/L 紫草素）组、D（1 000 μmol/L 紫草素）组[5]、E（SQ22536）组[7]、F（1 000 μmol/L 紫草素＋ SQ22536）组。所有细胞均处理 48 h。

1.2.2 Hoechst 33324 染色观察细胞形态变化

将 RPMI-8226 细胞接种到 6 孔板（1×10^5 细胞 / 孔）中，每孔按照上述分组以紫草素、SQ22536 处理。随后消化、收集细胞并用固定液固定，在 37℃、黑暗中用 1 μg/ml 的 Hoechst 33324 对细胞染色 10 min。最后甘油封片，在荧光显微镜下观察细胞形态变化并拍照。

1.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡

将按照上述分组方法处理的 RPMI-8226 细胞以 5×10^5 个 / 孔的密度接种在 6 孔培养板，48 h 后分离不同孔中的细胞。用磷酸盐缓冲液收集，并在黑暗、室温下用膜联蛋白 V 和碘化丙锭染色，经流式细胞仪检测凋亡细胞，并使用 FlowJo10 软件分析。

1.2.4 CCK-8 法检测细胞增殖

将 RPMI-8226 细胞以每孔 20 000 个细胞的密度接种到 96 孔板中，并在含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基中孵育，用不同浓度的紫草素及 SQ22536 处理 48 h 后，向每个孔中加入 10 μl CCK-8 溶液，并在 37 ℃和 5% 二氧化碳下孵育，通过酶标仪在 450 nm 处测量吸光度。

1.2.5 ELISA 检测 cAMP 水平

收集各组细胞培养液，1 000 *g* 离心 20 min 分离上清液，ELISA 法检测细胞上清液中 cAMP 水平。按照 ELISA 试剂盒说明书制作标准曲线，用酶标仪检测波长 450 nm 处的吸光度，计算上清液中 cAMP 水平。

1.2.6 蛋白质印迹法（western blot，WB）检测通路相关蛋白及 cyclin D1、cleaved caspase-3 表达水平

收集细胞并用细胞裂解缓冲液匀浆，匀浆以 12 000 g 离心 10 min 以提取总蛋白质。使用 BCA 蛋白检测试剂盒测定蛋白浓度后，在 4% ～ 12% 梯度凝胶中通过十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺分离，然后将其印迹到聚偏二氟乙烯膜膜上。室温下将膜浸泡在封闭缓冲液中，然后与兔源一抗（cyclin D1、cleaved caspase-3、PKA、CREB、p-PKA、p-CREB）一起孵育过夜。次日，在室温下将膜与辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗孵育 2 h。最后，通过化学发光法观察目标蛋白条带，Image J 软件分析蛋白表达，β- 肌动蛋白（actin）用作内部参考。

1.3 统计学方法

采用 SPSS26.0 软件分析结果，计量资料均符合正态分布，以（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较行 *SNK-q* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 紫草素对各组 RPMI-8226 细胞形态及凋亡率变化的影响

与 A 组相比，B、C 及 D 组均观察到明显的凋亡特征，如细胞核浓缩、体收缩以及细胞数量减少，细胞凋亡明显增加，不同浓度具有统计学差异（$P<0.05$），以 D 组最为显著；但 E 组尚未发现细胞凋亡特征，凋亡率较 A 组降低（$P<0.05$），而 F 组细胞凋亡特征明显减弱，较 D 组凋亡率显著降低（$P<0.05$），凋亡率较 E 组显著增加，增殖率显著降低（$P<0.05$）。见图 1、表 1。

2.2 紫草素对各组 RPMI-8226 细胞增殖率、cAMP 水平变化的影响

与 A 组相比，E 组 RPMI-8226 细胞增殖率显著

增加，cAMP 水平显著降低（$P < 0.05$），但 B 紫草素组、C 组、D 组细胞增殖率显著降低，cAMP 水平显著增加，不同浓度具有统计学差异（$P < 0.05$）；与 E 组相比，F 组细胞增殖率显著降低，cAMP 水平显著增加（$P < 0.05$）；与 D 组相比，F 组细胞增殖率显著增加，cAMP 水平显著降低（$P < 0.05$），见表 1。

表 1 各组 RPMI-8226 细胞凋亡率、增殖率和 cAMP 水平变化比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 1 Comparison of apoptotic rate, proliferation rate and cAMP level of RPMI-8226 cells in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	凋亡率/%	增殖率/%	cAMP/nmol·L^{-1}
A组	11.82±1.25	93.64±5.38	5.11±0.57
B组	18.96±1.96*	72.85±7.42*	7.24±0.75*
C组	26.64±2.77*$^{\#}$	53.27±5.38*$^{\#}$	10.03±1.03*$^{\#}$
D组	37.28±3.85*$^{\#\blacktriangle}$	41.05±4.27*$^{\#\blacktriangle}$	14.03±1.42*$^{\#\blacktriangle}$
E组	7.01±0.82*	128.28±13.05*	3.24±0.36*
F组	18.16±1.94$^{\triangle\blacktriangledown}$	69.85±7.08$^{\triangle\blacktriangledown}$	7.14±0.73$^{\triangle\blacktriangledown}$

注：与 A 组比较，*$P < 0.05$；与 B 组比较，$^{\#}P < 0.05$；与 C 组比较，$^{\blacktriangle}P < 0.05$；与 D 组比较，$^{\blacktriangledown}P < 0.05$；与 E 组比较，$^{\triangle}P < 0.05$。

Note: *vs* the group A, *$P < 0.05$; *vs* the group B, $^{\#}P < 0.05$; *vs* the group C, $^{\blacktriangle}P < 0.05$; *vs* the group D, $^{\blacktriangledown}P < 0.05$; *vs* the group E, $^{\triangle}P < 0.05$.

2.3 紫草素对 RPMI-8226 细胞 cyclin D1、cleaved caspase-3、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达的影响

与 A 组相比，E 组 cyclin D1 表达显著增加，cleaved caspase-3、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达显著降低（$P < 0.05$），但 B 组、C 组、D 组 cyclin D1 表达显著降低，cleaved caspase-3、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达显著增加，不同浓度具有统计学差异（$P < 0.05$）；与 E 组相比，F 组 cyclin D1 表达显著降低，cleaved caspase-3、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达显著增加（$P < 0.05$）；与 D 组相比，F 组 cyclin D1 表达显著增加，cleaved caspase-3、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达显著降低（$P < 0.05$），见图 2、表 2。

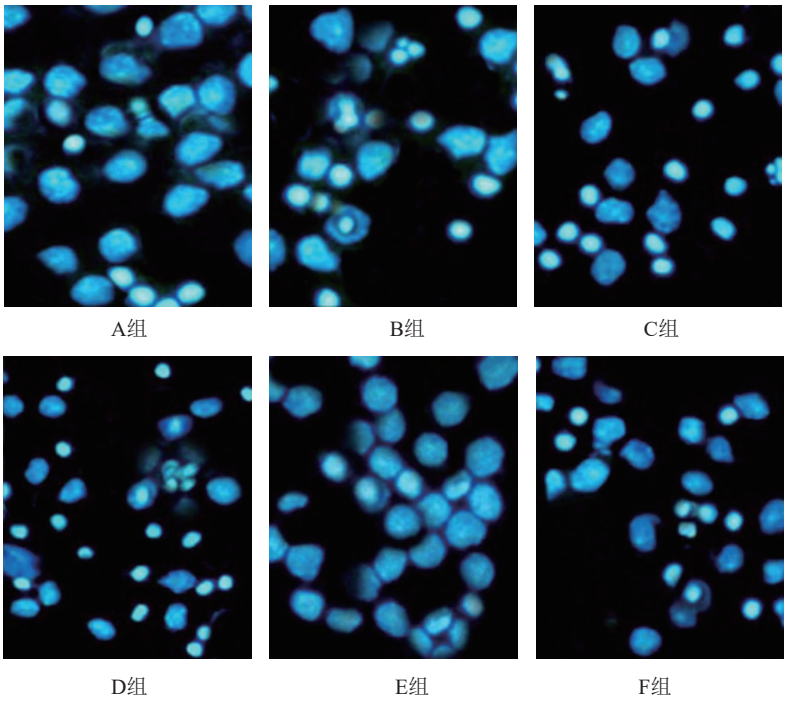


图 1 细胞形态变化（×400）

Figure 1 Changes of cell morphological（×400）

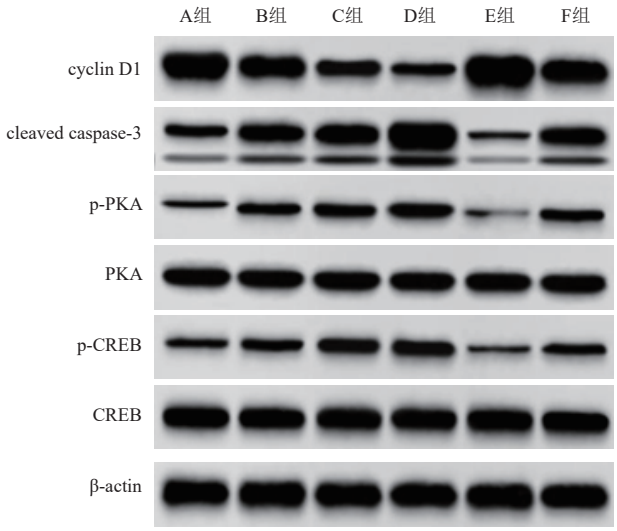


图 2 RPMI-8226 细胞各蛋白表达

Figure 2 Expression of proteins in RPMI-8226 cells

表 2 RPMI-8226 细胞 cyclin D1、cleaved caspase-3、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达变化比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of the expression of cyclin D1, cleaved caspase-3, p-PKA/PKA and p-CREB/CREB in RPMI-8226 cells ($\bar{x}\pm s$)

组别	cyclin D1/β-actin	cleaved caspase-3/β-actin	p-PKA/PKA	p-CREB/CREB
A组	1.37±0.15	0.49±0.05	0.26±0.03	0.34±0.04
B组	1.02±0.11*	0.72±0.08*	0.47±0.05*	0.48±0.05*
C组	0.72±0.08*#	0.96±0.10*#	0.63±0.07*#	0.66±0.07*#
D组	0.44±0.05*#▲	1.48±0.16*#▲	0.86±0.09*#▲	0.83±0.09*#▲
E组	1.76±0.18*	0.24±0.03*	0.11±0.02*	0.16±0.02*
F组	0.96±0.10△▼	0.68±0.07△▼	0.43±0.05△▼	0.44±0.05△▼

注：与 A 组比较，*$P<0.05$；与 B 组比较，#$P<0.05$；与 C 组比较，▲$P<0.05$；与 D 组比较，▼$P<0.05$；与 E 组比较，△$P<0.05$。

Note: *vs* the group A, *$P<0.05$; *vs* the group B, #$P<0.05$; *vs* the group C, ▲$P<0.05$; *vs* the group D, ▼$P<0.05$; *vs* the group E, △$P<0.05$.

3 讨论

MM 是一种复杂的血液恶性肿瘤，其特征为骨髓中浆细胞的异常增殖，发病率逐年上升，患者预后较差[8]。虽然有许多治疗方法，包括新药的批准、干细胞移植及高剂量化疗等，但对于复发或难治疾病，仍需不断推出新的、更有效的方法[9]。

由于传统中草药及其活性成分在肿瘤治疗中的低毒性和高效率，已被广泛用于临床实践[10]。紫草素是一种天然化合物，具有多种生物活性，在抗癌、抗炎等方面均有报道[11—13]。有研究表明，紫草素可抑制上皮间质转化及癌细胞的迁移和侵袭，是一种治疗三阴性乳腺癌的潜在药物[14]。除植物来源，紫草素还可通过化学合成和生物合成得到，极大推动紫草素的临床应用[15]。早期研究表明，紫草素可能通过影响半胱天冬酶表达，在 MM 细胞中起到诱导凋亡的潜在作用，具有治疗 MM 的潜力[16]。本研究中，不同浓度的紫草素均可抑制 RPMI-8226 细胞增殖，诱导其凋亡，并具有剂量依赖性，提示紫草素对 RPMI-8226 细胞可发挥抗肿瘤作用，与先前研究报道一致。WB 结果显示，不同浓度的紫草素可上调凋亡蛋白 cleaved caspase-3 表达，下调增殖蛋白 cyclin D1 表达，进一步表明紫草素可抑制 RPMI-8226细胞的增殖，且在一定范围内，浓度越高，作用效果越显著，表明紫草素可干预 MM 发展，为其治疗提供依据。

CAMP/PKA/CREB 信号在多种人类癌症中具有重要作用。PKA 是 cAMP 的主要目标，CREB 是 cAMP 反应元件结合蛋白，亦是 PKA 下游蛋白，cAMP 在细胞中广泛表达，并直接调节细胞生长、代谢、分化和凋亡、基因表达等各种细胞生物过程或行为，当 cAMP 水平增加时，可结合 PKA 底物并发生磷酸化而发挥作用[17—18]。如罗氟司特通过激活 cAMP/PKA/CREB 通路以及上调下游蛋白的表达，增强卵巢癌细胞对顺铂（DDP）的敏感性，逆转卵巢癌细胞对其的耐药性，在临床治疗中有很大的应用前景[19]。杭海芳等[20]研究表明，提高 cAMP 浓度可诱导 MM U266 细胞增殖并诱导其凋亡，具有浓度依赖性，推测 cAMP 及其下游作用蛋白可能参与 MM 的发展。本研究中，RPMI-8226 细胞在经不同浓度的紫草素处理后，细胞上清液中 cAMP 浓度增加，p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达上调，RPMI-8226 细胞的增殖被抑制，提示

紫草素可能通过激活 cAMP/PKA/CREB 信号通路对 RPMI-8226 细胞增殖发挥抑制作用。最后实验以 cAMP 抑制剂 -SQ22536 进行反向验证，结果显示 SQ22536 的加入可降低 cAMP 水平，抑制 p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达，促进 RPMI-8226 细胞增殖，并抑制细胞凋亡；与紫草素共同作用时，SQ22536 逆转紫草素对 RPMI-8226 细胞的作用，表明紫草素对 RPMI-8226 细胞的抗肿瘤作用，推测可能与激活 cAMP/PKA/CREB 信号通路有关。

4 结论

综上所述，紫草素通过调节 cAMP/PKA/CREB 信号通路抑制 MM 细胞增殖，并促进细胞凋亡，为其临床应用提供可能，但由于癌症发病机制复杂，关于紫草素如何调控 cAMP/PKA/CREB 信号通路发挥作用，以及紫草素能否通过其他途径调控 MM 的生物学行为，仍有待进一步分析，后续将采用其他 MM 细胞系，并结合基因敲除实验继续核验该结论。

参考文献：

[1] 赵辉, 郭欢绪, 刘强. miR-32-5p靶向CEBPA调控EGFR/β-catenin信号通路影响骨髓瘤细胞的增殖、凋亡和侵袭[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(15): 2591-2596.

[2] Hsu CM, Yen CH, Wang SC, *et al.* Emodin ameliorates the efficacy of carfilzomib in multiple myeloma cells via apoptosis and autophagy[J]. Biomedicines, 2022, 10(7): 1638-1647.

[3] Zhu F, Jiang D, Zhang M, *et al.* 2,4-Dihydroxy-3'-methoxy-4'-ethoxychalcone suppresses cell proliferation and induces apoptosis of multiple myeloma via the PI3K/akt/mTOR signaling pathway[J]. Pharm Biol, 2019, 57(1): 641-648.

[4] Xu Z, Huang L, Zhang T, *et al.* Shikonin inhibits the proliferation of cervical cancer cells via FAK/AKT/GSK3β signalling[J]. Oncol Lett, 2022, 24(3): 304-313.

[5] Li W, Fu H, Fang L, *et al.* Shikonin induces ferroptosis in multiple myeloma via GOT1-mediated ferritinophagy[J]. Front Oncol, 2022, 12(1): 1025067-1025081.

[6] Zhang H, Kong Q, Wang J, *et al.* Complex roles of cAMP-PKA-CREB signaling in cancer[J]. Exp Hematol Oncol, 2020, 9(1): 32-44.

[7] 李熠, 冯健. Nrf2/HO-1、cAMP/PKA在TGR5减轻高糖，高脂诱导H9C2心肌细胞损伤中的作用机制[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(21): 3667-3673.

[8] Yang X, Huang H, Wang X, *et al.* Knockdown of lncRNA *SNHG16* suppresses multiple myeloma cell proliferation by sponging miR-342-3p[J]. Cancer Cell Int, 2020, 20(1): 38-48.

[9] He S, Tian W, Zhao J, *et al.* Carfilzomib inhibits the proliferation and apoptosis of multiple myeloma cells by inhibiting STAT1/COX-2/iNOS signaling pathway[J]. Transl Cancer Res, 2022, 11(1): 206-216.

[10] Liu Y, Yang S, Wang K, *et al.* Cellular senescence and cancer: focusing on traditional Chinese medicine and natural products[J]. Cell Prolif, 2020, 53(10): e12894.

[11] Li M, Chen C, Wang Q, *et al.* Glaucocalyxin A suppresses multiple myeloma progression *in vitro* and *in vivo* through inhibiting the activation of STAT3 signaling pathway[J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1): 683-696.

[12] 王祥香, 吴李仲, 吴祥基. 紫草素对鼻咽癌CNE1细胞免疫逃逸的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2022, 12(1): 2897-2903.

[13] 张换换, 陈卓, 赵想弟, 等. 紫草素通过抑制PKM2/PHD3/HIF-1α通路诱导肝癌细胞凋亡[J]. 南方医科大学学报, 2023, 43(1): 92-98.

[14] Bao C, Liu T, Qian L, *et al.* Shikonin inhibits migration and invasion of triple-negative breast cancer cells by suppressing epithelial-mesenchymal transition via miR-17-5p/PTEN/Akt pathway[J]. J Cancer, 2021, 12(1): 76-88.

[15] Yan C, Li Q, Sun Q, *et al.* Promising nanomedicines of shikonin for cancer therapy[J]. Int J Nanomedicine, 2023, 18(1): 1195-1218.

[16] Wada N, Kawano Y, Fujiwara S, *et al.* Shikonin, dually functions as a proteasome inhibitor and a necroptosis inducer in multiple myeloma cells[J]. Int J Oncol, 2015, 46(3): 963-972.

[17] Zhang H, Yang S, Wang J, *et al.* Blockade of AMPK-mediated cAMP-PKA-CREB/ATF1 signaling synergizes with aspirin to inhibit hepatocellular carcinoma[J]. Cancers(Basel), 2021, 13(7): 1738-1747.

（下转第 623 页）

[14] 范昊, 邵韩, 徐猛, 等. 脓毒症相关急性呼吸窘迫综合征患者血清Lac、D-D、sTM、ESM-1的表达及其临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(4): 749-754.
[15] 李岩, 唐婷婷, 凌玉, 等. 升陷汤加味对脓毒症所致急性呼吸窘迫综合征血管外肺水指数和肺损伤预测评分的影响[J]. 国际中医中药杂志, 2023, 45(2): 160-164.
[16] 邓文君, 李燕, 陈翔宇, 等. 乌司他丁联合同步间歇指令通气及呼气末正压机械通气对急性呼吸窘迫综合征患者炎症因子水平及肺功能的影响[J]. 中国医药, 2021, 16(3): 357-360.
[17] 韩思琪, 哈伟, 师彦平. 大黄及其有效成分抗炎作用的研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(1): 303-316.
[18] 孙文豪, 杨扬, 陈恒, 等. 薄荷有效成分药理作用研究进展[J]. 江苏中医药, 2023, 55(5): 78-82.
[19] 陈榕, 何梓炫, 颜烨, 等. 栀子及其主要成分的药理及毒性作用研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(18): 6092-6105.
[20] 刘晓龙, 李春燕, 陈奇剑, 等. 黄芩主要活性成分和药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(10): 979-985.

(编辑：王 佳)

(上接第608页)

[18] Wu J, Gan Y, Luo H, *et al.* β-patchoulene ameliorates water transport and the mucus barrier in 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis rats via the cAMP/PKA/CREB signaling pathway[J]. Front Pharmacol, 2021, 12(1): 689491-689503.
[19] Gong S, Chen Y, Meng F, *et al.* Roflumilast enhances cisplatin-sensitivity and reverses cisplatin-resistance of ovarian cancer cells via cAMP/PKA/CREB-FtMt signalling axis[J]. Cell Prolif, 2018, 51(5): e12474.
[20] 杭海芳, 王莹莹, 朱琦. 环腺苷酸拟似物8-CPT-cAMP诱导骨髓瘤细胞凋亡的实验研究[J]. 中国癌症杂志, 2014, 24(10): 755-760.

(编辑：沈 盈)