

沙利度胺诱导急性髓系白血病THP1细胞凋亡和DNA损伤的机制

何旭 胡银山 杨昆 马春蓉*

(川北医学院第二临床医学院/南充市中心医院, 血液内科, 南充 637000)

摘要 该文研究了沙利度胺对急性髓系白血病THP1细胞凋亡和DNA损伤的诱导作用及分子机制。以体外培养的人急性髓系白血病THP1细胞为研究对象, 实验组中加入不同浓度(50、100、150、200、250 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的沙利度胺, 对照组中加入等体积二甲基亚砜(DMSO)。经处理后, 用CCK-8检测沙利度胺对细胞增殖的抑制作用; Calcein/PI法检测药物对细胞凋亡的诱导作用; JC-1荧光染色检测线粒体膜电位的变化; 流式细胞仪检测细胞周期; Western blot检测线粒体细胞色素C蛋白、凋亡相关蛋白(cleaved-caspase-3、Bax)和DNA损伤相关蛋白(pATM和 γH2AX)的表达水平。结果显示, 与对照组相比, 实验组沙利度胺明显抑制THP1细胞的生长($P < 0.05$); 沙利度胺对细胞凋亡的诱导作用具有浓度依赖性; 沙利度胺导致线粒体膜电位降低($P < 0.05$), 促进线粒体释放细胞色素C蛋白; 沙利度胺诱导THP1细胞的G₂/M期发生阻滞; 沙利度胺上调促凋亡相关蛋白(cleaved-caspase-3和Bax)以及DNA损伤应答相关蛋白(pATM和 γH2AX)的表达($P < 0.05$)。这些结果表明, 沙利度胺可诱导急性髓系白血病THP1细胞凋亡, 其作用机制可能与激活线粒体凋亡途径和诱导DNA损伤有关。

关键词 沙利度胺; 急性髓系白血病; 细胞凋亡; DNA损伤

Mechanism of Thalidomide Induced Apoptosis and DNA Damage in Acute Myeloid Leukemia THP1 Cells

HE Xu, HU Yinshan, YANG Kun, MA Chunrong*

(The Second Clinical Medical College of North Sichuan Medical College/Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, China)

Abstract This study investigated the inducing effect and molecular mechanism of thalidomide on apoptosis and DNA damage of acute myeloid leukemia THP1 cells. Taking human acute myeloid leukemia THP1 cells cultured *in vitro* as the research object, thalidomide with different concentrations (50, 100, 150, 200, 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$) was added to the experimental group, and an equal volume of DMSO (dimethyl sulfoxide) was added to the control group. After processing, the inhibitory effect of thalidomide on cell proliferation was detected by CCK-8; the inducing effect of drugs on apoptosis was detected by Calcein/PI method; the changes of mitochondrial membrane potential were detected by JC-1 fluorescence staining; the cell cycle was detected by flow cytometry; the level of mitochondrial cytochrome C protein, apoptosis-related proteins (cleaved-caspase-3 and Bax) and DNA damage related proteins (pATM and γH2AX) were detected by Western blot. The results showed that compared with the

收稿日期: 2022-07-11 接受日期: 2022-09-07

南充市2018年市校合作科研专项基金(批准号: 18SXHZ0203)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13340776315, E-mail: 2201944503@qq.com

Received: July 11, 2022 Accepted: September 7, 2022

This work was supported by the Nanchong Municipal School Cooperative Scientific Research Special Fund in 2018 (Grant No.18SXHZ0203)

*Corresponding author. Tel: +86-13340776315, E-mail: 2201944503@qq.com

control group, the thalidomide of experimental group significantly inhibited the growth of THP1 cells ($P<0.05$); the inducing effect of thalidomide on apoptosis was concentration dependent; thalidomide decreased mitochondrial membrane potential ($P<0.05$) and promoted the release of cytochrome C protein from mitochondria; thalidomide induced the G₂/M phase arrest of THP1 cells; thalidomide enhanced the expression of apoptosis-related proteins (cleaved-caspase-3 and Bax) and DNA damage response-related proteins (pATM and γ H2AX) ($P<0.05$). These results suggest that thalidomide can induce apoptosis of acute myeloid leukemia THP1 cells, and its mechanism may be related to activating the mitochondrial apoptosis pathway and inducing DNA damage.

Keywords thalidomide; acute myeloid leukemia; apoptosis; DNA damage

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种异质性血液系统恶性肿瘤,其特征是髓系母细胞或粒细胞前体细胞在血液、骨髓和其他组织中克隆性增殖,不能正常分化^[1]。根据流行病学的统计,在中国白血病的自然发病率为3/100 000~4/100 000,并呈增长趋势。全国有400万名白血病患者,每年新增约4万名白血病患者,其中2万多名是儿童,而且以2~9岁的儿童居多^[2]。目前,AML的治疗以化疗为主。根据不同的AML的类型,制定化疗方案,但疗效有限且患者通常耐受性差,有70%左右获得缓解的患者最终复发并演变为难治性白血病,最终因治疗失败而死亡^[3]。除了化疗外还有靶向药物治疗,造血干细胞移植^[4]。近年来开发了细胞免疫治疗的方法,比如嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR) T细胞治疗和树突状(dendritic cells, DC)细胞疗法^[5],但AML患者的生存率并未得到显著提高,因此迫切需要开发新的AML治疗策略和研发新型药物。

越来越多的数据表明,与实体肿瘤类似,急性髓系白血病的发展也需要血管生成^[6]。以抑制骨髓微血管密度增加为目的进行药物干预可能是治疗AML的一个有希望的策略。在公认的血管生成抑制剂中,沙利度胺对AML具有相当大的疗效,总有效率高达25%,且治疗有效的患者骨髓中微血管密度持续下降。研究表明,AML患者的神经纤毛蛋白-1过度表达且骨髓中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平升高,其高水平与较低的存活率相关^[7]。沙利度胺通过直接抑制内皮细胞增殖,减少成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)和下调VEGF受体神经纤毛蛋白-1表达,在AML中发挥巨大的抗血管生成作用^[8]。同时,沙利度胺也是一种免疫调节药物,能够诱导自然杀伤细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、巨噬细胞、细胞毒性T细胞的激活;减少抑制性T细胞群;通过增加白细胞介素-2和干扰

素- γ 的表达对T细胞和NK细胞起到协同刺激作用^[9]。

由上述可知,沙利度胺在AML患者的治疗中发挥着一定的作用,能够抑制白细胞生长和增殖,诱导细胞凋亡和DNA损伤,但其作用机制尚不清楚^[10-11]。因此,本研究通过体外培养的人急性髓系白血病THP1细胞,检测沙利度胺对细胞增殖的抑制作用和对细胞凋亡的诱导作用;用荧光染色检测线粒体膜电位的变化,流式细胞仪检测细胞周期,Western blot检测线粒体细胞色素C蛋白、凋亡相关蛋白和DNA损伤相关蛋白的表达水平,探讨沙利度胺诱导急性髓系白血病THP1细胞凋亡和DNA损伤的作用及相关机制。

1 材料与方法

1.1 材料

沙利度胺购于阿拉丁公司;人急性髓系白血病THP1细胞株购于北京索莱宝科技有限公司;胎牛血清(货号10091-148)、青链霉素(货号15140-112)购于Gibco公司;RPMI-1640培养液(货号10-040-CVR)购于ORNING公司;细胞培养板(货号REF 3422)购于Corning Incorporated公司;二甲基亚砜(货号:D8418)购于SIGMA公司;CCK-8试剂盒(货号CK-04)购于日本同仁化学公司;Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒(货号C2015M)购于上海碧云天生物技术有限公司;线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)(货号10235)购于上海尚宝生物科技有限公司;提取胞质蛋白(货号BC3740)和线粒体蛋白(货号BJ-S964147)试剂盒购于上海邦景实业有限公司;RAPI细胞裂解液(货号BES20861BO)购于上海博尔森生物科技有限公司;兔抗人甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)(货号9001-50-7)、细胞色素C蛋白(货号S12058)、Bax蛋白(货号579492-81-2)、活化的半胱天冬酶-3(cleaved-caspase-3)(货号HK6060)、磷酸

化组蛋白H2AX(γ H2AX)(货号Y3185R)、磷酸化的毛细血管扩张性共济失调突变蛋白(pATM)一抗(货号CD-B101134A)、山羊抗兔IgG HRP二抗(货号SSA003)均购于上海源叶生物科技有限公司;细胞恒温培养箱(货号300012173)购于Thermo公司;荧光显微镜(货号75004240)、流式细胞仪(型号ACEA NovoCyteTM)购于北京艾格斯生物科技有限公司;酶标仪、蛋白转膜/转膜仪和电泳槽均购于南京贝登医疗股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与分组 用胎牛血清含量为10%、青霉素含量为1%的RPMI-1640培养液悬浮培养人急性髓系白血病THP1细胞,铺种于96孔细胞培养板并放置于37 °C、5% CO₂的细胞培养箱中培养,每隔3天更换1次新鲜培养液。经悬浮培养后进行计数,将各组细胞密度调整至 1×10^6 个/mL。其中实验组分为5个小组,分别加入终浓度为50、100、150、200、250 μ g/mL的沙利度胺,对照组中加入相同体积的二甲基亚砜。后续根据实验目的进行相应的培养处理。

1.2.2 CCK-8法检测细胞增殖 实验组与对照组经上述处理后,各取100 μ L铺种于96孔细胞培养板中,实验组的5组和对照组各铺种3~6个复孔,放置于37 °C、5% CO₂的细胞培养箱中继续培养12 h和24 h,吸除培养液并用PBS洗涤细胞1次,随后在每个孔中加入等体积的CCK-8混合液,再于培养箱静置孵育2 h后,用酶标仪检测450 nm处的吸光度(D_{450})值,最终取每组中的平均值进行分析,比较不同浓度沙利度胺对THP1细胞增殖的抑制情况。

1.2.3 Calcein/PI双荧光染色检测细胞凋亡 实验组和对照组中各取2 mL铺种于12孔细胞培养板,于细胞培养箱中培养24 h后,吸除培养液并用PBS洗涤细胞1次(此步骤在以下实验中都要操作)。加入500 μ L Calcein AM/PI检测工作液,37 °C避光孵育30 min,孵育结束后,在荧光显微镜下观察染色效果。

1.2.4 细胞周期分析 加入预冷的70%乙醇混匀后于20 °C固定细胞24 h,1 500 r/min离心5 min,去掉上清,加入PBS洗涤1次,加入100 μ L RNase A(50 μ g/mL)后放在37 °C水浴锅内水浴30 min;经PBS缓冲液清洗后加入400 μ L碘化丙啶(PI)(50 μ g/mL)于4 °C暗处染色30 min,用流式细胞仪进行检测。

1.2.5 JC-1线粒体膜电位检测 加入0.5 mL新鲜培养基重新悬浮细胞,再加入0.5 mL JC-1染色工作液,

摇晃数次混匀,于37 °C细胞培养箱中孵育20 min,孵育结束后吸除上清,用JC-1缓冲液洗涤细胞2次,加入2 mL细胞培养液重悬细胞,在荧光显微镜下进行观察。

1.2.6 Western blot检测蛋白水平 加入100 μ L细胞裂解混合液,于冰上裂解2 h后用BCA试剂盒定量蛋白总浓度。在每组中加蛋白1/4体积 $5 \times$ 上样缓冲液,混合后在沸水中反应10 min,期间振荡1次。制备浓缩胶和分离胶进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,每个孔道中加入20 μ g的蛋白样本。电泳结束后转膜至偏二氟乙烯(PVDF)膜上,于5%的脱脂奶粉中室温封闭2 h,之后放置于4 °C冰箱孵育一抗(稀释比例1:1 000)过夜,次日用PBST缓冲液洗涤4次,室温下用二抗(稀释比例1:1 000)孵育2 h后再用PBST缓冲液洗涤4次,将漂洗后的PVDF膜用化学发光液孵育,于成像系统中曝光,拍照并保存图像。以对照组0 μ g/mL的蛋白含量为一个单位,计算其他浓度时的单位值。

1.2.7 统计学处理 使用SPSS 26.0 软件对实验数据进行统计学处理。数据结果以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)进行表示。两组间的比较采用的方法是 t 检验,多组间的比较使用方差分析,若 P 值小于0.05,则表明结果具有统计学意义。

2 结果

2.1 沙利度胺抑制THP1细胞增殖

CCK-8法检测THP1细胞增殖结果显示,与对照组相比,实验组的THP1细胞生长受到明显的抑制($P < 0.05$),随着沙利度胺浓度的增加(50、100、150、200、250 μ g/mL),该抑制效应逐渐增强。在实验组中,THP1细胞培养24 h后沙利度胺对细胞增殖的抑制效果显著高于培养12 h后的抑制效果(表1)。

2.2 沙利度胺诱导THP1细胞凋亡

采用Calcein/PI双荧光染色检测细胞凋亡,Calcein可对活细胞进行染色标记,染色结果表明,实验组中的低浓度(50、100 μ g/mL)沙利度胺处理细胞后与对照组相比活细胞数量无明显差异,而高浓度(150、200、250 μ g/mL)沙利度胺处理细胞后剩余的活细胞数量明显低于对照组;PI能够对死细胞进行染色标记,结果表明实验组中的荧光强度显著高于对照组,即死细胞数量显著多于对照组,且随着沙利度胺浓度升高,死细胞数量呈现上升趋势。这些结果表明,沙利度胺可诱导THP1细胞凋亡,且其浓度越

表1 沙利度胺不同浓度和作用时间对THP1细胞生长抑制率的影响

类别 Types	沙利度胺浓度 The concentrations of thalidomide					
	0 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	150 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$	250 $\mu\text{g/mL}$
12 h relative cell proliferation rate	1	0.91±0.02	0.74±0.02	0.61±0.03	0.43±0.04	0.31±0.02
24 h relative cell proliferation rate	1	0.88±0.03	0.65±0.04	0.51±0.02	0.32±0.03	0.23±0.01
<i>t</i> value		2.394	3.421	3.972	4.826	3.264
<i>P</i> value		0.004	0.031	0.023	0.016	0.042

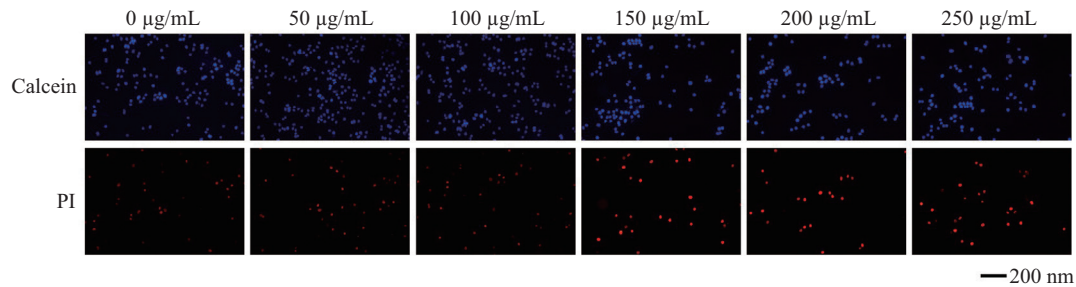


图1 沙利度胺诱导THP1细胞凋亡

Fig.1 Thalidomide induces apoptosis in THP1 cells

高, 凋亡诱导作用越强(图1)。

2.3 沙利度胺诱导THP1细胞周期阻滞

流式细胞仪检测THP1细胞周期结果(图2)显示, 实验组(50、100、150、200、250 $\mu\text{g/mL}$)中G₁期细胞比例明显低于对照组($P<0.05$), S期、G₂期、M期的细胞比例显著高于对照组($P<0.05$), 且沙利度胺浓度越高, G₂、M期的细胞比例越高。这些结果表明, 沙利度胺诱导THP1细胞在G₂/M期发生阻滞, 暗示沙利度胺诱导THP1细胞DNA损伤。

2.4 沙利度胺下调THP1细胞线粒体膜电位

用JC-1染色法检测THP1细胞线粒体膜电位水平, 经荧光显微镜观察的结果如图3所示。实验组中高剂量组(150、200、250 $\mu\text{g/mL}$)的红色荧光显著低于对照组, 且沙利度胺浓度越高, 荧光越弱; 实验组中绿色荧光强度显著高于对照组。这暗示, 沙利度胺可能通过下调THP1细胞线粒体膜电位水平诱导细胞凋亡。

2.5 沙利度胺促进THP1细胞线粒体释放细胞色素C

Western blot检测THP1细胞线粒体细胞色素C蛋白水平, 用VDCA1作为线粒体中细胞色素C蛋白水平的内参, 用 β -actin作为胞质中细胞色素C蛋白水平的内参。如图4所示, 实验组中线粒体内的细胞色素C蛋白含量明显低于对照组, 且蛋白水平随着沙利度

胺浓度的升高而下降; 实验组中胞质内的细胞色素C蛋白水平明显高于对照组, 且沙利度胺浓度越高, 蛋白水平越高。这些结果表明, 沙利度胺可通过促进THP1细胞线粒体释放细胞色素C诱导细胞凋亡。

2.6 沙利度胺促进THP1细胞凋亡相关蛋白的表达

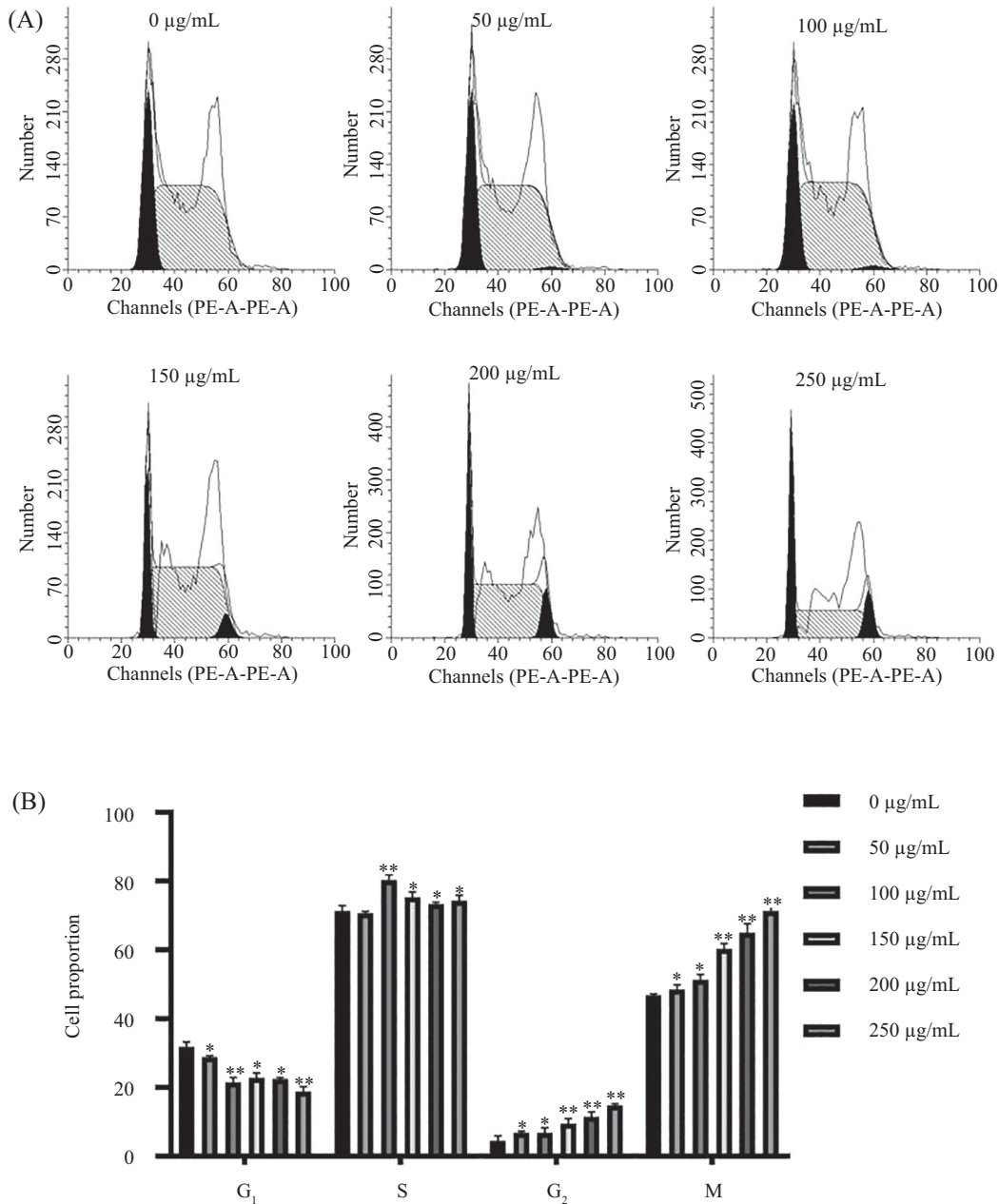
Western blot检测THP1细胞中凋亡相关蛋白(Bax、cleaved-caspase-3)的表达。图5结果显示, 用沙利度胺处理细胞后, Bax和cleaved-caspase-3的蛋白表达量显著高于对照组($P<0.05$), 且沙利度胺浓度越高, 蛋白表达水平越高。表明沙利度胺可能通过促进THP1细胞凋亡相关蛋白的表达, 激活P53信号通路, 诱导细胞凋亡。

2.7 沙利度胺促进THP1细胞DNA损伤相关蛋白的表达

用Western blot检测THP1细胞中DNA损伤相关蛋白(p-ATM、H2AX)的表达。图6结果显示, 用不同浓度的沙利度胺处理细胞后, p-ATM和H2AX的蛋白表达量明显高于对照组($P<0.05$), 且蛋白水平表达具有浓度依赖性。这表明沙利度胺可能通过上调THP1细胞DNA损伤相关蛋白的表达, 诱导DNA发生损伤以及促进细胞凋亡。

3 讨论

AML是一种生物学复杂的分子疾病, 具有临床



A: 细胞周期图; B: 不同细胞周期中细胞比例。* $P < 0.05$, 与对照组(0 µg/mL)相比。 $n = 3$ 。

A: cell cycle diagram; B: the proportion of cells in different cell cycles. * $P < 0.05$ compared with control group (0 µg/mL). $n = 3$.

图2 沙利度胺诱导THP1细胞周期阻滞

Fig.2 Thalidomide induces cell cycle block in THP1

异质性, 是原发于骨髓异常血细胞快速生长的侵袭性癌症, 其发病率随着人口老龄化而增加^[12]。AML的临床治疗以化疗为主, 并配合抑制白细胞大量复制的药物进行治疗^[13]。随着技术手段的发展, 异基因造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)被应用于AML的临床治疗, 但移植的效果受多方面因素比如供体选择、患者病情、身体状况的干扰, 最重要的是患者的排斥反应^[14]。尽

管这些治疗手段能在一定程度上缓解病情发展, 但AML的预后仍然很差, 复发率高并且耐药性强, 故迫切需要开发新的AML治疗策略并且研发新型药物。

在过去的几十年里, 白血病研究主要集中在白血病细胞上。然而, 有研究表明骨髓微环境在造血过程中具有重要作用, 暗示我们有必要将研究范围扩大到白血病细胞之外。血管生成在AML的发生、

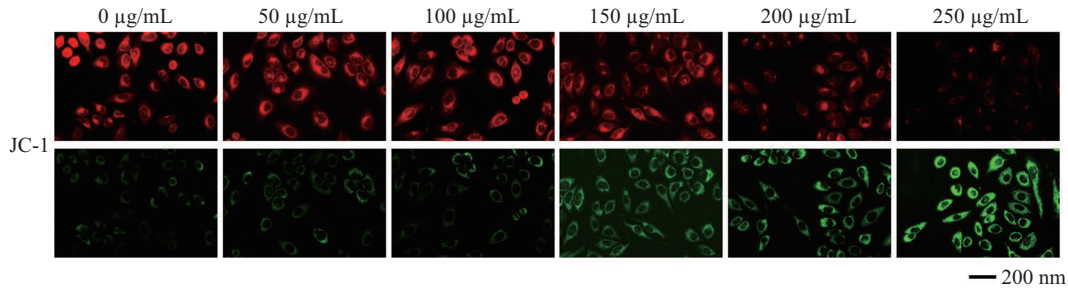
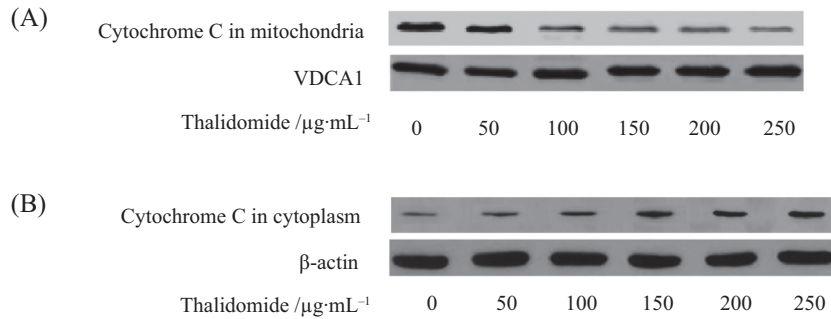


图3 沙利度胺诱导THP1细胞线粒体膜电位下降

Fig.3 Thalidomide induces a decrease in mitochondrial membrane potential in THP1 cells



A: 线粒体中细胞色素C蛋白含量; B: 胞质中细胞色素C蛋白含量。

A: cytochrome C protein content in mitochondria; B: the content of cytochrome C protein in cytoplasm.

图4 沙利度胺促进THP1细胞线粒体释放细胞色素C

Fig.4 Thalidomide promotes mitochondrial release of cytochrome C from THP1 cells

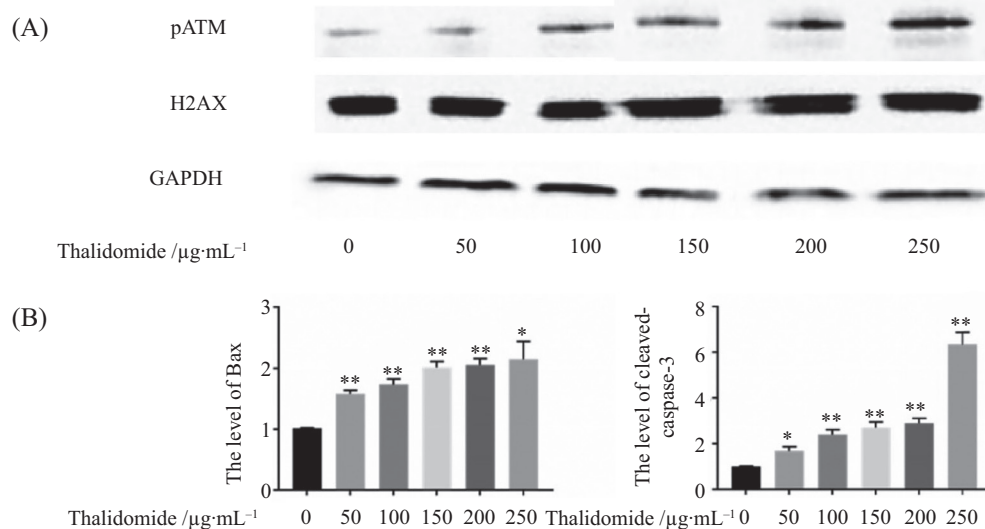
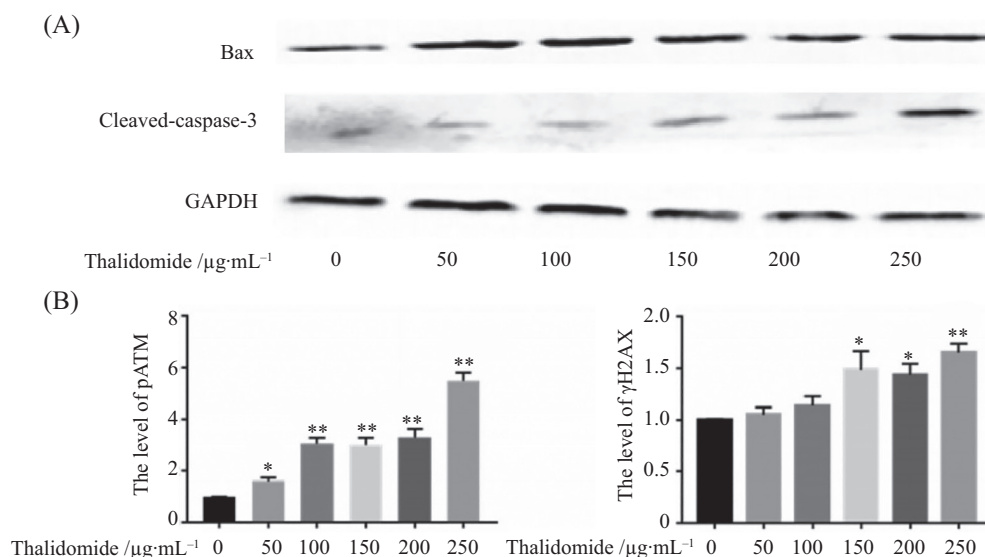
A: 沙利度胺不同浓度下细胞凋亡相关蛋白的含量; B: 比较Bax蛋白和cleaved-caspase-3蛋白表达量。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与对照组(0 $\mu\text{g/mL}$)相比。 $n=3$ 。A: the content of apoptosis related proteins at different concentrations of thalidomide; B: content comparison of Bax protein and cleaved-caspase-3 protein. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control group (0 $\mu\text{g/mL}$). $n=3$.

图5 沙利度胺对THP1细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Fig.5 Effect of thalidomide on the expression of apoptosis-related proteins in THP1 cells

发展和复发中起着关键作用,临床上将抗血管生成治疗作为AML治疗的一种新策略^[15]。沙利度胺作为一种公认的血管生成抑制剂,在AML中具有显著

的抗血管生成活性。这种有效的抗血管生成活性主要直接抑制内皮细胞增殖,降低碱性成纤维细胞生长因子的血浆水平,并下调神经纤毛蛋白-1的表达。



A: 沙利度胺不同浓度下DNA损伤相关蛋白的含量; B: 比较pATM蛋白和H2AX蛋白表达量。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与对照组(0 $\mu\text{g/mL}$)相比。 $n=3$ 。

A: the content of DNA damage related proteins at different concentrations of thalidomide; B: content comparison of pATM protein and H2AX protein. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ compared with control group (0 $\mu\text{g/mL}$). $n=3$.

图6 沙利度胺对THP1细胞DNA损伤相关蛋白表达的影响

Fig.6 Effect of thalidomide on the expression of DNA damage-related proteins in THP1 cells

神经纤毛蛋白-1是一种血管内皮生长因子受体,在急性髓系白血病中过度表达,与较低的存活率显著相关^[16]。除了抗血管生成活性外,沙利度胺可能还通过其他机制起到治疗AML的作用,例如阻断细胞周期,诱导自由基介导的DNA氧化损伤,调节免疫系统或改变黏附分子的轮廓^[17-18]。但是,对于沙利度胺在白血病细胞凋亡和DNA损伤的诱导作用中的机制仍然不甚了解。

本研究通过体外培养THP1细胞,用CCK-8法检测细胞增殖的结果表明沙利度胺可明显抑制THP1细胞的生长,且抑制效果具有浓度依赖性;Calcein/PI染色结果表明,沙利度胺能够诱导细胞凋亡,且药物浓度越高,对细胞凋亡的诱导作用越强。我们进一步探讨了沙利度胺诱导THP1细胞凋亡的作用机制。JC-1荧光染色检测线粒体膜电位的变化结果显示,沙利度胺可导致THP1细胞线粒体膜电位降低,Western blot实验表明,沙利度胺可导致线粒体内细胞色素C水平降低,胞质中细胞色素C蛋白水平升高,促凋亡蛋白(cleaved-caspase-3和Bax)的表达水平显著升高。其原因主要是,当接收到凋亡信号时,Bax重新定位于线粒体表面,在线粒体表面构成跨线粒体膜的孔,导致膜电位降低,膜通透性增加。线粒体膜电位的降低是细胞凋亡级联反应过程的早期阶

段,此时,线粒体内促凋亡因子(例如:Cyt C、AIF、SMAC/DIABLO、HTRA2/OMI、ENDO G)被释放到胞质中^[19]。Cyt C被释放到胞内以后,与Apaf-1相互作用,在ATP和dATP的协助下形成凋亡复合体,凋亡复合体通过招募并激活pro-caspase-9,形成caspase-9全酶。caspase-9全酶进一步激活效应caspase-3和caspase-7,启动caspase级联反应,切割细胞中如 α -tubulin、Actin、PARP、Lamin等超过100种的底物,最终导致THP1细胞凋亡^[20]。可见沙利度胺可通过上调促凋亡相关蛋白的表达,降低线粒体膜电位,下调线粒体内细胞色素C蛋白的水平诱导细胞凋亡。

经流式细胞仪检测细胞周期,结果表明THP1细胞经沙利度胺处理后, G_2/M 期的细胞比例升高,且沙利度胺浓度越高, G_2/M 期的细胞比例越高,提示沙利度胺诱导THP1细胞的 G_2/M 期发生阻滞。 G_2/M DNA损伤检查点是从酵母到哺乳动物等真核生物的重要细胞周期检查点,这个检查点确保细胞在复制后有机会修复受损的DNA,防止带有基因组DNA损伤的细胞进入有丝分裂。从 G_2/M 期发生阻滞的情况推断沙利度胺可能诱导THP1细胞DNA损伤。Western blot实验表明,沙利度胺上调DNA损伤应答相关蛋白(pATM和 γ H2AX)的表达。分析其原因,在细胞发生DNA断裂后的数分钟内,H2AX将会被ATM磷酸

化形成 γ H2AX, 进而迅速招募DNA修复蛋白和凋亡蛋白到损伤部位, 启动DNA修复和激活检查点的相关途径, 阻滞细胞周期的进展^[21-22]。由此可见, 沙利度胺具有诱导THP1细胞DNA损伤的作用。

综上所述, 本文探讨了沙利度胺抑制急性髓系白血病THP1细胞增殖, 诱导细胞凋亡的机制, 其可能是通过降低THP1细胞线粒体膜电位, 促进线粒体释放细胞色素C, 上调促凋亡相关蛋白的表达来激活线粒体凋亡途径的。此外, 沙利度胺可以诱导THP1细胞DNA损伤, 导致细胞G₂/M期发生阻滞, DNA损伤应答相关蛋白高度表达, 这也是沙利度胺诱导THP1细胞凋亡的一个重要机制。本研究初步探索了沙利度胺抗白血病的作用机制, 为AML的临床治疗提供了理论依据, 也为临床合理有效地使用沙利度胺提供了指导。

参考文献 (References)

- [1] NEWELL L F and COOK R J. Advances in acute myeloid leukemia [J]. *Bmj*, 2021, 375: n2026.
- [2] 吴璐, 张乐萍. 儿童急性髓系白血病治疗进展[J]. *临床儿科杂志* (WU J, ZHANG L P. Progress in the treatment of childhood acute myeloid leukemia [J]. *Journal of Clinical Pediatrics*), 2021, 39(9): 715-20
- [3] REVILLE P K and KADIA T M. Maintenance therapy in AML [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 619085.
- [4] TAKAMI A. Hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia [J]. *Int J Hematol*, 2018, 107(5): 513-8.
- [5] JETANI H, NAVARRO-BAILÓN A, MAUCHER M, et al. Siglec-6 is a novel target for CAR T-cell therapy in acute myeloid leukemia [J]. *Blood*, 2021, 138(19): 1830-42.
- [6] NEMATOLLAHI P, BARADARAN A, KASAEI KOOPAEI Z, et al. Angiogenesis and minimal residual disease in patients with acute myeloid leukemia [J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2020, 14(2): 93-8.
- [7] CHEN C, YANG J and XU W. Thalidomide in combination with chemotherapy in treating elderly patients with acute myeloid leukemia [J]. *Oncol Res Treat*, 2018, 41(7/8): 461-5.
- [8] MI R H, CHEN L, ZHOU Y L, et al. Synergistic mechanism of interferon alpha-1b, interleukin-2 and thalidomide for immune regulation in patients with acute myeloid leukemia [J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2021, 29(1): 26-31.
- [9] PICCOLOMO A, SCHIFONE C P, STRAFELLA V, et al. Immunomodulatory drugs in acute myeloid leukemia treatment [J]. *Cancers*, 2020, 12(9): 2528.
- [10] 邓黎黎, 张岩, 张壮苗, 等. 沙利度胺对白血病细胞NKG2D配体表达及NK细胞杀伤敏感性的影响[J]. *临床与病理杂志* (DENG L L, ZHANG Y, ZHANG Z M, et al. Effects of thalidomide on NKG2D ligand expression and NK cell killing sensitivity in leukemia cells [J]. *Journal of Clinical and Pathology*), 2022, 42 (1): 9-14.
- [11] WELLS P G, BHULLER Y, CHEN C S, et al. Molecular and biochemical mechanisms in teratogenesis involving reactive oxygen species [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 207(2 Suppl): 354-66.
- [12] MEDINGER M, HEIM D, HALTER J P, et al. Diagnosis and therapy of acute myeloid leukemia [J]. *Ther Umsch*, 2019, 76(9): 481-6.
- [13] KANTARJIAN H, KADIA T, DINARDO C, et al. Acute myeloid leukemia: current progress and future directions [J]. *Blood Cancer J*, 2021, 11(2): 41.
- [14] WANG Q Y, DONG Y J, LIANG Z Y, et al. Clinical analysis for patients with AML treated after Allo-HSCT [J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2020, 28(4): 1105-14.
- [15] HUANG D, SUN G, HAO X, et al. ANGPTL2-containing small extracellular vesicles from vascular endothelial cells accelerate leukemia progression [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(1): e138986.
- [16] SALLAM T H, EL TELBANY M A, MAHMOUD H M, et al. Significance of neuropilin-1 expression in acute myeloid leukemia [J]. *Turk J Haematol*, 2013, 30(3): 300-6.
- [17] MOHAMMADI KIAN M, HAGHI A, SALAMI M, et al. Arsenic trioxide and thalidomide combination induces autophagy along with apoptosis in acute myeloid cell lines [J]. *Cell J*, 2020, 22(2): 193-202.
- [18] MOHAMMADI KIAN M, SALEMI M, BAHADORAN M, et al. Curcumin combined with thalidomide reduces expression of STAT3 and Bcl-xL, leading to apoptosis in acute myeloid leukemia cell lines [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 185-94.
- [19] LUO Y, MA J and LU W. The significance of mitochondrial dysfunction in cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(16): 5598.
- [20] WANG W, ZHU M, XU Z, et al. Ropivacaine promotes apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through damaging mitochondria and activating caspase-3 activity [J]. *Biol Res*, 2019, 52(1): 36.
- [21] POPP H D, NAUMANN N, BRENDDEL S, et al. Increase of DNA damage and alteration of the DNA damage response in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias [J]. *Leuk Res*, 2017, 57: 112-8.
- [22] FELGENTREFF K, SCHUETZ C, BAUMANN U, et al. Differential DNA damage response of peripheral blood lymphocyte populations [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 739675.