

硼替佐米靶向NF- κ B信号通路抑制结外鼻型NK/T细胞淋巴瘤的研究

李建华¹, 张丽², 冯攸³, 邹立群^{1 Δ}

1. 四川大学华西医院 肿瘤科(成都 610041); 2. 国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院深圳医院 肿瘤内科(深圳 518116); 3. 四川大学华西第四医院 肿瘤科(成都 610041)

【摘要】 目的 研究硼替佐米对结外鼻型NK/T细胞淋巴瘤(ENKTL)的抗肿瘤作用。方法 单独使用不同质量浓度(0、1、2、4、5、6 ng/mL)硼替佐米处理SNK-6细胞24、48、72 h, 及不同浓度核因子- κ B (NF- κ B)信号通路抑制剂BAY11-7082(0、1、2.5、5、10、20 μ mol/L)处理SNK-6细胞24 h后, 采用CCK8法检测细胞存活率并计算其半数抑制浓度(IC₅₀)。联合使用30 μ mol/L Z-VAD-FMK(Pan-caspase抑制剂)+3 ng/mL硼替佐米, 以及5、10 μ mol/L BAY11-7082+3 ng/mL硼替佐米处理SNK-6细胞24 h, CCK8法检测细胞存活率。不同质量浓度硼替佐米处理SNK-6细胞24 h后, 采用Annexin V/PI流式细胞术检测细胞凋亡; Western blot检测凋亡相关蛋白Caspase-3、多聚ADP核糖聚合酶(PARP)和Bcl-2的表达, 检测NF- κ B信号通路相关蛋白P65和P100/P52的表达。结果 硼替佐米可呈剂量依赖性的抑制SNK-6细胞增殖($P < 0.05$), 24 h IC₅₀ [(2.87 \pm 0.06) ng/mL] 低于48 h和72 h($P < 0.05$)。BAY11-7082亦可抑制SNK-6细胞增殖, 24 h IC₅₀=(9.73 \pm 0.36) μ mol/L。联合用药结果表明, Z-VAD-FMK能减弱硼替佐米对SNK-6细胞增殖的抑制作用($P < 0.05$), BAY11-7082能增强硼替佐米对SNK-6细胞增殖的抑制作用($P < 0.05$)。硼替佐米处理SNK-6细胞24 h后, 凋亡相关蛋白Caspase-3裂解、PARP激活, 以及Bcl-2裂解; NF- κ B信号通路相关蛋白P65磷酸化水平降低, P52减少。结论 硼替佐米通过阻断NF- κ B信号通路抑制ENKTL细胞增殖, 并且经线粒体介导的Caspase途径诱导ENKTL细胞凋亡。

【关键词】 结外鼻型NK/T细胞淋巴瘤(ENKTL) 硼替佐米 凋亡 NF- κ B信号通路 BAY11-7082

Bortezomib Inhibits Extranodal Natural Killer/T Cell Lymphoma, Nasal Type by Targeting NF- κ B Signaling Pathway
LI Jian-hua¹, ZHANG Li², FENG You³, ZOU Li-qun^{1 Δ} . 1. Department of Oncology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Oncology, National Cancer Center/National Clinical Research Center for Cancer/Cancer Hospital&Shenzhen Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Shenzhen 518116, China; 3. Department of Oncology, No. 4 West China Teaching Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Δ Corresponding author, E-mail: zliqun@hotmail.com

【Abstract】 Objective To investigate the anti-tumor effect of bortezomib on extranodal natural killer/T cell lymphoma, nasal type (ENKTL). **Methods** SNK-6 cells were treated with different mass concentrations of bortezomib (0, 1, 2, 4, 5, 6 ng/mL) for 24, 48, 72 h, and different concentrations of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) signaling pathway inhibitor BAY11-7082 (0, 1, 2, 2.5, 5, 10, 20 μ mol/L) for 24 h respectively, then the cell viability was measured by CCK8 kit and the half inhibitory concentration (IC₅₀) was calculated. SNK-6 cells were treated with 30 μ mol/L Z-VAD-FMK (Pan-caspase inhibitor)+3 ng/mL bortezomib, and 5, 10 μ mol/L BAY11-7082+3 ng/mL bortezomib for 24 h respectively, then the cell viability was measured by CCK8 kit. After treatment of SNK-6 cells with different mass concentrations of bortezomib for 24 h, apoptosis was detected by Annexin V/PI flow cytometry; the expression of apoptosis-related protein Caspase-3, poly ADP-ribose polymerase (PARP) and Bcl-2 and NF- κ B signaling pathway key proteins P65 and P100/P52 were detected by Western blot. **Results** Bortezomib inhibited the proliferation of SNK-6 cells in a dose-dependent manner ($P < 0.05$), and IC₅₀ [(2.87 \pm 0.06) ng/mL] at 24 h was lower than that at 48 h and 72 h ($P < 0.05$). BAY11-7082 also inhibited the proliferation of SNK-6 cells with an IC₅₀=(9.73 \pm 0.36) μ mol/L at 24 h. The combination treatment indicated that Z-VAD-FMK could attenuate the inhibitory effect of bortezomib on the proliferation of SNK-6 cells ($P < 0.05$), while BAY11-7082 could enhance the inhibitory effect of bortezomib on the proliferation of SNK-6 cells ($P < 0.05$). After treatment of SNK-6 cells with bortezomib for 24 h, apoptosis-related protein Caspase-3 cleavage, PARP activation, and Bcl-2 cleavage; NF- κ B signaling pathway-related protein P65 phosphorylation level decreased, and P52 decreased. **Conclusion** Bortezomib inhibits ENKTL cells proliferation by inhibiting NF- κ B signaling pathway and induces apoptosis of ENKTL cells via mitochondria-mediated caspase pathway.

【Key words】 Extranodal natural killer/T cell lymphoma, nasal type (ENKTL) Bortezomib Apoptosis
NF- κ B signaling pathway BAY11-7082

结外鼻型NK/T细胞淋巴瘤(extranodal natural killer/T cell lymphoma, nasal type, ENKTL)是高度侵袭性恶性淋巴瘤,主要起源于NK细胞,少数起源于T细胞^[1]。ENKTL发病具有明显地理差异,亚洲及南美洲明显高于欧洲和北美洲^[2]。I/II期ENKTL患者一线治疗客观缓解率达80%以上,但复发率高,晚期ENKTL患者2年总生存(overall survival, OS)率仅为40.5%^[3]。

核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)家族由5种蛋白组成,包括NF- κ B1(P105/P50)、NF- κ B2(P100/P52)、RelA(P65)、RelB以及c-Rel,均以无活性的形式存在于细胞质中,通过形成RelA-c-Rel-P50聚合物以及RelB-P52聚合物分别经经典信号通路和非经典信号通路激活后进入细胞核,参与靶基因的转录调节^[4]。NF- κ B信号通路参与调节细胞周期和细胞凋亡,靶向NF- κ B通路治疗可能代表了恶性肿瘤治疗的合理方法^[5]。研究证实存在ENKTL中存在NF- κ B信号通路异常激活^[6-7]。

硼替佐米是FDA批准的治疗多发性骨髓瘤以及套细胞淋巴瘤的蛋白酶体抑制剂^[8]。硼替佐米通过抑制NF- κ B信号通路诱导皮肤T细胞淋巴瘤和套细胞淋巴瘤凋亡^[9-10]。研究报道硼替佐米能诱导NK-白血病细胞和NK-淋巴瘤细胞凋亡,但具体作用机制不明^[11]。因此,本研究旨在探索硼替佐米是否能通过靶向NF- κ B信号通路对ENKTL发挥抗肿瘤作用。

1 材料及方法

1.1 细胞系、药物、主要试剂及仪器

ENKTL细胞系SNK-6^[12]〔EB病毒阳性(EBV⁺)〕(郑州大学附属医院张明智教授赠予),培养基为RPMI-1640(Glisco, USA)加入10%灭活人AB血清、700 U/mL白细胞介素(IL)-2(长春生物)、100 U/mL青霉素及100 mg/mL链霉素(Hyclone),置于37℃、体积分数为5%CO₂孵箱中。

硼替佐米(万珂)、NF- κ B信号通路抑制剂BAY11-7082(MCE)、Pan-caspase抑制剂Z-VAD-FMK(Sigma)。一抗:抗鼠Caspase-3、抗兔多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)、抗鼠Bcl-2均购自CST,抗兔NF- κ B P65、抗兔NF- κ B磷酸化P65、抗兔NF- κ B P100/52均购自Santa Cruz。HRP标记二抗(Santa Cruz)。CCK8试剂盒(日本同仁)、Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒(碧云天)。酶标仪(Model 680, Bio-Rad)、流式细胞仪(ESP Elite, Beckman Coulter)、SDS-PAGE凝胶电泳及转膜装置(Mini

Trans-Blot Electrophoretic)。

1.2 细胞增殖实验

取对数生长期SNK-6细胞铺于96孔板,细胞密度为 $1 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$,每孔滴加190 μL ,同时设置空白组(190 μL 培养基,不含细胞)。然后分别进行增殖实验。

1.2.1 CCK-8法检测硼替佐米对SNK-6细胞增殖的影响 培养12 h后,细胞分为6组,分别加入10 μL 生理盐水(对照组),1、2、4、5、6 ng/mL硼替佐米,继续培养24、48、72 h, CCK8法检测细胞活力,严格按照试剂盒说明书操作。细胞活力(%) = $\frac{[\text{光密度}(OD)_{\text{硼替佐米}} - OD_{\text{空白}}]}{[OD_{\text{对照}} - OD_{\text{空白}}]} \times 100\%$ 。实验重复3次,每个质量浓度设置3个复孔。使用GraphPad Prism 6软件Dose-response-Inhibition计算24、48、72 h药物半数抑制浓度(IC₅₀),取IC₅₀最低者进行后续实验。

1.2.2 CCK-8法检测Pan-caspase抑制剂Z-VAD-FMK对硼替佐米抑制SNK-6细胞增殖作用的影响 培养12 h后,细胞分为4组,分别加入10 μL 生理盐水(对照组)、30 $\mu\text{mol/L}$ Z-VAD-FMK、3 ng/mL(IC₅₀)硼替佐米、30 $\mu\text{mol/L}$ Z-VAD-FMK+3 ng/mL(IC₅₀)硼替佐米,继续培养24 h后, CCK8法检测细胞活力(同1.2.1)。

1.2.3 CCK-8法检测NF- κ B信号通路抑制剂BAY11-7082对SNK-6细胞增殖的影响 培养12 h后,细胞分为6组,分别加入10 μL 生理盐水(对照组),1、2.5、5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082,继续培养24 h后, CCK8法检测细胞活力并计算其IC₅₀(同1.2.1)。

1.2.4 CCK-8法检测NF- κ B信号通路抑制剂BAY11-7082对硼替佐米抑制SNK-6细胞增殖作用的影响 培养12 h后,细胞分为6组,分别加入10 μL 生理盐水(对照组)、3 ng/mL(IC₅₀)硼替佐米、5 $\mu\text{mol/L}$ (1/2 IC₅₀) BAY11-7082、10 $\mu\text{mol/L}$ (IC₅₀) BAY11-7082、5 $\mu\text{mol/L}$ (1/2 IC₅₀) BAY11-7082+3 ng/mL(IC₅₀)硼替佐米、10 $\mu\text{mol/L}$ (IC₅₀) BAY11-7082+3 ng/mL(IC₅₀)硼替佐米,继续培养24 h后, CCK8法检测细胞活力(同1.2.1)。

1.3 细胞凋亡实验

取对数生长期SNK-6细胞铺于6孔板,细胞密度为 $1 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$,每孔滴加1.5 mL。培养12 h后,细胞分为3组,分别加入10 μL 生理盐水(对照组),1.5(1/2 IC₅₀)、3(IC₅₀) ng/mL硼替佐米,继续培养24 h。采用Annexin V-FITC/PI双染细胞凋亡检测试剂盒,流式细胞仪检测细胞凋亡。实验重复3次,每个质量浓度设置3个复孔。统计早期+晚期凋亡细胞百分率。

1.4 Western blot实验

采用Western blot法检测凋亡相关蛋白Caspase-3、

PARP、Bcl-2和NF-κB信号通路相关蛋白P65和P100/P52的表达。细胞分为4组,分别使用10 μL生理盐水(对照组),1.5(1/2 IC₅₀)、3(IC₅₀)、4.5(3/2 IC₅₀) ng/mL硼替佐米处理对数生长期SNK-6细胞,24 h后提取总细胞。使用含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的RIPA缓冲液裂解细胞。BCA法测蛋白浓度。SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白、转膜。转膜后使用溶于TBST的5%脱脂牛奶室温封闭1.5 h,孵一抗(抗鼠Caspase-3、抗兔PARP、抗鼠Bcl-2、抗兔NF-κB P65、抗兔NF-κB磷酸化P65、抗兔NF-κB P100/P52),4 ℃过夜。TBST洗3次,孵二抗,常温2 h。TBST洗6次后,加入显影液,在曝光机上采集图片,定性观察条带显影。

1.5 统计学方法

所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用t检验,多组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 硼替佐米对SNK-6细胞增殖的抑制作用

不同质量浓度硼替佐米处理SNK-6细胞24、48、72 h后,细胞活力随着质量浓度的增加而降低(图1)。IC₅₀分别为(2.87±0.06)、(3.53±0.46)、(3.89±0.09) ng/mL,硼替佐米处理细胞24 h的IC₅₀低于48 h和72 h($P < 0.05$)。根据24 h IC₅₀,取近似整数3 ng/mL进行后续实验。

2.2 硼替佐米对SNK-6细胞凋亡的诱导作用

流式细胞仪分析结果显示(图2),对照组、1.5 ng/mL硼替佐米组、3 ng/mL硼替佐米组凋亡细胞百分率分别为(12.40±1.97)%、(17.95±2.39)%、(51.91±3.93)%、3 ng/mL硼替佐米诱导SNK-6细胞凋亡率高于1.5 ng/mL硼替佐米($P < 0.05$)。

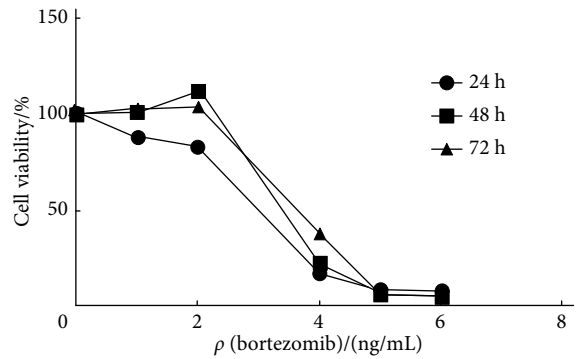


图1 硼替佐米对SNK-6细胞增殖的抑制作用

Fig 1 Bortezomib inhibits the proliferation of SNK-6

2.3 硼替佐米对凋亡相关蛋白表达及联合用Z-VAD-FMK对细胞增殖的影响

硼替佐米处理SNK-6细胞24 h,随着硼替佐米质量浓度的增加,凋亡效应分子Caspase-3、PARP裂解,相对分子质量 29×10^3 的Bcl-2裂解为相对分子质量 22×10^3 ,由抗凋亡蛋白变为促凋亡蛋白(图3A)。使用Pan-caspase抑制剂Z-VAD-FMK 30 μmol/L处理SNK-6细胞,对细胞增殖无明显影响($P > 0.05$),与3 ng/mL硼替佐米同时处理细胞后,硼替佐米抑制细胞生长能力明显减弱($P = 0.003$)(图3B)。证实线粒体介导的Caspase途径参与硼替佐米诱导SNK-6细胞凋亡,从而抑制细胞增殖。

2.4 硼替佐米对NF-κB信号通路关键蛋白分子表达及联合用BAY11-7082对细胞增殖的影响

硼替佐米处理SNK-6细胞后,NF-κB经典信号通路途径中磷酸化的P65(phospho-P65)蛋白降低,NF-κB非经典信号通路中无活性的P100蛋白及其活性形式P52蛋白降低,硼替佐米质量浓度越高,效应越明显(图4A)。NF-κB信号通路抑制剂BAY11-7082呈剂量依赖性抑制SNK-6细胞增殖,IC₅₀=(9.73±0.36) μmol/L,

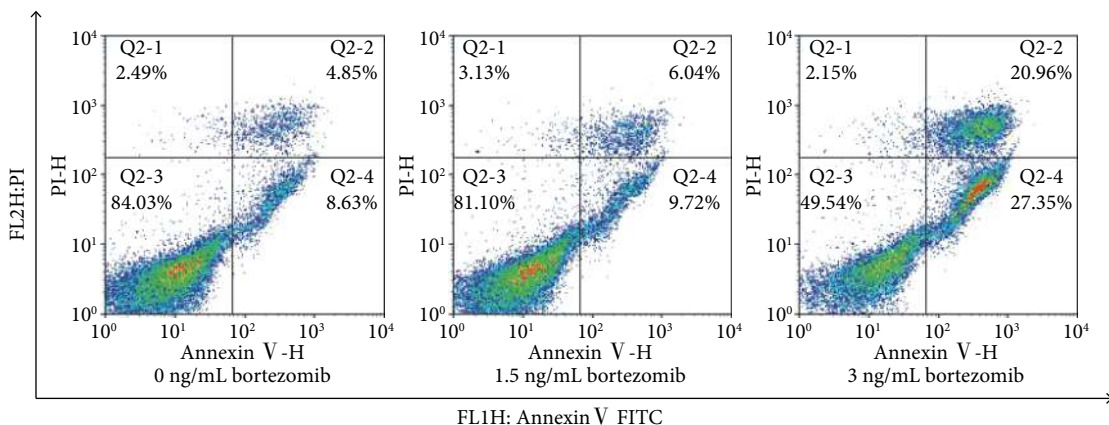


图2 硼替佐米对SNK-6细胞凋亡的诱导作用

Fig 2 Bortezomib induces apoptosis in SNK-6 cells

BAY11-7082浓度达20 $\mu\text{mol/L}$ 时,SNK-6细胞几乎全部死亡(图4B)。另外,BAY11-7082与硼替佐米在抑制SNK-6细胞增殖方面具有相互促进作用(图4C)。5 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082+3 ng/mL硼替佐米与单独使用5 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082比较,10 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082+

3 ng/mL硼替佐米与单独使用10 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082比较,10 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082+3 ng/mL硼替佐米与单独使用3 ng/mL硼替佐米比较,细胞活力均降低($P<0.05$)。证实硼替佐米通过抑制P65磷酸化和P100/P52表达阻断NF- κB 信号通路,从而抑制SNK-6细胞增殖。

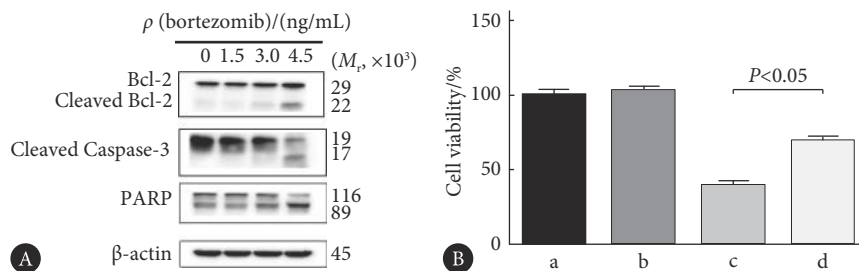


图3 线粒体介导的Caspase途径凋亡相关蛋白表达(A)与硼替佐米联合Z-VAD-FMK对SNK-6细胞增殖(B)的影响

Fig 3 Effect of mitochondria-mediated Caspase pathway apoptosis-related protein (A) and bortezomib combined with Z-VAD-FMK on proliferation of SNK-6 cells (B)

A: Western blot; B: CCK8 kit [a: Saline (control group); b: 30 $\mu\text{mol/L}$ Z-VAD-FMK; c: 3 ng/mL bortezomib; d: 30 $\mu\text{mol/L}$ Z-VAD-FMK+3 ng/mL bortezomib]

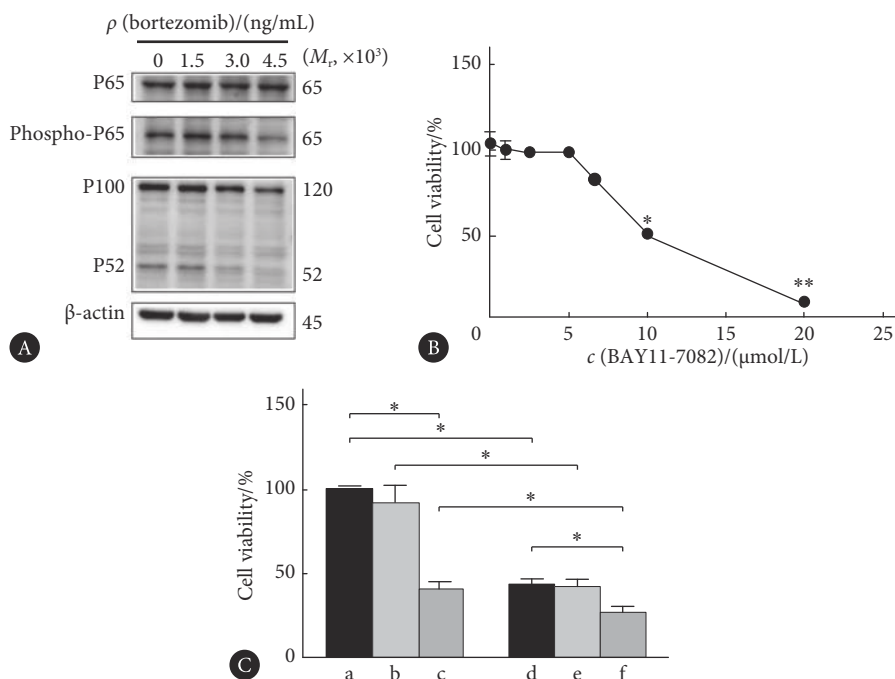


图4 NF- κB 信号通路蛋白表达(A)与BAY11-7082单独处理(B)及联合硼替佐米处理(C)对SNK-6细胞增殖的影响

Fig 4 Effect of NF- κB signaling pathway protein (A) and single BAY11-7082 (B) and BAY11-7082 combined with Bortezomib (C) on proliferation of SNK-6 cells

A: Western blot; B: 0, 1, 2.5, 5, 10, 20 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082 treatment of SNK-6 cells 24 h respectively, CCK8 kit detect cell viability ($n=3$, $*P<0.01$, $**P<0.001$, vs. former concentration); C: Saline (control group), a), 5 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082 (b), 10 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082 (c), 3 ng/mL bortezomib (d), 5 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082+3 ng/mL bortezomib (e), 10 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082+3 ng/mL bortezomib (f) treatment of SNK-6 cells 24 h respectively, CCK8 kit detect cell viability ($*P<0.01$)

3 讨论

ENKTL在中国淋巴瘤发病率中仅次于弥漫大B细胞淋巴瘤,是高度恶性肿瘤,局部放疗、以左旋门冬酰胺酶为主的化疗以及造血干细胞移植是ENKTL主要

治疗方案^[2]。目前尚未建立基于随机对照临床试验的标准治疗方案。本研究证实,蛋白酶体抑制剂硼替佐米能有效抑制SNK-6细胞增殖并诱导其凋亡,24 h IC_{50} 仅为(2.87 \pm 0.06) ng/mL。为使用硼替佐米治疗ENKTL提供了临床前依据。本研究首次在蛋白水平

证实在ENKTL细胞株SNK6中存在NF- κ B信号通路关键蛋白分子表达,且特异性抑制NF- κ B信号通路能抑制ENKTL细胞增殖,为ENKTL靶向治疗提供有价值的线索。

研究^[13]表明,在CD30⁺渐变细胞淋巴瘤(ALCLs)中,硼替佐米通过抑制26S蛋白酶体活性而导致细胞内促凋亡蛋白Bax激活,Bax促使细胞色素c从线粒体释放入细胞质中,导致Caspase凋亡信号通路激活,最终表现为Caspase-3以及PARP裂解激活;并且,硼替佐米引起ALCLs细胞内抗凋亡蛋白Mcl-1降解,进一步促进细胞凋亡过程;Z-VAD-FMK作为泛Caspase抑制剂,能阻止硼替佐米引起的ALCLs细胞内抗凋亡蛋白降解及PARP激活,进而发挥抗凋亡作用。本研究证实,硼替佐米处理SNK-6细胞后,Caspase-3激活,进而促进PARP裂解,促使细胞凋亡。并且,活化的Caspase-3能使相对分子质量 29×10^3 的Bcl-2裂解为相对分子质量 22×10^3 ,使其失去抗凋亡活性^[10],进一步促进凋亡发生。Z-VAD-FMK与硼替佐米同时处理SNK-6细胞后,明显减弱硼替佐米对SNK-6细胞的细胞毒作用。再次证实细胞凋亡在硼替佐米抗SNK-6中发挥重要作用。

硼替佐米与NF- κ B信号通路的关系一直是研究热点。 κ B抑制蛋白(I κ Bs)作为NF- κ B抑制分子,通过泛素化-蛋白酶体依赖途径降解,I κ Bs降解后,NF- κ B进入细胞核参与抗凋亡基因及促细胞生长基因的转录。硼替佐米通过抑制蛋白酶体作用,从而抑制I κ B降解,进而阻断NF- κ B信号通路激活^[14]。硼替佐米最初在多发性骨髓瘤中应用的依据是其能抑制NF- κ B信号通路,但有研究表明,在多发性骨髓瘤细胞中,使用硼替佐米后反而激活经典的NF- κ B信号通路,而由于无活性P100蛋白转化为有活性的P52蛋白依赖蛋白酶体水解作用,因此硼替佐米抑制的是NF- κ B非经典信号通路^[15]。但是,在EBV感染的B淋巴细胞中,硼替佐米同时抑制经典及非经典的NF- κ B信号通路^[16]。因此,硼替佐米处理后NF- κ B信号通路变化与细胞类型有关。本研究证实SNK-6细胞中,硼替佐米抑制P65及P100活化,表明硼替佐米处理SNK-6细胞后NF- κ B经典及非经典信号通路激活均受到抑制。BAY11-7082为I κ B α 磷酸化特异性抑制剂,通过抑制I κ B α 降解而抑制NF- κ B信号通路激活。BAY11-7082能诱导EBV感染的B细胞以及人类T淋巴细胞白血病I型病毒(HTLV-I)感染的T细胞和原发于成人T细胞的白血病细胞凋亡^[16-17]。为了验证抑制NF- κ B信号通路是否影响ENKTL淋巴瘤细胞的活性,使用BAY11-7082处理SNK-6细胞后,细胞活力受到明显抑制,并且,当浓度达到20 μ mol/L时,细胞

几乎全部死亡。说明NF- κ B信号通路参与维持ENKTL细胞的存活。并且BAY11-7082能增强硼替佐米对SNK-6细胞的细胞毒作用。

综上,硼替佐米通过阻断NF- κ B信号通路抑制SNK-6细胞增殖,并且硼替佐米可经线粒体介导的Caspase依赖途径诱导SNK-6细胞凋亡。硼替佐米处理SNK-6细胞后抑制NF- κ B信号通路、促进Caspase-3裂解激活的具体分子机制尚需进一步研究。同时,需要动物实验进一步证实硼替佐米对ENKTL的抑制作用。

参 考 文 献

- [1] INGHIRAMI G, CHAN WC, PILERI S, *et al.* Peripheral T-cell and NK cell lymphoproliferative disorders: cell of origin, clinical and pathological implications. *Immunol Rev*, 2015, 263(1): 124-159.
- [2] SUN J, YANG Q, LU Z, *et al.* Distribution of lymphoid neoplasms in China analysis of 4638 cases according to the World Health Organization classification. *Am J Clin Pathol*, 2012, 138(3): 429-434.
- [3] SUZUKI R. NK/T cell lymphoma: updates in therapy. *Curr Hematol Malig Rep*, 2018, 13(1): 7-12.
- [4] BONIZZU G, KARIN M. The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol*, 2004, 25(6): 280-288.
- [5] MITCHELL S, VARGAS J, HOFFMANN A. Signaling via the NF- κ B system. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2016, 8(3): 227-241.
- [6] HUANG Y, DE REYNIES A, DE LEVAL L, *et al.* Gene expression profiling identifies emerging oncogenic pathways operating in extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Blood*, 2010, 115(6): 1226-1237.
- [7] LIU X, WANG B, MA X, *et al.* NF- κ B Activation through the alternative pathway correlates with chemoresistance and poor survival in extra-nodal NK/T-cell lymphoma, Nasal type. *Jpn J Clin Oncol*, 2009, 39(7): 418-424.
- [8] MUJTABA T, DOU QP. Advances in the understanding of mechanisms and therapeutic use of bortezomib. *Discov Med*, 2011, 12(67): 471-480.
- [9] SORS A, JEAN-LOUIS F, PELLET C, *et al.* Down-regulating constitutive activation of the NF- κ B canonical pathway overcomes the resistance of cutaneous T-cell lymphoma to apoptosis. *Blood*, 2006, 107(6): 2354-2363.
- [10] PHAM LV, TAMAYO AT, YOSHIMURA LC, *et al.* Inhibition of constitutive NF- κ B activation in mantle cell lymphoma B cells leads to induction of cell cycle arrest and apoptosis. *J Immunol*, 2003, 171(1): 88-95.
- [11] SHEN L, AU WY, GUO T, *et al.* Proteasome inhibitor bortezomib-induced apoptosis in natural killer (NK)-cell leukemia and lymphoma: an *in vitro* and *in vivo* preclinical evaluation. *Blood*, 2007, 110(1): 469-470.
- [12] NAGATA H, KONNO A, KIMURA N, *et al.* Characterization of novel natural killer (NK)-cell and $\gamma\delta$ T-cell lines established from primary lesions of nasal T/NK-cell lymphomas associated with the Epstein-Barr virus. *Blood*, 2001, 97(3): 708-713.

- [13] BONVINI P, ZORZI E, BASSO G, *et al.* Bortezomib-mediated 26S proteasome inhibition causes cell-cycle arrest and induces apoptosis in CD-30⁺ anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia*, 2007, 21(40): 838-842.
- [14] LEONARD JP, FURMAN RR, COLEMAN M. Proteasome inhibition with bortezomib: a new therapeutic strategy for non-Hodgkin's lymphoma. *Int J Cancer*, 2006, 119(5): 971-979.
- [15] HIDESHIMA T, IKEDA H, CHAUHAN D, *et al.* Bortezomib induces canonical nuclear factor- κ B activation in multiple myeloma cells. *Blood*, 2009, 114(5): 1046-1052.
- [16] ZOU P, KAWADA J, PESNICAK L, *et al.* Bortezomib induces apoptosis of epstein-barr virus (EBV)-transformed B cells and prolongs survival of mice inoculated with EBV-transformed B cells. *J Virol*, 2007, 81(18): 10029-10036.
- [17] MORI N, YAMADA Y, IKEDA S, *et al.* Bay 11-7082 inhibits transcription factor NF- κ B and induces apoptosis of HTLV- I -infected T-cell lines and primary adult T-cell leukemia cells. *Blood*, 2002, 100(5): 1828-1834.

(2018-09-17收稿, 2019-01-20修回)

编辑 余琳