



Tenacigenin B suppress Acute Myeloid Leukemia via Regulation MAPK Pathway

Bang-Yun MA^{1,2}, Meng-Ya WANG^{1,2}, Xing-Bin DAI¹, Li LIU¹ & Xue-Mei SUN^{1*}

¹ The affiliated Hospital of Nanjing University of TCM,
Jiangsu Province Hospital of TCM, Nanjing 210029, China

² No. 1 Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing,
Jiangsu 210023, China

SUMMARY. The objective was to investigate the effects of tenacigenin B on apoptosis of human acute myeloid leukemia cell lines HL-60, NB-4, and K562 and the underlying mechanisms. The inhibitory effect of tenacigenin B on the proliferation of human acute myeloid leukemia cell lines HL-60, NB-4 and K562 was observed by MTT assay; the effect of tenacigenin B on the morphology of apoptotic nuclei in these cell lines was detected using Hoechst 33258 staining; the effect of tenacigenin B on the apoptosis rate and mitochondrial membrane potential of these cell lines was determined by flow cytometry; expression of apoptosis-related proteins, including caspase-3, caspase-8, caspase-9, and PARP, and p38, p-p38, ERK1/2, p-ERK1/2, JNK1/2, and p-JNK1/2 in HL-60 cells was determined by Western blot after treated with enacigenin B for 24 h; and a nude mouse xenograft model was constructed by subcutaneous injection of HL-60 cells to evaluate the antitumor effect of tenacigenin B *in vivo*. Tenacigenin B inhibited the proliferation of human acute myeloid leukemia cell lines and induced cell apoptosis in a concentration- and time-dependent manner, and caspase-3, caspase-8, and caspase-9 were activated with cleaved PARP. In addition, the phosphorylation of p38, JNK1/2 and ERK1/2 proteins was also up-regulated to different degrees. Further inhibition assay confirmed that the activation of caspase induced by tenacigenin B was reversed by inhibiting the MAPK pathway. *In vivo* assay showed that tenacigenin B effectively inhibited the growth of transplanted tumors. In conclusion, tenacigenin B induces apoptosis of acute myeloid leukemia cells via caspase-dependent pathways, and upstream MAPK signaling pathway is involved in the regulation of this biological process.

RESUMEN. El objetivo fue investigar los efectos de tenacigenina B en la apoptosis de las líneas celulares de leucemia mieloide aguda humana HL-60, NB-4 y K562 y los mecanismos subyacentes. El efecto inhibitorio de tenacigenina B sobre la proliferación de líneas celulares de leucemia mieloide aguda humana HL-60, NB-4 y K562 se observó mediante el ensayo MTT; el efecto de la tenacigenina B en la morfología de los núcleos apoptóticos en estas líneas celulares se detectó mediante la tinción de Hoechst 33258; el efecto de la tenacigenina B sobre la tasa de apoptosis y el potencial de membrana mitocondrial de estas líneas celulares se determinó mediante citometría de flujo; la expresión de proteínas relacionadas con la apoptosis, que incluyen caspasa-3, caspasa-8, caspasa-9 y PARP, y p38, p-p38, ERK1/2, p-ERK1/2, JNK1/2 y p-JNK1/2 en las células HL-60 se determinó mediante transferencia de Western después de tratarse con tenacigenina B durante 24 h y se construyó un modelo de xenoinjerto de ratón desnudo mediante inyección subcutánea de células HL-60 para evaluar el efecto antitumoral de tenacigenina B *in vivo*. La tenacigenina B inhibió la proliferación de líneas celulares humanas de leucemia mieloide aguda e indujo apoptosis celular de forma dependiente de la concentración y el tiempo, y la caspasa-3, la caspasa-8 y la caspasa-9 se activaron con PARP escindida. Además, la fosforilación de las proteínas p38, JNK1/2 y ERK1/2 también fue regulada al alza en diferentes grados. Ensayo de inhibición adicional confirmaron que la activación de la caspasa inducida por tenacigenina B se invirtió al inhibir la vía MAPK. El ensayo *in vivo* mostró que tenacigenina B inhibía eficazmente el crecimiento de los tumores trasplantados. En conclusión, tenacigenina B induce la apoptosis de las células de la leucemia mieloide aguda a través de las vías dependientes de la caspasa, y la vía de señalización MAPK corriente arriba participa en la regulación de este proceso biológico.

KEY WORDS: acute myeloid leukemia, apoptosis, MAPK, tenacigenin B.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: suxuemei1116@163.com