徐长卿中的天然产物XCQ-9对Jurkat细胞增殖和凋亡的影响及机制研究Δ

韦学耐[1,2*]，杨　坤[1,2]，刘　琴[1,2]，赵　鹏[1,2]，晏　英[3]，李艳梅[1,2#]（1.贵州医科大学药学院，贵阳　550025；2.贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室，贵阳　550014；3.贵州医科大学医药卫生管理学院，贵阳　550025）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）01-0047-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.01.09

摘　要　目的　探讨徐长卿中天然产物XCQ-9抑制人急性T淋巴细胞白血病Jurkat细胞增殖和凋亡的作用及可能机制。**方法**　以Jurkat细胞作为白血病细胞模型，采用MTT法测定0（空白对照）、2.5、5、10、20、40 μmol/L XCQ-9作用24、48、72 h后对Jurkat细胞增殖的抑制作用。用0（空白对照）、2.5、5、10 μmol/L XCQ-9作用于Jurkat细胞24、48 h后，利用流式细胞术分析XCQ-9对细胞周期和细胞凋亡的影响，并通过Western blot实验检测上述药物作用24 h后细胞中胱天蛋白酶9（Caspase-9）、活化的Caspase-9（Cleaved Caspase-9）、Caspase-3、活化的Caspase-3（Cleaved Caspase-3）、聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶（PARP）、活化的PARP（Cleaved PARP）、细胞周期蛋白依赖性激酶1（CDK1）和细胞周期蛋白B1（Cyclin B1）的表达情况。**结果**　与空白对照比较，不同浓度XCQ-9均可显著降低Jurkat细胞的存活率（$P<0.01$），并呈时间和浓度依赖性趋势。5、10 μmol/L XCQ-9作用48 h后均可显著诱导Jurkat细胞凋亡（$P<0.05$或$P<0.01$），将细胞周期阻滞在G_2期（$P<0.01$）。10 μmol/L XCQ-9作用24 h后，可显著下调细胞中CDK1、Caspase-9蛋白的表达（$P<0.01$），上调细胞中Cyclin B1、Cleaved Caspase-9、Cleaved Caspase-3和Cleaved PARP蛋白的表达（$P<0.05$或$P<0.01$）。**结论**　XCQ-9通过诱导G_2期阻滞抑制Jurkat细胞增殖，并激活Caspase通路促进细胞凋亡，从而发挥其抗肿瘤作用。

关键词　XCQ-9；徐长卿；人急性T淋巴细胞白血病；Jurkat细胞；细胞凋亡；细胞周期；胱天蛋白酶途径

Study on the effect of natural compound XCQ-9 of *Cynanchum paniculatum* on the proliferation and apoptosis of Jurkat cell and its mechanism

WEI Xuenai[1,2], YANG Kun[1,2], LIU Qin[1,2], ZHAO Peng[1,2], YAN Ying[3], LI Yanmei[1,2] (1. School of Pharmaceutical, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products, Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China; 3. School of Medicine and Health Management, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the inhibitory effect of natural compound XCQ-9 of *Cynanchum paniculatum* on the proliferation and apoptosis of Jurkat cell line of human T-cell acute lymphoblastic leukemia and its possible mechanism. **METHODS** Jurkat cell was used as the leukemia cell model, and MTT assay was adopted to detect the inhibitory effects of 0 (blank control), 2.5, 5, 10, 20 and 40 μmol/L XCQ-9 on the proliferation of Jurkat cell after treated for 24, 48, 72 h. After treated with 0 (blank control), 2.5, 5, 10 μmol/L XCQ-9 for 24 h and 48 h, the cell cycle and apoptosis were analyzed by flow cytometry. The expressions of Caspase-9, Cleaved Caspase-9, Caspase-3, Cleaved Caspase-3, poly ADP-ribose poly-merase (PARP), Cleaved-PARP, cyclin-dependent kinase 1 (CDK1) and Cyclin B1 were detected by Western blot after treated for 24 h. **RESULTS** Compared with blank control group, XCQ-9 at different concentrations could significantly decrease the survival rate of Jurkat cells ($P<0.01$), and showed a dose and time-dependent manner. After 48 h treatment of 5, 10 μmol/L XCQ-9, Jurkat cell apoptosis was induced significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$), and the cell was arrested in G_2 phase ($P<0.01$). After 24 h treatment of 10 μmol/L XCQ-9, the protein expressions of CDK1 and Caspase-9 were remarkably down-regulated ($P<0.01$), while the protein expressions of Cyclin B1, Cleaved Caspase-9, Cleaved Caspase-3 and Cleaved PARP were significantly up-regulated ($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSIONS** XCQ-9 plays anti-tumor effect through inducing G_2 phase arrest to inhibit proliferation and activating Caspase pathway to increase apoptosis.

KEYWORDS　XCQ-9; *Cynanchum paniculatum*; human T-cell acute lymphoblastic leukemia; Jurkat cell; cell apoptosis; cell cycle; Caspase pathway

Δ **基金项目**　国家自然科学基金资助项目（No.81872772，No.81960546，No.U1812403）；贵州省科技计划项目（No.QKHPTRC〔2020〕5008）

＊**第一作者**　硕士研究生。研究方向：小分子化合物抗肿瘤基础。E-mail：2531392591@qq.com

＃**通信作者**　研究员，硕士生导师，博士。研究方向：小分子化合物抗肿瘤基础。电话：0851-83834026。E-mail：liyanmei518@hotmail.com

急性淋巴细胞白血病（acute lymphoblastic leukemia，ALL）是以未成熟T或B淋巴细胞异常增生为特征的恶性克隆性疾病，根据免疫表型一般分为T细胞型和B细胞型[1]。ALL多发病于2～5岁，是儿童最常见和发病率最高的恶性肿瘤，且其发病率呈逐年上升的趋势[2－4]。其中，急性T淋巴细胞白血病（T-cell acute lymphoblastic leukemia，T-ALL）是一种侵袭性疾病，在儿童ALL病例中占10%～15%[5]。目前临床上治疗T-ALL的化疗药物有长春新碱、柔红霉素、可的松和依托泊苷等，但上述药物具有高毒性和耐药性，这在一定程度上限制了其临床应用[6－7]。且有研究表明，这些化疗药物的耐药性已成为T-ALL患儿复发的主要原因，严重影响患儿的预后[8]。因此，开发新型抗T-ALL的药物是临床迫切需要的。

徐长卿 *Cynanchum paniculatum*（Bge.）Kitag.为萝摩科鹅绒藤属多年生草本植物，以干燥根和根茎入药。其味辛，性温，归肝、肾经，具有祛风化湿、止痛止痒的功能，用于治疗风湿、牙痛、跌打伤痛、风疹、湿疹等病症[9]。现代药理研究表明，徐长卿具有抗菌、抗病毒、调节免疫、抗肿瘤等药理作用[10]。徐长卿中已报道的化学成分有168种，其中C_{21}甾体类成分有47种[11]。本课题组前期对从徐长卿中提取分离得到的C_{21}甾体化合物进行了抗癌活性筛选，发现化合物XCQ-9具有抗人急性T淋巴细胞白血病Jurkat细胞的作用，其结构式见图1。本研究拟通过体外实验初步探索XCQ-9对Jurkat细胞增殖和凋亡的影响，并从经典的胱天蛋白酶（Caspase）途径和细胞周期两个方面来考察其可能的作用机制，以期为将XCQ-9开发为治疗T-ALL的药物提供实验基础。

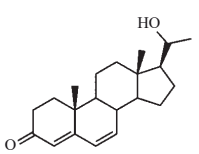


图1　XCQ-9的化学结构

1　材料

1.1　主要仪器

本研究所用的主要仪器有A2型生物安全柜（美国Thermo Fisher Scientific公司）、Microfuge型台式高速冷冻离心机（美国Backman公司）、Axi Vert AL型倒置光学显微镜（德国Zeiss公司）、Synergy2型多功能酶标仪（美国Gene公司）、PowerPac™ Basic型电泳仪（美国Bio-Rad公司）、ACEA NovoCyte型流式细胞仪[艾森生物（杭州）有限公司]、Odyssey&CLX型双色红外成像系统（美国LI-COR Odyssey公司）。

1.2　主要药品与试剂

XCQ-9为本课题组提取制备，分子式为$C_{21}H_{30}O_2$，纯度≥98%[12]；胎牛血清购自美国HyClone公司；RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司；Annexin Ⅴ-FITC凋亡检测试剂盒（批号0315976）购自美国BD公司；二甲基亚砜、MTT和二喹啉甲酸（BCA）蛋白浓度测定试剂盒（批号分别为401P031、810K052、20211213）均购自北京索莱宝科技有限公司；兔源甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）抗体（批号62u0922）购自美国Affinity公司；兔源细胞周期蛋白依赖性激酶1（cyclin-dependent kinase 1，CDK1）、细胞周期蛋白B1（Cyclin B1）抗体（批号分别为ab133327、ab32072）均购自美国Abcam公司；兔源Caspase-9、活化的Caspase-9（Cleaved Caspase-9）、Caspase-3、活化的Caspase-3（Cleaved Caspase-3）、聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶（poly ADP-ribose poly-merase，PARP）抗体和DyLight™800标记的抗兔免疫球蛋白G（IgG）二抗均购自美国Cell Signaling Technology公司。

1.3　细胞株

人急性T淋巴细胞白血病Jurkat细胞株购买于美国ATCC细胞库，现于本实验室保存。

2　方法

2.1　细胞培养

将Jurkat细胞接种于含5%胎牛血清的RPMI 1640培养基中，将细胞置于37 ℃、5%CO_2细胞培养箱中培养，取对数生长期的细胞进行后续实验。

2.2　XCQ-9对细胞增殖的影响

采用MTT法进行检测。取对数生长期的Jurkat细胞，按1×10^5个/孔接种于96孔板中，置于培养箱中常规培养。待细胞稳定后，将其分为空白对照组（0 μmol/L）和不同浓度（2.5、5、10、20、40 μmol/L，药物浓度根据前期预实验结果设置）的XCQ-9组，每组平行设置5个复孔。分别干预24、48、72 h后，加入10 μL含5 mg/mL的MTT试剂常规孵育4 h，然后再加入三联液（500 mL三联液中含十二烷基硫酸钠50 g、异丁醇25 mL和浓盐酸0.5 mL）100 μL，孵育过夜。使用酶标仪测定各孔在570 nm波长处的吸光度（A），计算细胞存活率[细胞存活率（%）=（给药组A/空白对照组A）×100%]。实验重复3次。

2.3　XCQ-9对细胞周期的影响

采用流式细胞术进行检测。取对数生长期细胞，按4×10^5个/孔接种于6孔板中，常规培养。待细胞稳定后，将其分为空白对照组（0 μmol/L）和不同浓度（2.5、5、10 μmol/L，浓度根据“2.2”项下MTT实验结果设置）的XCQ-9组，每组平行设置5个复孔，置于培养箱中常规培养。干预24、48 h后，以1 000 r/min离心4 min，收集细胞。用磷酸盐缓冲液（PBS）洗涤细胞，然后加入500 μL预冷的70%乙醇固定过夜，再次以1 000 r/min离心4 min去除乙醇，并用预冷的PBS洗涤细胞；加入含0.1

mg/mL RNase、50 μg/mL 碘化丙啶（propidium iodide，PI）和0.05%Triton-100的PBS，混匀，室温避光染色30 min，上样流式细胞仪测定各组细胞的细胞周期占比。实验重复3次。

2.4 XCQ-9对细胞凋亡的影响

取对数生长期细胞，按“2.3”项下方法接种、分组、给药、培养并收集细胞。用50 μL 1×Binding buffer混匀，并加入Annexin V-FITC和PI各2.5 μL，避光染色15 min，上样流式细胞仪检测和分析。实验重复3次。

2.5 XCQ-9对细胞中凋亡和周期相关蛋白表达的影响

采用Western blot法进行检测。取对数生长期细胞，按12×10^5个/皿接种于60 mm培养皿中，置于培养箱中常规培养。待细胞稳定后，将其分为空白对照组（0 μmol/L）和不同浓度（2.5、5、10 μmol/L，浓度设置依据同“2.3”项下）的XCQ-9组。干预24 h后收集细胞，用预冷的PBS清洗3次，加入80～150 μL含有1%苯甲基磺酰氟的RIPA裂解液，冰上裂解30 min，以12 000 r/min离心15 min，去沉淀得到细胞蛋白溶液。用BCA蛋白浓度检测试剂盒检测蛋白浓度，并将5×loading buffer和细胞蛋白溶液按1∶4的体积比混匀，95 ℃变性5 min，－80 ℃保存备用。在10%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶中，每孔加入50 μg蛋白，待蛋白分离完全后（电泳条件为电压100 V、时间2 h），转移（转膜条件为电流220 mA、时间2 h）到0.2 μm的聚偏二氟乙烯膜上，以3%牛血清白蛋白室温封闭1 h；加入相应的一抗（GAPDH、Cyclin B1、CDK1的稀释比例均为1∶5 000，Caspase-9、Cleaved Caspase-9、Caspase-3、Cleaved Caspase-3、PARP的稀释比例均为1∶1 000），4 ℃孵育过夜；Tris缓冲盐溶液（TBS）洗3次、每次5 min，加入DyLight™800标记的二抗（稀释比例均为1∶30 000），避光室温孵育1.5 h；TBS洗3次、每次5 min，用双色红外成像系统检测和分析。以目的蛋白条带灰度值与内参蛋白（GAPDH）条带灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达水平。实验重复3次。

2.6 统计学方法

采用SPSS 21.0软件进行统计分析，使用GraphPad Prism 9.0软件作图。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 XCQ-9对Jurkat细胞增殖的影响

与空白对照组比较，作用24、48、72 h后，XCQ-9不同浓度组细胞的存活率均显著降低（$P<0.01$），并呈时间和浓度依赖性趋势。结果见表1。

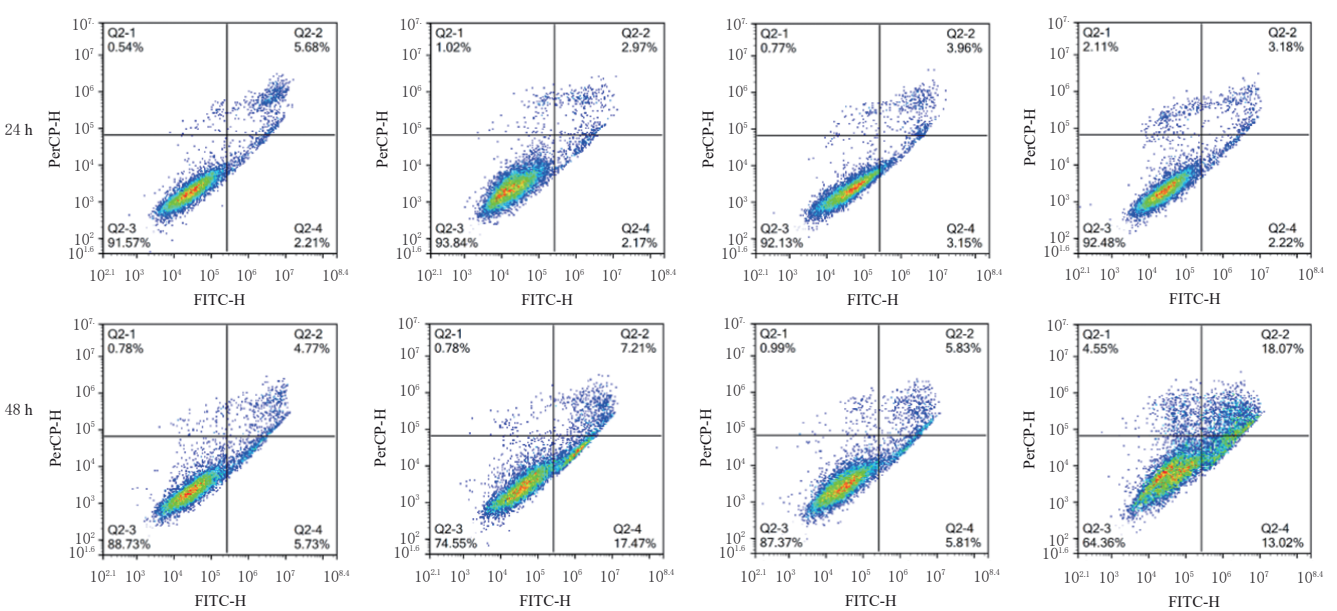
表1 XCQ-9干预不同时间后各组细胞的存活率测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=5$，%）

组别	24 h	48 h	72 h
空白对照组	100	100	100
XCQ-9 2.5 μmol/L组	82.59±1.45[a]	77.84±1.45[a]	72.58±2.40[a]
XCQ-9 5 μmol/L组	74.08±0.73[a]	59.14±2.07[a]	50.62±1.59[a]
XCQ-9 10 μmol/L组	61.04±2.41[a]	44.26±1.59[a]	34.48±0.56[a]
XCQ-9 20 μmol/L组	60.81±1.51[a]	38.19±1.34[a]	27.62±1.26[a]
XCQ-9 40 μmol/L组	61.20±1.55[a]	33.87±0.94[a]	22.99±0.14[a]

a：与空白对照组比较，$P<0.01$

3.2 XCQ-9对Jurkat细胞凋亡的影响

与空白对照组比较，作用24、48 h后，XCQ-9 5、10 μmol/L组细胞的凋亡率均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$），且呈浓度和时间依赖性趋势。结果见图2、表2。



A. 空白对照组　B. XCQ-9 2.5 μmol/L组　C. XCQ-9 5 μmol/L组　D. XCQ-9 10 μmol/L组

图2 XCQ-9干预24、48 h后各组细胞凋亡检测的流式细胞图

表2　XCQ-9干预24、48 h后各组细胞的凋亡率测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$，%）

组别	24 h	48 h
空白对照组	6.93±0.88	5.92±1.52
XCQ-9 2.5 μmol/L组	5.53±0.31	4.48±1.07
XCQ-9 5 μmol/L组	10.19±0.57[a]	12.79±2.99[b]
XCQ-9 10 μmol/L组	25.64±0.93[a]	34.64±6.25[a]

a：与空白对照组比较，$P<0.01$；b：与空白对照组比较，$P<0.05$

3.3　XCQ-9对Jurkat细胞周期的影响

与空白对照组比较，XCQ-9 10 μmol/L组干预24 h后及XCQ-9 5、10 μmol/L组干预48 h后，细胞中处于G_2期的比例均显著升高（$P<0.01$）。结果见表3、图3。

表3　XCQ-9干预24、48 h后各组细胞的细胞周期占比测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$，%）

组别	24 h			48 h		
	G_1期	S期	G_2期	G_1期	S期	G_2期
空白对照组	40.71±4.30	38.14±1.98	19.87±6.57	42.63±2.05	38.87±2.18	17.19±1.13
XCQ-9 2.5 μmol/L组	39.81±3.02	40.12±2.45	18.87±4.24	37.59±3.16	39.20±1.75	21.55±2.72
XCQ-9 5 μmol/L组	35.49±3.02	36.44±9.78	32.96±0.69	30.00±3.11	29.63±6.37	38.70±3.30[a]
XCQ-9 10 μmol/L组	23.87±2.42	24.21±1.61	47.63±3.83[a]	18.07±15.32	25.89±1.94	45.31±1.82[a]

a：与空白对照组比较，$P<0.01$

3.4　XCQ-9对细胞中凋亡和周期蛋白表达的影响结果

与空白对照组比较，XCQ-9 10 μmol/L组细胞中CDK1和Caspase-9蛋白表达显著下调（$P<0.01$），XCQ-9 2.5、5、10 μmol/L组细胞中Cyclin B1、Cleaved Caspase-3和Cleaved PARP蛋白表达均显著上调（$P<0.05$或$P<0.01$），5、10 μmol/L组细胞中Cleaved Caspase-9蛋白表达显著上调（$P<0.01$）。结果见图4、表4。

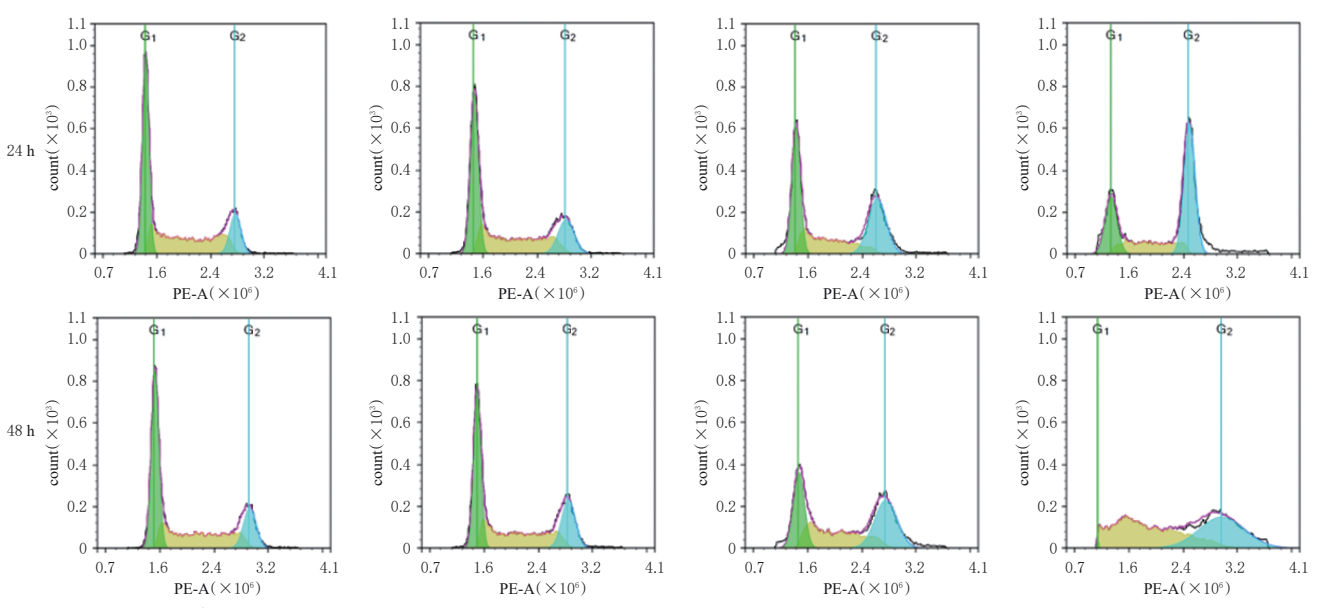
4　讨论

肿瘤的发生是由于受到遗传因素、环境因素和基因突变等的综合影响，使得细胞增殖与死亡之间的稳态被破坏，从而导致肿瘤细胞不可控制地生长，因此在研究抗肿瘤药物时，通常将凋亡和周期阻滞作为抗肿瘤效果评价的两大指标[13—14]。本研究发现，XCQ-9可以抑制Jurkat细胞的增殖，同时促进Jurkat细胞的凋亡，并诱导Jurkat细胞发生G_2期阻滞。这提示，XCQ-9具有一定的抗白血病活性。

凋亡是由Caspase介导的一种非炎症形式的程序性细胞死亡[15]。其中，Caspase-9活化后（即Cleaved Caspase-9）可以启动Caspase级联反应，使凋亡执行者Caspase-3活化（即Cleaved Caspase-3）[16]。与Caspase家族的其他成员相比，Caspase-3处于Caspase级联的末端，其激活是启动凋亡程序的必经之路，可以水解底物PARP（Cleaved PARP是Cleaved Caspase-3水解的产物，是凋亡的标志），从而抑制DNA修复，使细胞凋亡[17]。本研究结果显示，XCQ-9可上调Jurkat细胞中Cleaved Caspase-9、Cleaved Caspase-3和Cleaved PARP蛋白的表达，这可能是诱导其发生凋亡的重要原因。

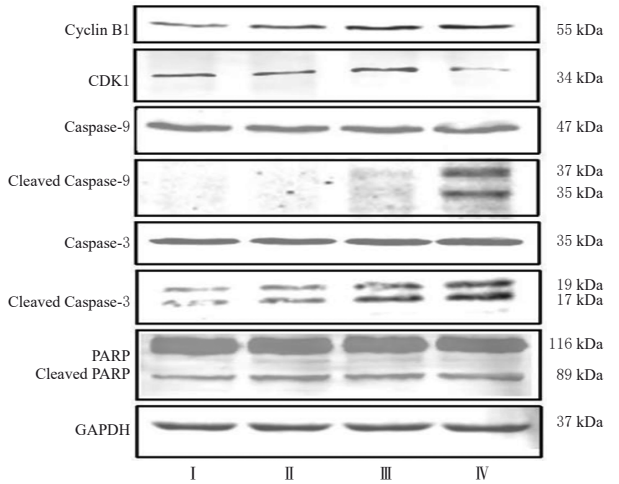
细胞周期是由检查点、细胞周期蛋白依赖性激酶和细胞周期蛋白共同调节的、高度保守的、严格控制的过程[18]。CDK1是细胞周期进程的核心，其失调可导致肿瘤侵袭性发展、染色体不稳定和细胞增殖加强[19]。Cyclin B1在细胞生长发育过程中发挥着重要的作用，在细胞分裂中期达到高峰，在分裂后期下降，被认为是G_2期阻滞的标志[20]。本研究结果显示，XCQ-9可下调Jurkat细胞中CDK1的表达，上调Cyclin B1的表达，进一步验证XCQ-9是通过阻滞G_2期来发挥作用的。

综上，XCQ-9可通过Caspase途径来促进细胞凋亡，主要通过上调Cleaved Caspase-9、Cleaved Caspase-3、Cleaved PARP蛋白促进细胞凋亡，下调CDK1和上调Cyclin B1蛋白使细胞发生G_2期阻滞来抑制细胞增殖，



A. 空白对照组　B. XCQ-9 2.5 μmol/L组　C. XCQ-9 5 μmol/L组　D. XCQ-9 10 μmol/L组

图3　XCQ-9作用24、48 h后各组细胞周期检测的流式细胞图



Ⅰ：空白对照组；Ⅱ：XCQ-9 2.5 μmol/L组；Ⅲ：XCQ-9 5 μmol/L组；Ⅳ：XCQ-9 10 μmol/L组

图4　各组细胞中凋亡和周期相关蛋白表达的电泳图

表4　各组细胞中凋亡和周期相关蛋白表达水平的测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	Cyclin B1/GAPDH	CDK1/GAPDH	Caspase-9/GAPDH	Cleaved Caspase-9/GAPDH	Caspase-3/GAPDH	Cleaved Caspase-3/GAPDH	PARP/GAPDH	Cleaved PARP/GAPDH
空白对照组	0.52±0.08	0.46±0.06	1.26±0.03	0.04±0.00	1.28±0.07	0.41±0.03	2.30±0.13	0.51±0.01
XCQ-9 2.5 μmol/L组	0.79±0.12[a]	0.41±0.04	1.24±0.08	0.04±0.01	1.25±0.04	0.70±0.01[b]	2.22±0.13	0.72±0.06[b]
XCQ-9 5 μmol/L组	1.04±0.16[b]	0.46±0.04	1.11±0.09	0.23±0.01[b]	1.29±0.04	1.29±0.06[b]	2.03±0.09	0.71±0.04[b]
XCQ-9 10 μmol/L组	0.98±0.16[a]	0.16±0.01[b]	0.76±0.06[b]	1.03±0.02[b]	1.31±0.09	1.80±0.06[b]	2.09±0.14	0.92±0.01[b]

a：与空白对照组比较，$P<0.01$；b：与空白对照组比较，$P<0.05$

这提示XCQ-9可能是一种具有潜力的抗T-ALL的新型候选药物。但本研究仅在体外研究了该药的抗白血病活性，尚未在体内验证其活性，之后将进一步进行体内实验验证，从而为其应用于临床奠定基础。

参考文献

[1] MALARD F，MOHTY M. Acute lymphoblastic leukaemia[J]. Lancet，2020，395(10230)：1146-1162.

[2] 蔡玉丽，邹尧，陈晓娟，等. 982例儿童急性淋巴细胞白血病流行病学研究[J]. 中国实验血液学杂志，2020，28(2)：371-376.

[3] MIRANDA-FILHO A，PIÑEROS M，FERLAY J，et al. Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries：a population-based study[J]. Lancet Haematol，2018，5(1)：e14-e24.

[4] COCCARO N，ANELLI L，ZAGARIA A，et al. Next-generation sequencing in acute lymphoblastic leukemia[J]. Int J Mol Sci，2019，20(12)：2929.

[5] ARBER D A，ORAZI A，HASSERJIAN R，et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia[J]. Blood，2016，127(20)：2391-2405.

[6] LU H，et al. Rapid analysis of anthracycline antibiotics doxorubicin and daunorubicin by microchip capillary electrophoresis[J]. Microchem J，2009，92(2)：170-173.

[7] EVANGELISTI C，CHIARINI F，MCCUBREY J A，et al. Therapeutic targeting of mTOR in T-cell acute lymphoblastic leukemia：an update[J]. Int J Mol Sci，2018，19(7)：1878.

[8] BROWN P，ZUGMAIER G，GORE L，et al. Day 15 bone marrow minimal residual disease predicts response to blinatumomab in relapsed/refractory paediatric B-ALL[J]. Br J Haematol，2020，188(4)：e36-e39.

[9] FU M，WANG D Y，HU X，et al. Chemical constituents from *Cynanchum paniculatum* [J]. J Chin Med Mater，2015，38(1)：97-100.

[10] 葛朝晖，周金川，张海娟. 徐长卿的化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. 中兽医医药杂志，2020，39(5)：41-45.

[11] 李葆林，杨梦婷，支雅婧，等. 徐长卿化学成分和药理作用的研究进展及质量标志物（Q-Marker）预测分析[J]. 中草药，2021，52(12)：3725-3735.

[12] 唐攀，陈洁，晏英，等. 黔产徐长卿根茎化学成分及抗烟草花叶病毒活性[J]. 天然产物研究与开发，2020，32(6)：989-994，1064.

[13] TALIB W H. Melatonin and cancer hallmarks[J]. Molecules，2018，23(3)：518.

[14] FUCHS Y. The therapeutic promise of apoptosis[J]. Science，2019，363(6431)：1050-1051.

[15] ROGERS C，FERNANDES-ALNEMRI T，MAYES L，et al. Cleavage of DFNA5 by caspase-3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death[J]. Nat Commun，2017，8：14128.

[16] KESAVARDHANA S，MALIREDDI R K S，KANNEGANTI T D. Caspases in cell death，inflammation，and pyroptosis[J]. Annu Rev Immunol，2020，38：567-595.

[17] JIANG M X，QI L，LI L S，et al. The caspase-3/GSDME signal pathway as a switch between apoptosis and pyroptosis in cancer[J]. Cell Death Discov，2020，6：112.

[18] PANAGOPOULOS A，ALTMEYER M. The hammer and the dance of cell cycle control[J]. Trends Biochem Sci，2021，46(4)：301-314.

[19] IZADI S，NIKKHOO A，HOJJAT-FARSANGI M，et al. CDK1 in breast cancer：implications for theranostic potential[J]. Anticancer Agents Med Chem，2020，20(7)：758-767.

[20] LEE M H，CHO Y，JUNG B C，et al. Parkin induces G_2/M cell cycle arrest in TNF-α-treated HeLa cells[J]. Biochem Biophys Res Commun，2015，464(1)：63-69.

（收稿日期：2022-07-05　修回日期：2022-12-15）

（编辑：林　静）