

糖酵解参与调控槲酰胺抑制慢性粒细胞白血病细胞增殖的研究

曾玲芝^{1,3}, 王春林^{4,5},

刘务玲^{4,5}, 杨奕樱^{2,3}, 李艳梅^{4,5*}, 宋佳蕾^{2,3*}

¹贵州中医药大学 药学院; ²贵州中医药大学 基础医学院; ³贵州中医药大学 分子生物学重点实验室, 贵阳 550025; ⁴贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室; ⁵贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵阳 550014

摘要: 本研究旨在探讨糖酵解参与槲酰胺的抗慢性粒细胞白血病细胞活性及机制。研究发现, 槲酰胺以时间和浓度依赖性抑制 K562 细胞的生长增殖, 其作用于 K562 细胞 3 d 的 IC₅₀ 为 21.70±5.68 nmol/L。槲酰胺阻滞 K562 细胞于 G2/M 期, 诱导出现凋亡。槲酰胺降低了 K562 细胞的葡萄糖消耗量和乳酸生成水平, 抑制 c-Myc 和己糖激酶 2 (hexokinase 2, HK2) 的蛋白表达。K562 细胞在进行去葡萄糖处理后生长减慢, 乳酸生成水平降低, c-Myc 蛋白表达下调。槲酰胺在无葡萄糖培养下 K562 细胞上的抑制率明显低于含葡萄糖培养下 K562 细胞上的抑制率。以上结果说明槲酰胺具有抗慢性粒细胞白血病细胞活性, 其作用机制可能是抑制 c-Myc 和 HK2 介导的糖酵解。

关键词: 槲酰胺; 慢性粒细胞白血病; 糖酵解; c-Myc; HK2

中图分类号: R932 文献标识码: A

Rocaglamide inhibits the proliferation of chronic myelogenous leukemia cells partly via aerobic glycolysis

ZENG Ling-zhi^{1,3}, WANG Chun-lin^{4,5}, LIU Wu-ling^{4,5}, YANG Yi-ying^{2,3}, LI Yan-mei^{4,5*}, SONG Jia-lei^{2,3*}

¹Shool of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine; ²Shool of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine; ³The Key Laboratory of Molecular Biology, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; ⁴The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academic of Sciences, Guiyang 550014, China; ⁵State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China

Abstract: To explore the anti-chronic myelogenous leukemia (CML) activity of rocaglamide (RocA) caused by aerobic glycolysis and potent molecular mechanism, we determined the proliferation of CML cell line K562 inhibited by RocA. The MTT assay showed that RocA inhibited the proliferation of K562 in a time- and dose-dependent way. The IC₅₀ of K562 treated with RocA for 3 days was 21.70±5.68 nmol/L. Flow cytometry analyzed that the proportion of cells of G2/M phase was significantly increased. The apoptotic cells was significantly increased. RocA decreased the glucose consumption, lactate acid production and the protein expression of hexokinase 2 (HK2), c-Myc, which take an important part in aerobic glycolysis. The propagation rate, lactate acid production and the c-Myc protein expression of K562 cells cultured without glucose was significantly lower than that cultured with glucose. After treatment with RocA, the inhibition on K562 cells cultured without glucose was significantly decreased compared to K562 cells cultured with glucose. Taken together, we presumed that RocA inhibited the proliferation of CML cells via apoptosis induction and cycle arrest partly through c-Myc/HK2 mediated aerobic glycolysis suppression.

Key words: rocaglamide; chronic myelogenous leukemia; aerobic glycolysis; c-Myc; HK2

慢性粒细胞白血病 (chronic myelogenous leukemia, CML) 是一种骨髓细胞克隆增生性白血病, 占约 15% 的成人白血病病例, 其每年的发病率为十万分之二, 高发于 50~55 岁的人^[1]。慢性粒细胞白血病是与费城染色体易位形成 BCR-ABL1 融合蛋白相关的肿瘤^[2]。目前主要采用酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitor, TKI) 靶向药物进行治疗, 可显著改善 CML 患者的预后, 然而仍存在由于 BCR-ABL1 癌蛋白的酪氨酸激酶基因不稳定性引起 TKI 耐药的复发问题^[3]。中医药治疗 CML 具有化疗增作用、提高机体免疫功能等疗效。在传统中药中发现抗 CML 的先导化合物并解析其发挥作用的机制, 有助于为 CML 的治疗提供新思路 and 实验基础。

楝酰胺 (rocaglamide, RocA), 来源于中药植物米仔兰的枝叶, 是一种含有环戊烷苯并呋喃骨架天然产物^[4], 具有防治咳嗽、哮喘等呼吸道疾病和炎症性皮肤病、抗炎症、减轻药物损伤、神经保护和抗肿瘤等功能^[5-11]。已有研究发现楝酰胺在纳摩尔浓度下抑制肿瘤细胞生长增殖, 其抗肿瘤的机制主要是抑制肿瘤细胞翻译起始因子 eIF4E 和 eIF4A^[12]、通过激活 ATM/ATR-Chk1/Chk2 检查点通路阻断细胞周期^[13]、激活肿瘤细胞而不影响正常细胞的 MAPK p38 和 JNK 通路^[14]。近期研究发现楝酰胺能够提高化疗疗效、增强白血病细胞的敏感性^[7, 15, 16]。多种研究证明楝酰胺很有潜力成为抗肿瘤药物研发的候选小分子化合物。

一些肿瘤细胞的代谢发生改变以满足其存活及快速增殖的能量和生物合成需要, 增加的有氧糖酵解水平 (即沃泊格效应) 是肿瘤细胞的代谢标志之一, 有氧糖酵解成为选择性干预白血病的重要靶点^[17, 18]。楝酰胺是否通过调节 CML 糖酵解而抑制 CML 增殖尚不清楚。本论文以 CML 细胞 K562 作为细胞模型, 研究楝酰胺对 CML 细胞增殖和糖酵解的影响, 探索在楝酰胺抑制 CML 细胞增殖过程中有氧糖酵解的调控作用。

1 材料与方法

1.1 实验细胞株

实验所用 CML 细胞 K562 由贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室惠赠。

1.2 实验试剂

楝酰胺 (MCE公司, 纯度>98%, 批号: 45501); 无糖DMEM培养基 (武汉普诺赛生命科技有限公司, 批号: WH01112102XP); D-(+)-葡萄糖 (上海碧云天生物技术有限公司, 纯度 \geq 99.5%, 批号: 080420201203); MTT (北京索来宝生物技术有限公司, 纯度 \geq 98%, 批号: 061622221107); 胎牛血清 (以色列BI公司, 批号: 2120140); RIPA裂解液 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号: 52422220719); 蛋白酶磷酸酶抑制剂 (苏州新赛美生物科技有限公司, 批号: 20210803); BCA蛋白浓度测定试剂盒 (北京索来宝生物技术有限公司, 批号: 20220914); SDS-PAGE凝胶快速配制试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号: 071322220721); SDS-PAGE蛋白上样缓冲液 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号: 11023230515); HK2 抗体 (美国CST公司, 批号: 2867); HK1 抗体 (美国CST公司, 批

号：2024)；PFKP抗体(美国CST公司，批号：8164)；PKM2抗体(美国CST公司，批号：4053)；LDHA抗体(美国CST公司，批号：3582)；c-Myc抗体(美国CST公司，批号：18583)； β -actin抗体(武汉三鹰生物技术有限公司，批号：00120842)；抗兔IgG(H+L)(DyLight™ 800 4×PEG Conjugate)二抗(美国CST公司，批号：5151P)；碘化丙啶(PI)(北京索来宝生物技术有限公司，批号：20201023)；细胞凋亡检测试剂盒(BD Pharmingen公司，批号：2119964)；葡萄糖检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司，批号：121422230419)。

1.3 实验仪器

酶标仪(型号：Synergy2，美国Biotek公司)；流式细胞仪(型号：NovoCyte 2040R，美国ACEABIO公司)；台式低速离心机(型号：Microfuge 20R，美国Beckman公司)；电泳转膜仪(型号：PowerPac Basic，美国Bio-Rad公司)；Odyssey Platform扫膜仪(型号：Odyssey CLx，美国LI-COR Biosciences公司)；超净工作台(型号：1834，美国Thermo Scientific公司)；细胞培养箱(型号：3111，美国Thermo Scientific公司)；显微镜(型号：Axio Vert A1，德国ZEISS公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 细胞培养

CML细胞K562用含5% FBS的DMEM培养基培养，培养条件37 °C、5% CO₂。葡萄糖饥饿实验中，K562细胞培养于无葡萄糖培养基中，添加4 500 mg/L葡萄糖至无葡萄糖培养基中作为对照。

1.4.2 MTT法测定细胞增殖率和抑制率

计数K562细胞的铺板密度 3×10^4 个/mL，按培养基：棟酰胺=100：1(V：V)的比例稀释棟酰胺，将稀释好的棟酰胺加至K562细胞上，设置棟酰胺的终浓度为3.125、6.25、12.5、25、50、100 nmol/L，0.1%的DMSO作为对照。分别于0、1、2、3 d测定吸光值，MTT的操作方法参照文献进行^[12]。IC₅₀的计算方法：采用forecast函数求得化合物对指定细胞的IC₅₀。相对增殖率的计算方法：相对增殖率=第n天OD值/第0天OD值×100%，抑制率的计算方法：抑制率=(对照组OD值-处理组OD值)/对照组OD值×100%。

1.4.3 流式细胞技术测定细胞周期

收集K562细胞，计数细胞接种密度为 3×10^4 个/mL，接种于培养板中。以终浓度为4、20、100 nmol/L的棟酰胺作用于K562细胞，0.1%的DMSO作为对照。2 d后，收集和洗涤K562细胞。用75%乙醇固定K562细胞，置于-20 °C过夜。收集固定后的K562细胞并洗涤。加入PI染液(含100 μ g/mL PI、100 μ g/mL RNase A、0.05% TritonX-100的磷酸盐缓冲液，pH7.4)，37 °C条件下染色30 min。设置流式细胞仪程序，分析各分组K562细胞的细胞周期分布。

1.4.4 流式细胞技术测定细胞凋亡

接种K562于培养板中，调整接种密度为 3×10^4 个/mL。将棟酰胺加至细胞上，设定棟酰

胺的终浓度 4、20、100 nmol/L，作用时间 3 d，0.1%的DMSO作为对照。收集和洗涤K562细胞。以FITC-Annexin和PI染料室温条件下染色K562细胞 15 min，并设置FITC-Annexin和PI单染样本。设置流式细胞仪程序，分析各分组K562细胞的凋亡率。

1.4.5 邻甲苯胺法测定葡萄糖消耗量

采用终浓度为 4、20、100 nmol/L的棟酰胺作用于K562细胞上，0.1%的DMSO作为对照。2 d后，收集K562细胞上清。用蒸馏水稀释葡萄糖标准品，检测设置为 0、1.95、3.9、7.8、15.6、31.25、62.5、125 和 250 mg/dL的葡萄糖标准曲线。取 5 μ L标准品或样品，加入 185 μ L葡萄糖反应试剂，使最终体积为 190 μ L。剧烈震荡，5 000 \times g稍稍离心。95 $^{\circ}$ C反应 8 min，待样品降至 4 $^{\circ}$ C后，吸取 180 μ L至 96 孔板中，测定 630 nm波长处的吸光值。

1.4.6 酶法测定乳酸含量

调整对数生长期K562细胞的接种密度为 3×10^4 /mL，将棟酰胺加至细胞上，设定棟酰胺的终浓度 4、20、100 nmol/L，作用时间 2 d，0.1%的DMSO作为对照。收集K562细胞上清。依据乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒进行检测。

1.4.7 Western blot检测糖酵解相关蛋白的表达

取对数生长期 K562，用棟酰胺处理 24 h 后收集细胞，设置棟酰胺的终浓度为 4、20、100 nmol/L，0.1%的 DMSO 作为对照。采用 RIPA 裂解液提取 K562 细胞的总蛋白。BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。将 K562 细胞样品进行变性处理后，按 50 μ g/样本进行胶浓度为 8%~12%的 SDS-PAGE。湿转法转膜，免疫印迹反应后 Odyssey Platform 扫膜仪扫膜。

1.4.8 统计分析处理

采用GraphPad Prism 9 进行统计分析和绘制统计图，实验数据以平均值 \pm 标准偏差的形式表示，采用t检验进行组间均值比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 棟酰胺对慢性粒细胞白血病细胞增殖的抑制作用

用浓度为 3.125、6.25、12.5、25、50、100 nmol/L 的棟酰胺处理 K562 细胞 1、2、3 d，0.1%的 DMSO 作为对照，MTT 法测定细胞的相对增殖率和抑制率，FORCAST 函数计算棟酰胺在 K562 细胞上的 IC_{50} 。结果显示，与对照组相比，6.25、12.5、25、50、100 nmol/L 的棟酰胺处理 K562 细胞 1~3 d 的相对增殖率显著降低，呈现出时间和浓度依赖性(见图 1A)。

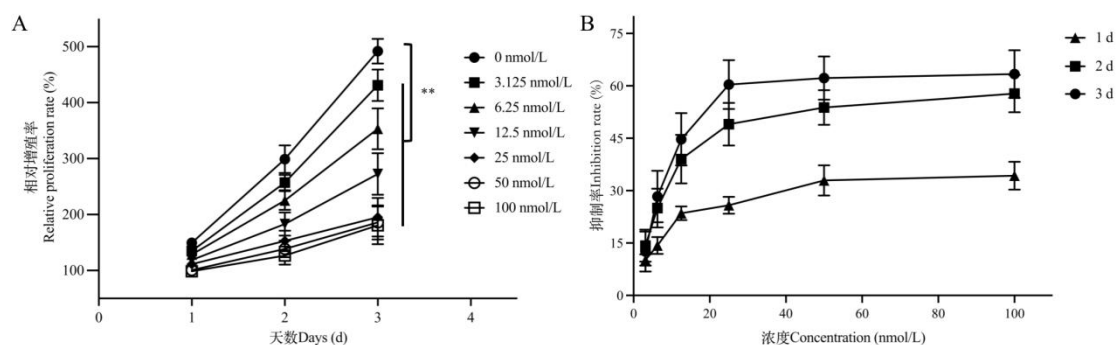


图 1 槲砵胺抑制慢性粒细胞白血病细胞增殖 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 1 Proliferation inhibition of RocA on CML cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

注：与对照组比较，** $P < 0.01$ 。Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

不同浓度槲砵胺处理 K562 细胞的抑制率随作用时间的增加而升高，槲砵胺作用于 K562 细胞 3 d 后的 IC_{50} 为 21.70 ± 5.68 nmol/L (见图 1B)。采用不同浓度的槲砵胺处理 K562 细胞 2 d 后，PI 法测定细胞周期的细胞分布，如图 2A 和 2B 所示，与对照组相比，20 nmol/L、100 nmol/L 的槲砵胺处理 K562 细胞 2 d 后，G₂/M 期细胞比例明显增加，G₀/G₁ 和 S 期细胞比例减少。上述结果表明槲砵胺能够阻滞 K562 细胞于 G₂/M 期。

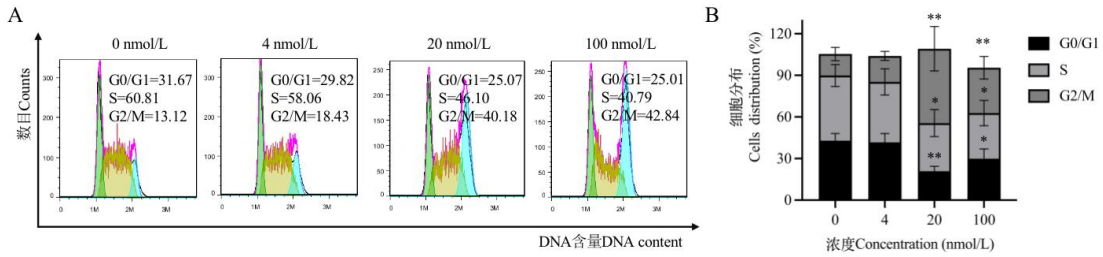


图 2 槲砵胺阻滞慢性粒细胞白血病细胞周期 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Cell cycle of CML cells arrested by RocA ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注：与对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

2.2 槲砵胺诱导慢性粒细胞白血病细胞凋亡

采用 FITC/Annexin 和 PI 双染法测定不同浓度的槲砵胺处理 K562 细胞 3 d 后的细胞凋亡变化。结果显示，与对照组比较，20 nmol/L、100 nmol/L 的槲砵胺处理 K562 细胞 3 d 后，K562 细胞的凋亡数目明显增加，且随着槲砵胺处理浓度的增加，细胞的凋亡率逐渐上升。用 20 nmol/L、100 nmol/L 的槲砵胺处理 K562 细胞 3 d 后，K562 细胞的活细胞比例呈现下调趋势 (见图 3)。以上结果说明槲砵胺诱导 K562 细胞发生凋亡。

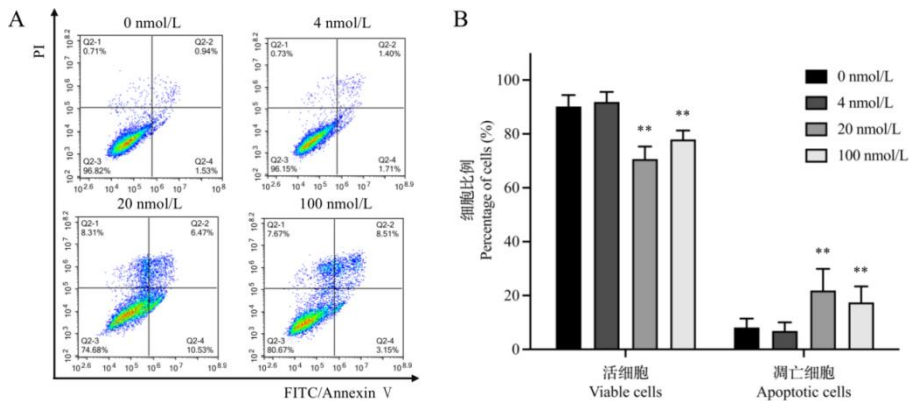


图 3 槲砵胺诱导慢性粒细胞白血病细胞凋亡 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Apoptosis of CML cells induced by RocA ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注：与对照组比较，** $P < 0.01$ 。Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

2.3 槲砵胺抑制慢性粒细胞白血病细胞生长部分依赖于葡萄糖

对 K562 细胞进行葡萄糖不添加和葡萄糖添加 (含量为 4 500 mg/L) 处理 1~3 d，无葡萄糖组 K562 细胞 2~3 d 的相对生长率明显低于对照葡萄糖添加组 (见图 4A)。对 K562 细

胞葡萄糖不添加与葡萄糖添加处理 2 d 后，酶法测定细胞上清中乳酸含量，结果显示无葡萄糖组上清中乳酸水平明显低于葡萄糖添加组（见图 4B）。Western blot 分析发现饥饿处理 1 d 的 K562 细胞，其 c-Myc 蛋白表达水平下降（见图 4C）。6.25、12.5、25、50、100 nmol/L 的 槲 砞 胺 在 无 葡 萄 糖 组 2 d 的 相 对 抑 制 率 明 显 低 于 其 在 葡 萄 糖 添 加 组 上 的 相 对 抑 制 率（见图 5）。

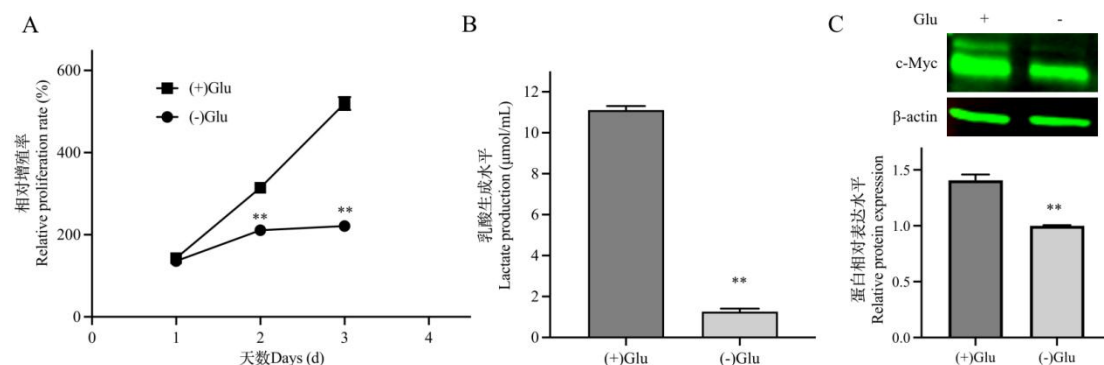


图 4 慢性粒细胞白血病细胞生长依赖于葡萄糖 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Proliferation of CML cells dependence on glucose ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注: (+)Glu 和(-)Glu 分别代表有葡萄糖组和无葡萄糖组; 与对照组比较, ** $P < 0.01$ 。Note: (+)Glu and (-)Glu are representative of K562 cells cultured with or without glucose. Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

以上结果表明 K562 的生长增殖依赖于葡萄糖, K562 细胞经去葡萄糖处理后 c-Myc 蛋白表达下调、糖酵解水平下降, 槲砞胺抑制 K562 细胞增殖依赖于葡萄糖。

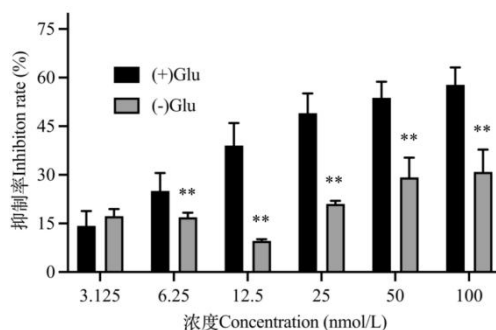


图 5 葡萄糖对槲砞胺抑制慢性粒细胞白血病细胞生长的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Proliferation inhibition of CML cells induced by RocA dependent of glucose ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注: 与对照组比较, ** $P < 0.01$ 。Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

2.4 槲砞胺对慢性粒细胞白血病细胞糖酵解水平和糖酵解调节因子的影响

以 4、20、100 nmol/L 浓度的槲砞胺处理 K562 细胞 2 d 后, 邻甲苯胺法测定细胞上清中葡萄糖的消耗量, 酶法测定乳酸水平, 实验结果发现, 与对照组相比, 20 nmol/L、100 nmol/L 的槲砞胺处理后细胞上清中葡萄糖消耗量和乳酸生成水平明显降低。且随着槲砞胺处理浓度的增加, 上清中葡萄糖消耗量和乳酸生成水平呈现持续降低的趋势（见图 6）。

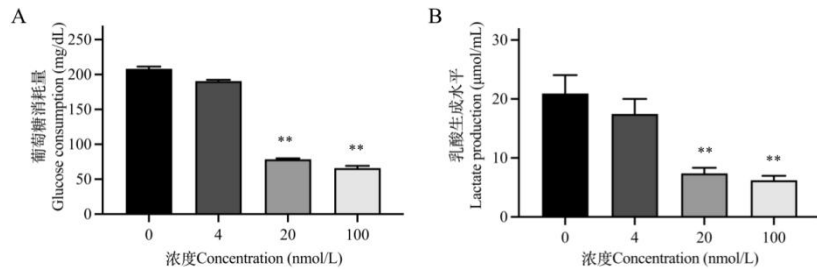


图 6 槲砒胺对慢性粒细胞白血病细胞糖酵解水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effect of RocA on glycolysis and glycolysis regulation factors in CML cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注：与对照组比较，** $P < 0.01$ 。Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

浓度为 4、20、100 nmol/L 的槲砒胺作用于 K562 细胞 1 d 后，western blot 分析 c-Myc、HK2、HK1、PFKP、PKM2、LDHA 的蛋白相对表达水平。实验结果发现，与对照组相比，K562 细胞经槲砒胺处理 1 d 后，HK1、PFKP、PKM2、LDHA 的蛋白表达水平变化不大，c-Myc、HK2 蛋白表达水平明显下调（见图 7）。

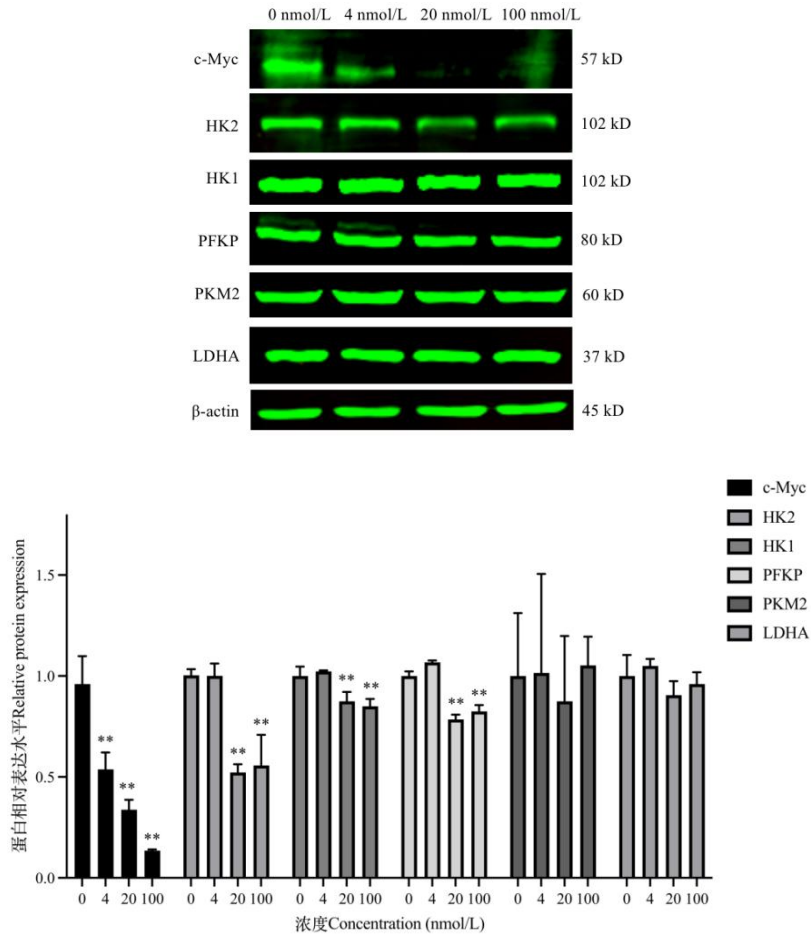


图 7 槲砒胺对慢性粒细胞白血病细胞糖酵解调节因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Effect of RocA on glycolysis and glycolysis regulation factors in CML cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注：与对照组比较，** $P < 0.01$ 。Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

3 讨论与结论

楝酰胺是由米仔兰中提取出具备抗肿瘤作用的活性物质。本文探究内容为楝酰胺是否通过有氧糖酵解抑制 K562 细胞增殖。MTT 法测定结果显示楝酰胺明显抑制了 K562 细胞的生长增殖并呈现时间和浓度依赖性，其抑制 K562 细胞增殖的 IC₅₀ 达到纳摩尔级。采用流式细胞技术检测证明了楝酰胺抑制 K562 细胞的增殖并且诱导凋亡，阻滞 K562 细胞周期在 G2/M 期。

肿瘤细胞在有氧条件下仍呈现出高水平的葡萄糖摄取量、糖酵解和乳酸水平，即沃伯格效应^[18]。转录因子 c-Myc 广泛参与调控细胞增殖、细胞存活、组织重塑和血管生成等细胞功能，也启动肿瘤细胞的代谢重编程，c-Myc 上调葡萄糖转运蛋白和几乎所有糖酵解代谢酶从而促进肿瘤细胞的糖代谢^[19, 20]。Burkitt 淋巴瘤和 c-Myc 驱动的肝癌中进行 ¹³C 标记葡萄糖显示 c-Myc 促进了葡萄糖的消耗^[21, 22]。研究发现 c-Myc 促进乳酸的分泌，而乳酸不但是糖酵解的代谢物质同时参与促进血管生成、免疫逃逸、细胞迁移、代谢需求等致癌作用^[23]。我们通过对 K562 细胞进行葡萄糖饥饿处理，发现葡萄糖的去除降低了 K562 细胞的乳酸生成水平、降低了 c-Myc 的蛋白表达水平，且不利于 K562 细胞的增殖，证实了 K562 细胞的生长增殖依赖于葡萄糖的供给，反映出 c-Myc 水平与 K562 细胞的葡萄糖水平有关。饥饿条件下 K562 进行楝酰胺处理，发现去除葡萄糖的 K562 细胞上，楝酰胺的相对抑制率低于葡萄糖添加组，由此推测楝酰胺抑制 K562 细胞生长部分依赖于葡萄糖，即没有葡萄糖的供给楝酰胺不能够进一步诱导 K562 细胞的生长抑制。楝酰胺还明显降低了 K562 细胞上清的葡萄糖消耗量和乳酸生成水平，说明楝酰胺抑制了 K562 细胞的有氧糖酵解。

己糖激酶 2 (hexokinase 2, HK2) 是肿瘤细胞糖酵解的特异性关键酶，能够结合线粒体外膜维持肿瘤细胞的高速有氧糖酵解，为肿瘤细胞的快速增殖提供能量^[24]。研究者利用小鼠模型证实了 HK2 在乳腺癌、肺癌等肿瘤发生发展中发挥着重要作用^[25]；己糖激酶 1 (hexokinase 1, HK1) 在成人组织中普遍表达而被认为是管家亚型的己糖激酶^[24]；磷酸果糖激酶 P (phosphofructokinase, platelet, PFKP) 在癌症起始和转移起着至关重要的作用，有研究表明 PFKP 有潜力作为乳腺癌和肺癌的诊断标记或药物靶标^[26]；丙酮酸激酶 2 (pyruvate kinase isozymes M2, PKM2) 表达于所有核酸合成率高的细胞，如正常增殖细胞、胚胎细胞，尤其是肿瘤细胞^[27]；乳酸脱氢酶 A (lactate dehydrogenase A, LDHA) 催化丙酮酸和 L-乳酸的相互转化，许多人类肿瘤细胞的 LDHA 水平高于正常细胞，抑制 LDHA 可减少头颈癌、胰腺癌、宫颈癌和前列腺癌等肿瘤细胞的增殖^[28]。我们分析楝酰胺对 K562 细胞中 HK2、HK1、PFKP、PKM2、LDHA 以及致癌转录因子 c-Myc 蛋白表达水平的影响，发现楝酰胺几乎没有调节 HK1、PFKP、PKM2、LDHA 的蛋白表达，然而明显下调了 c-Myc 与 HK2 的蛋白表达水平。我们推测楝酰胺通过下调 c-Myc 和 HK2 抑制有氧糖酵解途径从而发挥抗 K562 细胞活性。而 c-Myc 与 HK2 的调控关系需要深入展开探索。

参考文献

- 1 Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2020 update on diagnosis, therapy and monitoring [J]. Am J Hematol, 2020, 95: 691-709.

- 2 Walz C,Sattler M.Novel targeted therapies to overcome imatinib mesylate resistance in chronic myeloid leukemia(CML)[J].Crit Rev Oncol Hematol,2006,57:145-164.
- 3 Gambacorti-Passerini C,Antolini L,Mahon FX,et al.Multicenter independent assessment of outcomes in chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib[J].J Natl Cancer Inst,2011,103:553-561.
- 4 Chinese Materia Medica editorial board of National Administration of Traditional Chinese Medicine.Chinese Materia Medica(中华本草)[M].Shanghai:Shanghai Science and Technology Press,1999:3856-3857.
- 5 Becker MS,Muller PM,Bajorat J,et al.The anticancer phytochemical rocaglamide inhibits Rho GTPase activity and cancer cell migration[J].Oncotarget,2016,7:51908-51921.
- 6 Becker MS,Schmezer P,Breuer R,et al.The traditional Chinese medical compound Rocaglamide protects nonmalignant primary cells from DNA damage-induced toxicity by inhibition of p53 expression[J].Cell Death Dis,2014,5:e1000.
- 7 Bleumink M,Kohler R,Giaisi M,et al.Rocaglamide breaks TRAIL resistance in HTLV-1-associated adult T-cell leukemia/lymphoma by translational suppression of c-FLIP expression[J].Cell Death Differ,2011,18:362-370.
- 8 Fahrig T,Gerlach I,Horvath E.A synthetic derivative of the natural product rocaglaol is a potent inhibitor of cytokine-mediated signaling and shows neuroprotective activity in vitro and in animal models of Parkinson's disease and traumatic brain injury[J].Mol Pharmacol,2005,67:1544-1555.
- 9 Güssregen B FM,Nugroho BW,Wray V,et al.New Insecticidal Rocaglamide Derivatives from Flowers of *Aglaiia odorata*[J].Z Naturforsch C,1997,52:339-344.
- 10 Polier G,Neumann J,Thuaud F,et al.The natural anticancer compounds rocaglamides inhibit the Raf-MEK-ERK pathway by targeting prohibitin 1 and 2[J].Chem Biol,2012,19:1093-1104.
- 11 Yao C,Ni ZY,Gong CY,et al.Rocaglamide enhances NK cell-mediated killing of non-small cell lung cancer cells by inhibiting autophagy[J].Autophagy,2018,14:1831-1844.
- 12 Song JL,Yuan CM,Yang J,et al.Novel flavagline-like compounds with potent Fli-1 inhibitory activity suppress diverse types of leukemia[J].FEBS J,2018,285:4631-4645.
- 13 Neumann J,Boerries M,Kohler R,et al.The natural anticancer compound rocaglamide selectively inhibits the G1-S-phase transition in cancer cells through the ATM/ATR-mediated Chk1/2 cell cycle checkpoints[J].Int J Cancer,2014,134:1991-2002.
- 14 Li-Weber M.Molecular mechanisms and anti-cancer aspects of the medicinal phytochemicals rocaglamides(=flavaglines)[J].Int J Cancer,2015,137:1791-1799.
- 15 Callahan KP,Minhajuddin M,Corbett C,et al.Flavaglines target primitive leukemia cells and enhance anti-leukemia drug activity[J].Leukemia,2014,28:1960-1968.
- 16 Giaisi M,Kohler R,Fulda S,et al.Rocaglamide and a XIAP inhibitor cooperatively sensitize TRAIL-mediated apoptosis in Hodgkin's lymphomas[J].Int J Cancer,2012,131:1003-1008.
- 17 Luo YJ,Dai ZQ,X B,et al.Research progress of natural small molecule inhibitors based on aerobic glycolysis[J].Nat Pro Res Dev(天然产物研究与开发),2023,35:171-181.
- 18 Stine ZE,Schug ZT,Salvino JM,et al.Targeting cancer metabolism in the era of precision oncology[J].Nat Rev Drug Discov,2022,21:141-162.
- 19 Kim JW,Zeller KI,Wang Y,et al.Evaluation of myc E-box phylogenetic footprints in glycolytic genes by chromatin immunoprecipitation assays[J].Mol Cell Biol,2004,24:5923-5936.
- 20 Lin GB,Wu YZ,Cai FT,et al.Matrine Promotes human myeloid leukemia cells apoptosis through warburg effect mediated by hexokinase 2[J].Front Pharmacol,2019,10:1069.
- 21 Murphy TA,Dang CV,Young JD.Isotopically nonstationary ¹³C flux analysis of Myc-induced metabolic reprogramming in B-cells[J].Metab Eng,2013,15:206-217.
- 22 Yuneva MO,Fan TW,Allen TD,et al.The metabolic profile of tumors depends on both the responsible genetic

lesion and tissue type[J].Cell Metab,2012,15:157-170.

- 23 San-Millan I, Brooks GA. Reexamining cancer metabolism: lactate production for carcinogenesis could be the purpose and explanation of the Warburg effect[J]. Carcinogenesis, 2017, 38: 119-133.
- 24 DeWaal D, Nogueira V, Terry AR, et al. Hexokinase-2 depletion inhibits glycolysis and induces oxidative phosphorylation in hepatocellular carcinoma and sensitizes to metformin[J]. Nat Commun, 2018, 9: 446.
- 25 Patra KC, Wang Q, Bhaskar PT, et al. Hexokinase 2 is required for tumor initiation and maintenance and its systemic deletion is therapeutic in mouse models of cancer[J]. Cancer Cell, 2013, 24: 213-228.
- 26 Chen JQ, Zou L, Lu G, et al. PFKFB3 alleviates glucose starvation-induced metabolic stress in lung cancer cells via AMPK-ACC2 dependent fatty acid oxidation[J]. Cell Discov, 2022, 8: 52.
- 27 Yang WW, Xia Y, Hawke D, et al. PKM2 phosphorylates histone H3 and promotes gene transcription and tumorigenesis[J]. Cell, 2012, 150: 685-696.
- 28 Sharma D, Singh M, Rani R. Role of LDH in tumor glycolysis: Regulation of LDHA by small molecules for cancer therapeutics[J]. Semin Cancer Biol, 2022, 32: 184-195.

收稿日期: 2023-05-15 接受日期:

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(82260854, 81960546); 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2022]一般485); 贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合KY字[2022]267号)

*通信作者 Tel: 18685001652; E-mail: jialei_song@163.com, liyanmei518@hotmail.com