

# 青蒿素衍生物 DHA/ARTS 诱导肾癌细胞系 786-0 发生铁死亡的机制

黄成丽 林芳荣 李根 王忠玲 王雪娇

(海南医学院第一附属医院门诊部, 海南海口 570145)

**【摘要】** 目的 探讨双氢青蒿素(DHA)/青蒿琥酯(ARTS)诱导肾癌细胞系 786-0 发生铁死亡的机制。方法 将 DHA/ARTS 刺激肾癌细胞系 786-0, 确定 DHA/ARTS 所诱导的肾癌细胞死亡即为铁死亡; 利用 RT-qPCR、Western blot 等实验技术, 观察 NCOA4 和 FTH1 在 DHA/ARTS 作用后的变化; 两种不同 siRNA 敲减 NCOA4 后, 观察 DHA/ARTS 对 786-0 作用的变化; 构建 pmCherry-EGFP-FTH1 质粒和荧光显色, 过表达该质粒, 观察 DHA/ARTS 作用后荧光颜色及亮度变化, 判断 FTH1 的自噬降解情况; 敲减 NCOA4 后再转染 pmCherry-GFP-FTH1 质粒, 检测 DHA/ARTS 作用后荧光颜色及亮度变化, 探索 NCOA4 调节 FTH1 的自噬降解。结果 786-0 细胞系在 DHA 和 ARTS 作用后, 从显微镜观察和 CCK-8 检测, 显示细胞发生了明显死亡, 并且随着药物浓度的增大存活细胞数越少。而且由 DHA 和 ARTS 所产生的致死作用可以被铁死亡抑制剂 DFO 和 Fer-1 所抑制。DHA 和 ARTS 作用下 786-0 细胞内 ROS 的荧光强度明显高于对照组, 差异有统计学意义( $q=2.894, 2.342; P<0.05$ )。在铁死亡抑制剂 DFO 和 Fer-1 干预下, DHA+DFO 组、DHA+ Fer-1 组、ARTS+DFO 组、ARTS+ Fer-1 组 786-0 细胞内 ROS 的荧光强度明显低于 DHA 组和 ARTS 组( $P<0.05$ )。从自噬结果来看, DHA 组和 ARTS 组的细胞自噬率明显高于对照组( $P<0.05$ ), 并且 50 $\mu$ M 的 DHA 和 ARTS 组细胞的自噬率明显高于 20  $\mu$ M 的 DHA 和 ARTS 组( $P<0.05$ )。在 siRNA-NCOA4 沉默 NCOA4 表达后, 细胞自噬率明显降低( $P<0.05$ )。结论 青蒿素衍生物 DHA 和 ARTS 可诱导 786-0 肾癌细胞系发生铁死亡, 其致铁死亡的发生是通过 NCOA4 介导 FTH1 特异性自噬降解而实现的。

**【关键词】** 双氢青蒿素; 青蒿琥酯; 铁死亡; NCOA4; FTH1

**【中图分类号】** R737.11 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2022.02.005

## Mechanism of iron death induced by artemisinin derivative DHA/ARTS in 786-0 cell line

HUANG Chengli, LIN Fangrong, LI Gen, WANG Zhongling, WANG Xuejiao

(Department of Outpatient, The First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570145, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the mechanism of iron death induced by dihydroartemisinin (DHA)/artesunate (ARTS) in kidney cancer cell line 786-0. **Methods** After DHA/ARTS stimulated kidney cancer cell line 786-0, the renal cancer cell death induced by DHA/ARTS was determined as iron death. The changes of NCOA4 and FTH1 after DHA/ARTS were observed by RT-qPCR and Western blot. The effects of DHA/ARTS on 786-0 were observed after NCOA4 was knocked down by two different siRNA. The plasmid pmCherry-EGFP-FTH1 was constructed and overexpressed. The changes of fluorescence color and brightness after DHA/ARTS were observed to determine the autophagy degradation of FTH1. After NCOA4 was deleted, pmCherry-GFP-FTH1 plasmid was transfected. The fluorescence color and brightness of DHA/ARTS were detected, and the autophagy degradation of FTH1 was regulated by NCOA4. **Results** 786-0 cell line treated with DHA and ARTS, the cell death was observed by microscope and CCK-8, and the number of viable cells decreased with the increase of drug concentration. The lethal effects of DHA and ARTS could be inhibited by iron death inhibitors DFO and Fer-1. The fluorescence intensity of ROS in 786-0 cells under DHA and ARTS was significantly higher than that in control group, and the difference was statistically significant ( $2.894, 2.342; P<$

通信作者: 王雪娇, E-mail: 442003413@qq.com

引用本文: 黄成丽, 林芳荣, 李根, 等. 蒿素衍生物 DHA/ARTS 诱导肾癌细胞系 786-0 发生铁死亡的机制[J]. 西部医学, 2022, 34(2): 178-184.

DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2022.02.005

0.05)。The fluorescence intensity of ROS in 786-0 cells of DHA+DFO, DHA+ Fer-1, ARTS+DFO, ARTS+ Fer-1 group was significantly lower than that of DHA and ARTS group ( $P<0.05$ )。The autophagy rates of DHA and ARTS groups were significantly higher than those of control group ( $P<0.05$ )，and the autophagy rates of 50 $\mu$ M DHA and ARTS groups were significantly higher than those of 20 $\mu$ M DHA and ARTS groups ( $P<0.05$ )。After NCOA4 expression was silenced by siRNA-NCOA4, autophagy rate was significantly decreased ( $P<0.05$ )。Conclusion Artemisinin derivatives DHA and ARTS can induce iron death in 786-0 renal cancer cell lines, which is realized by NCOA4 mediated specific autophagy degradation of FTH1。

【Key words】 DHA; ARTS; Ferroptosis; NCOA4; FTH1

新药青蒿素(Artemisinin, ART)及其衍生物双氢青蒿素(Dihydroartemisinin, DHA)和青蒿琥酯(artesunate, ARTS)的药物使用是当前的热点问题,已经被美国食品与药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准,既往研究多集中于 ART 在铁离子调控方面,因而曾被称为“铁离子依赖性凋亡”药物,即“铁死亡”<sup>[1]</sup>。并且,随着铁死亡概念的提出及深入研究,逐渐证实 ART 及衍生物所诱导的多种恶性肿瘤细胞发生的死亡方式主要就是铁死亡。有研究<sup>[2]</sup>表明,不饱和脂肪酸 DHA 通过铁死亡强烈抑制急性髓细胞白血病(Acute myeloid leukemia, AML)细胞系的活性。也有研究<sup>[3]</sup>表明,DHA 通过 Fork head box protein M1(FOXO1)介导导致头颈癌细胞系细胞周期停滞,特异性地通过引发铁蛋白沉积症并导致头颈癌细胞发生铁死亡。ART 的卵巢癌细胞增殖作用与几种关键细胞周期调节蛋白[包括周期素 D3(cyclinD3),转录因子 E2F-1 和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 p21]的表达改变以及雷帕霉素信号传导的机制靶标的抑制有关。较高浓度的 ART 处理卵巢癌细胞后,可以导致活性氧(Reactive oxygen species, ROS)依赖性 DNA 损伤并导致铁死亡<sup>[4]</sup>。但是,ART 是否能诱导肾癌细胞发生铁死亡,以及诱导肾癌细胞发生铁死亡的具体机制尚不清楚。因此,本研究探讨 ART 及其衍生物 DHA 和 ARTS 对肾癌细胞系 786-0 的作用以及对其诱导铁死亡的机制,以期为临床上肾癌的治疗提供新的思路和方法。

## 1 材料与方法

1.1 DHA/ARTS 作用 786-0 肾癌细胞系检测细胞存活率 786-0 细胞正常培养至对数生长期,细胞用 0.25%胰蛋白酶消化,计数,调整细胞密度为  $1 \times 10^4$  /孔,接种于 96 孔板。摇匀细胞后将 96 孔板置于 37 $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h。将细胞分为对照组(DMSO 组)[加入 1% DMSO(二甲基亚砜)]、DHA 组(加入 5、10、20、50  $\mu$ M DHA)、ARTS 组(加入 5、10、20、50  $\mu$ M ARTS)、DHA+DFO 组(加入 5、10、20、50  $\mu$ M DHA+20  $\mu$ M DFO)、DHA+Fer-1 组(加入 5、10、20、50  $\mu$ M DHA+20  $\mu$ M Fer-1)、ARTS+

DFO 组(加入 5、10、20、50  $\mu$ M ARTS+20  $\mu$ M DFO)、ARTS+Fer-1 组(加入 5、10、20、50  $\mu$ M ARTS+20  $\mu$ M Fer-1)。将 96 孔板置于 5%CO<sub>2</sub>, 37 $^{\circ}$ C 培养箱中继续培养 48 h。取出 96 孔板,吸弃原培养液,然后在每孔加入 CCK-8 试剂为 10  $\mu$ L,终培养液为 100  $\mu$ L,培养箱中继续培养 45 min 后在 450 nm 处检测吸光度(OD)值。将处于对数生长期的 786-0 细胞用 0.25%胰蛋白酶消化,计数,调整细胞密度为  $5 \times 10^4$  /孔,接种于 24 孔板。倒置显微镜观察细胞杀伤情况并拍照。

1.2 细胞内活性氧化物检测 分组后用于荧光拍照的孔板细胞药物作用 24 h,后续用于流式检测的细胞药物作用 12 h,作用时间后,弃去培养基,PBS 洗 3 次。用含有 10  $\mu$ M DCFDA 的无酚红培养基细胞染色 1 h。PBS 洗去多余的 DCFDA。然后用荧光显微镜观察荧光强度并拍照或者流式细胞仪检测。

1.3 RNA 提取,反转录及 RT-qPCR 收集预先处理好的 786-0 细胞,用 PBS 轻柔清洗 2 次,每孔加入 500  $\mu$ L Trizol 裂解 5 min,将细胞吹下收集至 1.5 mL 离心管。离心管中加入 100  $\mu$ L 氯仿,充分混合并剧烈震荡 15 s。4 $^{\circ}$ C, 12000 g 离心 15 min,小心吸取水相上清 200  $\mu$ L 转移至一新 1.5 mL 离心管,弃乙醇,空气中干燥。加入适量的无核酶水溶解 RNA,并测浓度。按试剂盒说明,配置每 20  $\mu$ L 逆转录体系中包含 20  $\mu$ L 逆转反应混合物,1  $\mu$ g RNA 及水。反应条件为:65 $^{\circ}$ C 5 min,冰上 2 min,25 $^{\circ}$ C 5 min,50 $^{\circ}$ C 45 min,85 $^{\circ}$ C 2 min,降温至 4 $^{\circ}$ C。cDNA 可稳定保存于 -20 $^{\circ}$ C。按照实验目的,计划 Q-RT-PCR 实验方案,并配置反应体系。

1.4 细胞蛋白质提取和检测 用含 1%脱脂牛奶的 TBST 缓冲液室温封闭 PVDF 膜 2 h, TBST 洗膜 5 min,再将膜与特异性一抗 4 $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜。TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,再将膜与特异性二抗室温孵育 1 h。TBST 再次洗膜 3 次,每次 10 min。加 ECL 显影液,用 Bio-Rad ChemiDoc XRS+化学发光成像系统检测发光情况。用 Bio-Rad ChemiDoc XRS+化学发光成像系统检测发光情况。

1.5 构建 pmCherry-EGFP-FTH1 质粒 FTH1 开

放阅读框插入 mCherry-GFP 质粒。准备好生长状态良好的细胞,用适量生理盐水洗涤细胞 2~3 次。质粒提取试剂盒(南京 Vazyme Biotech 公司),分散将蛋白裂解液均匀滴加入培养皿内,再用干净的细胞刮刀将细胞刮于培养皿的一侧,然后利用移液枪将细胞碎片和裂解液的混合物转移到 1.5 mL 的 EP 管内。利用超声波细胞破碎仪对混合物超声 3~5 次,然后在冰盒内静置 10 min。按说明书用质粒提取试剂盒提取,并保留部分菌液,质粒送测序。待测序结果正确,挑取剩余菌液接种到 3 mL 培养基中,摇床过夜。提取质粒,并标记好质粒浓度。

1.6 细胞转染 将 786-0 细胞接种到孔板中,待细胞生长至 70% 左右融合度时进行转染。按照 Lipofectamine RNAi MAX 说明书并稍加改进进行操作,转染 RNA 试剂时:A 管: lipo RNAi MAX 7.5  $\mu$ L, opti-MEM 培养基将总体积稀释至 100  $\mu$ L,混匀 B 管: siRNA, opti-MEM 培养基将总体积稀释至 100  $\mu$ L, A、B 两管室温静置 5 min;将 B 管中的液体全部加入 A 管

中混匀,室温静置 15 min。然后为待转染细胞换液,将 250  $\mu$ L 混合液加入细胞培养基中继续进行培养。待达到合适的转染时间后可进行后续实验。转染质粒时,按照 Lipofectamine LTX Reagent 说明书并稍加改进进行操作,待达到合适的转染时间后可进行后续实验。

1.7 统计学分析 使用 SPSS 22.0 数据分析软件进行分析。每组实验重复 3 次以上。数据结果以均数士标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。用 Bonferroni post hoc 检验的单向方差分析(ANOVA)来确定均值之间的显著差异。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DHA/ARTS 作用 786-0 细胞形态和 CCK-8 分析 786-0 细胞系在 DHA 和 ARTS 作用后,从显微镜观察和 CCK-8 检测,显示细胞发生了明显死亡,并且随着药物浓度的增大存活细胞数越少。而且由 DHA 和 ARTS 所产生的致死作用可以被铁死亡抑制剂 DFO 和 Fer-1 所抑制。见图 1。

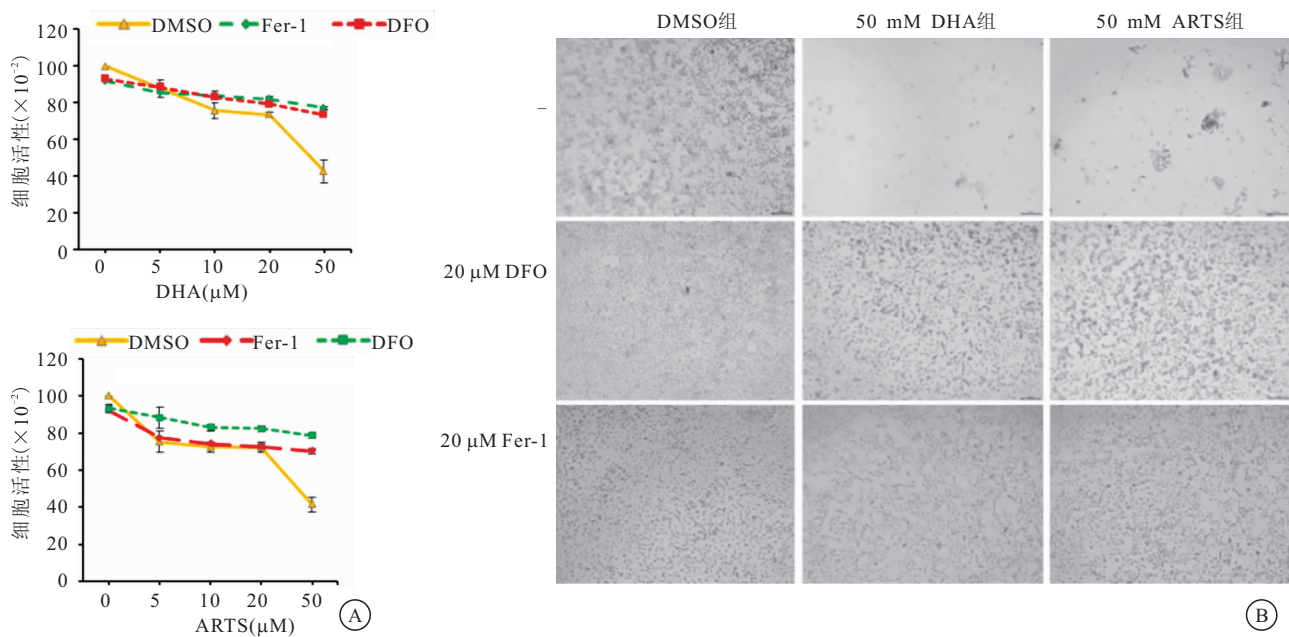


图 1 DHA 和 ARTS 作用 786-0 细胞后细胞活力

Figure 1 Cellular viability of 786-0 cells treated with DHA and ARTS

注:A. CCK-8 检测;B. 相差显微镜细胞照片(50 $\times$ )

2.2 DHA/ARTS 可增加 786-0 细胞内 ROS 水平 DHA 和 ARTS 作用下 786-0 细胞内 ROS 的荧光强度明显高于对照组( $q = 2.894, 2.342; P < 0.05$ )。在铁死亡抑制剂 DFO 和 Fer-1 干预下,DHA+DFO 组、DHA+ Fer-1 组、ARTS+DFO 组、ARTS+ Fer-1 组 786-0 细胞内 ROS 的荧光强度明显低于 DHA 组和 ARTS 组( $P < 0.05$ )。见图 2。

2.3 DHA/ARTS 作用 786-0 细胞 NCOA4 和 FTH1

蛋白变化 DHA/ARTS 作用 786-0 细胞,细胞内 NCOA4 和 FTH1 水平下降具有一致性,且蛋白下降具有药物时间依赖性,见图 3。

2.4 敲减 NCOA4 可抑制 DHA 和 ARTS 对于 786-0 细胞作用 结果显示,si-NCOA4 2# 和 si-NCOA4 3# 转染 786-0 细胞后,细胞内 NCOA4 的 mRNA 相对表达量和蛋白的相对表达量明显低于对照组( $P < 0.05$ )。CCK-8 结果显示,si-NCOA4 2# 和 si-NCOA4 3# 转

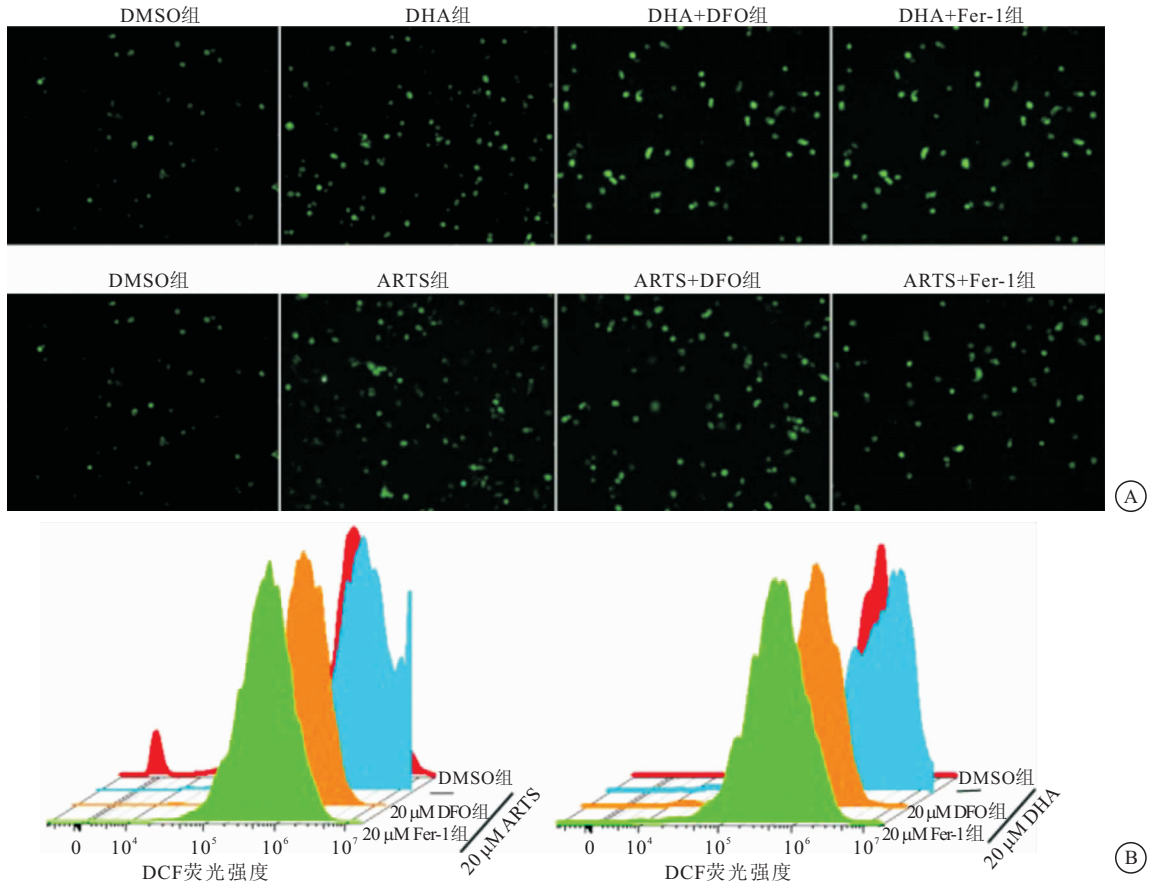


图 2 DHA 和 ARTS 升高 786-0 细胞内 ROS 水平  
 Figure 2 Dha and ARTS increase Ros levels in 786-0 cells  
 注: A. 荧光显微镜细胞照片(100×); B. 流式检测

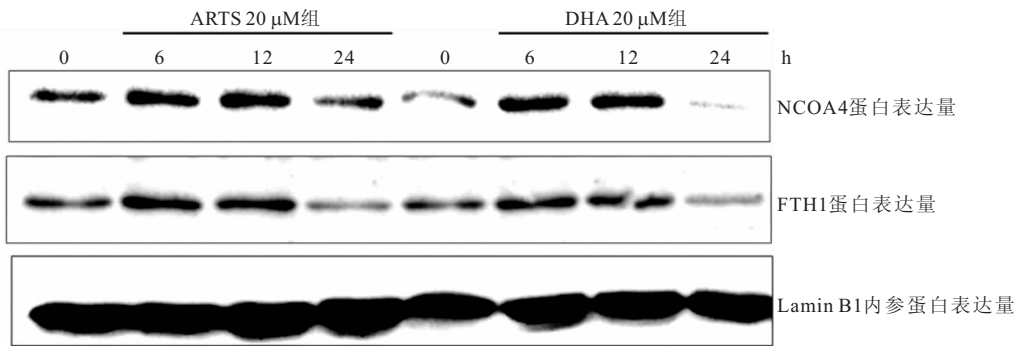


图 3 DHA/ARTS 降低 NCOA4/FTH1 的蛋白水平具有时间依耐性  
 Figure 3 DHA/ARTS reduced NCOA4/FTH1 protein levels and showed time-dependent tolerance

染 786-0 细胞后,细胞的增殖率明显高于对照组 ( $P < 0.05$ ),且 si-NCOA4 3 号组细胞增殖率明显高于 si-NCOA4 2 号组 ( $P < 0.05$ )。见图 4。

2.5 DHA/ARTS 可增加 FTH1 自噬降解 结果显示,当没有自噬发生时,显示黄色荧光,当自噬发生,黄色荧光减少,红色荧光增多,且红色荧光强度可反映自噬水平。在 DHA 和 ARTS 作用之后黄色荧光减少,红色荧光明显增多,反映了 DHA 增加了 FTH1 的自噬水平而发生铁死亡作用(见图 5)。从自噬结果

来看,DHA 组和 ARTS 组的细胞自噬率明显高于对照组 ( $P < 0.05$ ),且 50  $\mu\text{M}$  的 DHA 和 ARTS 组细胞的自噬率明显高于 20  $\mu\text{M}$  的 DHA 和 ARTS 组 ( $P < 0.05$ )。在 siRNA-NCOA4 沉默 NCOA4 表达后,细胞自噬率明显降低 ( $P < 0.05$ )。见图 6。

### 3 讨论

自 2012 年 Dixon 等<sup>[5]</sup> 在小分子化合物 Erastin 处理 RAS 基因突变的人纤维肉瘤细胞系 HT-1080 细胞时,发现一种新的具有铁离子依赖性的细胞死亡方

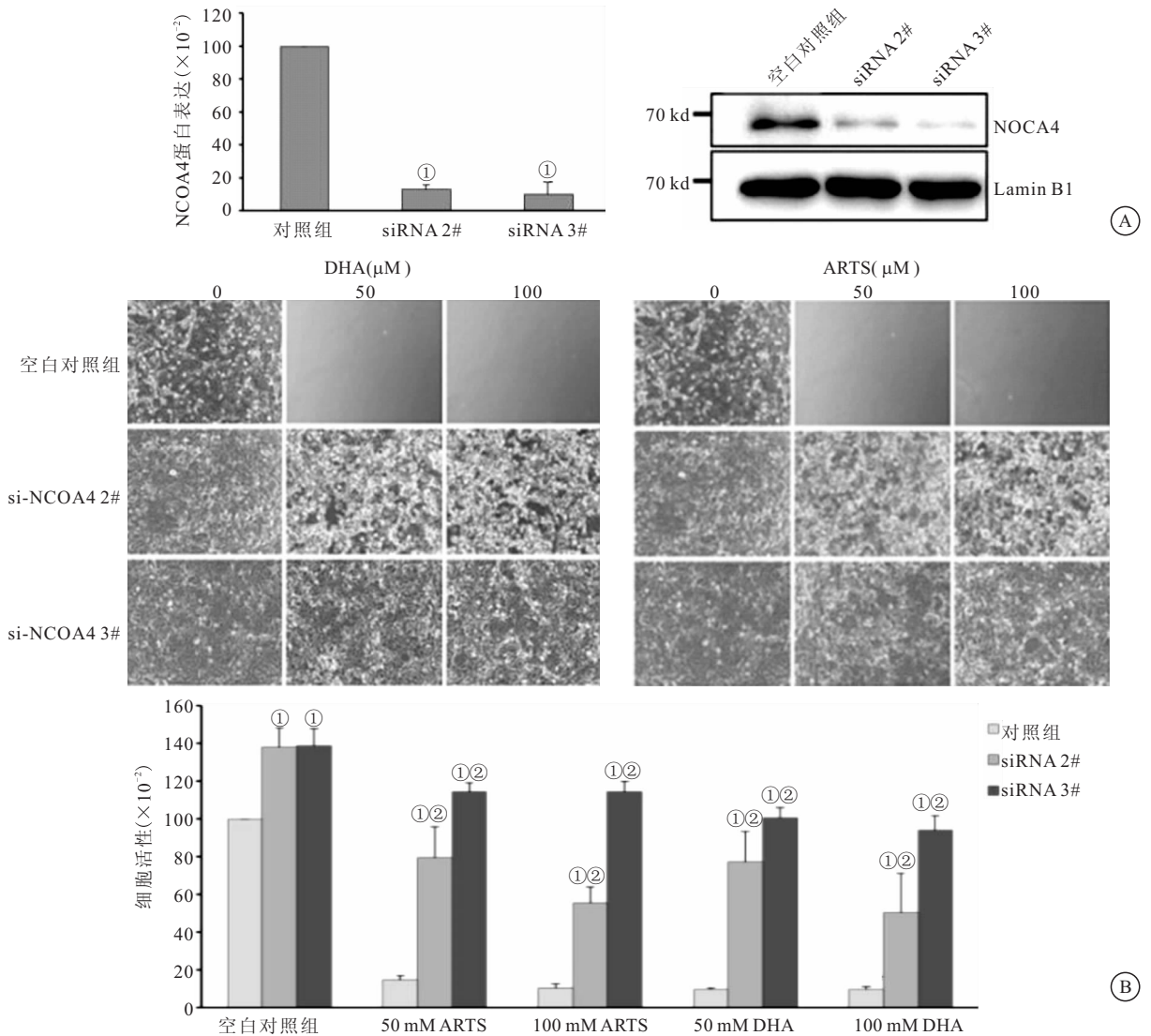


图 4 敲减 NCOA4 可抑制 DHA 和 ARTS 对于 786-0 细胞作用

Figure 4 Knock-down of NCOA4 INHIBITS DHA and ARTS in 786-0 cells

注: A. mRNA 水平和蛋白水平验证敲减效率; B. NCOA4 敲减后 DHA/ARTS 刺激 786-0, 显微镜观察拍照(100 $\times$ )和 CCK-8 检测。与对照组比较, ①P<0.05; 与 siRNA3# 比较, ②P<0.05

式, 并命名为铁死亡以来, 有大量关于铁死亡的研究被发表。在药物研究方面, 研究者发现如索拉非尼、柳氮磺胺吡啶、盐霉素、顺铂、青蒿素等<sup>[6-7]</sup>药物均能诱导铁死亡的发生。本研究显示青蒿素衍生物双氢青蒿素和青蒿琥酯可以诱导 786-0 肾癌细胞系内 ROS 水平增高, 诱发肾癌细胞铁死亡。在肾癌化疗药物耐药性高, 化疗效果不理想的情况下, 这一发现对肾癌的药物治疗提供了一种新的可能性。

在铁死亡机制研究中, 除了胱氨酸/谷氨酸逆向转运体和谷胱甘肽过氧化物酶 4 这两条非常经典的通路外, 研究者还发现了 p53、Nrf2、ATF4 等<sup>[8-9]</sup>相关通路都和铁死亡有着密切的联系。而这些通路最终都影响细胞内 ROS 的代谢, 导致 ROS 的聚积, 而发生铁死亡。Lee 等<sup>[10]</sup>发现 NCOA4 分子可以介导铁结合

蛋白的进入溶酶体而发生蛋白自噬性降解, 从而增加细胞内游离的 Fe<sup>2+</sup>, 而导致细胞发生铁死亡, 这种方式也被称之为铁自噬性铁死亡。本研究结果和之前的研究结果相似, 通过 siRNA 技术沉默 NCOA4 的表达, 进而抑制铁死亡的发生。此外, 在 mCherry 系统中发现, FTH1 在 DHA/ARTS 作用下, 发生了自噬性降解。这些都说明 DHA 和 ARTS 可以通过 NCOA4/FTH1 信号通路诱导肾癌细胞通过介导铁结合蛋白自噬性降解而发生铁自噬性铁死亡。

青蒿素是我国著名药学家屠呦呦教授首次发现并从黄花蒿中提取出来的活性成分, 因其有效的抗疟作用, 挽救了数百万人的生命。近年来, 青蒿素及双氢青蒿素、青蒿琥酯等衍生物抗肿瘤作用也逐渐成为化疗药物研发领域的热点<sup>[10-11]</sup>。现有研究表明, 青

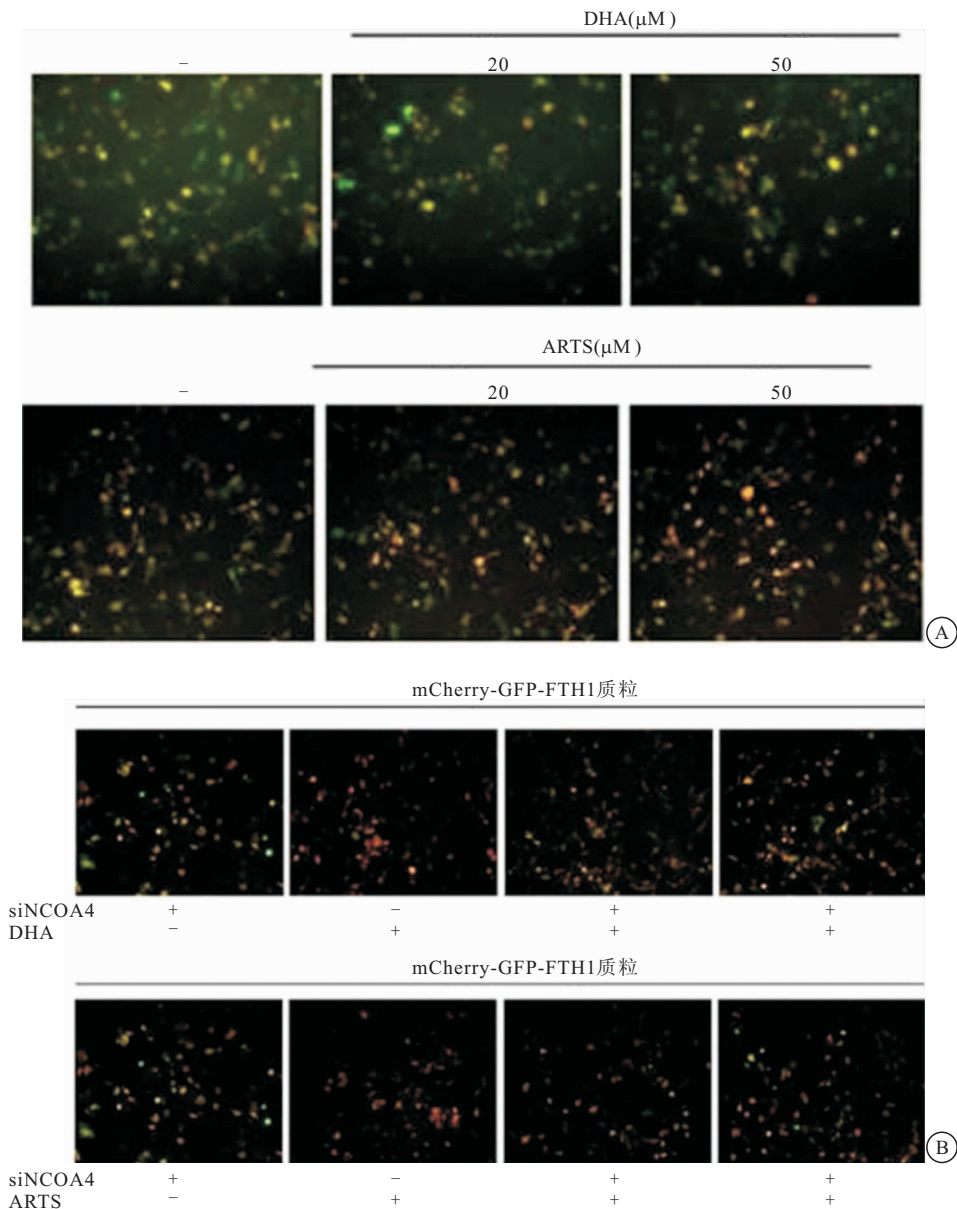


图 5 DHA/ARTS 作用细胞后 FTH1 自噬情况检测 (50 $\times$ )

Figure 5 Autophagy of FTH1 cells treated with Dha/artis

注: A. 转染 pmCherry-EGFP-FTH1 质粒, 不同浓度 DHA/ARTS 刺激 24h; B. 敲减 NCOA4 再转染 pmCherry-EGFP-FTH1, 50 $\mu\text{M}$  DHA/ARTS 作用细胞 24h

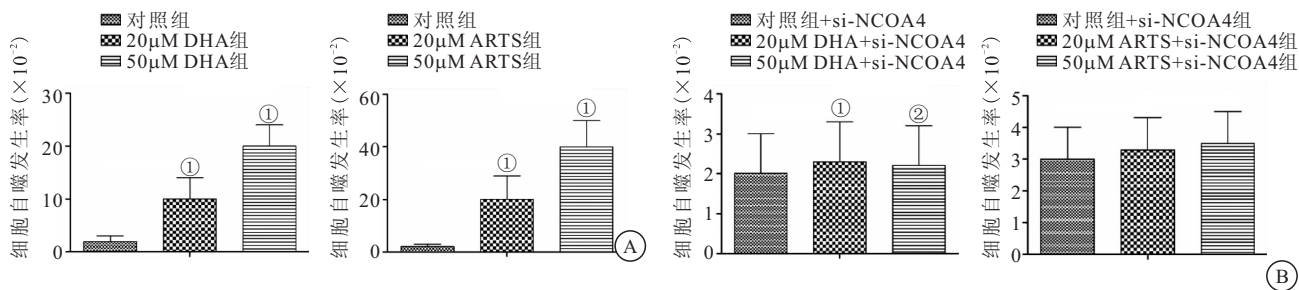


图 6 细胞自噬发生率

Figure 6 Incidence of autophagy

注: A. DHA 细胞自噬发生率; B. ARTS 细胞自噬发生率。与对照组比较, ① $P < 0.05$ ; 与 50 $\mu\text{M}$  DHA+si-NCOA4 比较, ② $P < 0.05$

蒿素及其衍生物抗肿瘤谱广,在体内外研究中,显示了对肺癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、白血病等等肿瘤都其作用<sup>[12-16]</sup>。而其发挥抗肿瘤作用的机制复杂,包括干扰细胞周期,抑制肿瘤增殖;抑制肿瘤细胞侵袭和转移;诱导肿瘤细胞内质网应激和凋亡;增加细胞内氧化应激水平;诱导 DNA 损伤;诱发铁死亡。青蒿素及其等衍生物还能增加肿瘤细胞对化疗药物敏感性,增强化疗药物抗肿瘤疗效<sup>[17-18]</sup>。本研究通过检测肾癌细胞中 ROS 的表达发现,在 DHA 和 ARTS 作用 786-0 细胞,其细胞内 ROS 明显升高,并且其致 ROS 升高的作用,可被铁死亡抑制剂 DFO 和 Fer-1 所抑制。分析其原因,可能是 DHA 和 ARTS 可以通过 NCOA4/FTH1 信号通路激活细胞内 ROS 的激活,铁死亡主要是胞内脂质活性氧生成与降解的平衡失调所致,当细胞抗氧化能力降低,脂质活性氧堆积,就能引起细胞氧化性死亡。可见 ROS 的大量累积是铁死亡发生的重要因素。

本文仍存在一定局限性:首先,本研究尚未验证 DHA 和 ARTS-NCOA4 及 FTH1 通路中是否存在 GPX4 的调控,这将是本研究课题今后的延伸方向;其次,研究缺少能够直接提示铁死亡水平的标记物,缺少动物实验加以验证研究结果的准确性。

#### 4 结论

青蒿素衍生物 DHA 和 ARTS 可诱导 786-0 肾癌细胞系发生铁死亡,其致铁死亡的发生是通过 NCOA4 介导 FTH1 特异性自噬降解而实现。本研究揭示了青蒿素衍生物 DHA/ARTS 诱导肾癌细胞系发生了铁死亡,并探讨了其发生机制,具有一定的临床意义。

#### 【参考文献】

- [1] 易仁鑫,王歆悦,王汉东.青蒿素及其衍生物通过铁死亡途径发挥抗肿瘤作用的研究进展[J].黑龙江科技信息,2020,0(8):31-32.
- [2] DU J, WANG T, LI Y, *et al.* DHA inhibits proliferation and induces ferroptosis of leukemia cells through autophagy dependent degradation of ferritin [J]. *Free radical biology & medicine*, 2019, 131:356-369.
- [3] LIN R, ZHANG Z, CHEN L, *et al.* Dihydroartemisinin (DHA) induces ferroptosis and causes cell cycle arrest in head and neck carcinoma cells [J]. *Cancer letters*, 2016, 381(1):165-175.
- [4] GREENSHIELDS A L, SHEPHERD T G, HOSKIN D W.

- Contribution of reactive oxygen species to ovarian cancer cell growth arrest and killing by the anti-malarial drug artesunate [J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(1):75-93.
- [5] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, *et al.* Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5):1060-1072.
- [6] YU H, YANG C, JIAN L, *et al.* Sulfasalazine-induced ferroptosis in breast cancer cells is reduced by the inhibitory effect of estrogen receptor on the transferrin receptor [J]. *Oncol Rep*, 2019, 42(2):826-838.
- [7] ZHAO Y, ZHAO W, LIM Y C, *et al.* Salinomycin-Loaded Gold Nanoparticles for Treating Cancer Stem Cells by Ferroptosis-Induced Cell Death [J]. *Mol Pharm*, 2019, 16(6):2532-2539.
- [8] KANG R, KROEMER G, TANG D. The tumor suppressor protein p53 and the ferroptosis network [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133:162-168.
- [9] ABDALKADER M, LAMPINEN R, KANNINEN KM, *et al.* Targeting Nrf2 to Suppress Ferroptosis and Mitochondrial Dysfunction in Neurodegeneration [J]. *Front Neurosci*, 2018, 10(12):466.
- [10] LEE Y S, LEE D H, CHOUDRY H A, *et al.* Ferroptosis-Induced Endoplasmic Reticulum Stress: Cross-talk between Ferroptosis and Apoptosis [J]. *Mol Cancer Res*, 2018, 16(7):1073-1076.
- [11] LIU X, WU J, FAN M, *et al.* Novel dihydroartemisinin derivative DHA-37 induces autophagic cell death through upregulation of HMGB1 in A549 cells [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(11):1048.
- [12] 金红,杨岚,张黎,等.双氢青蒿素和吉非替尼联用对肺癌 NCI-H1975 细胞凋亡相关蛋白 Bax 与 Bcl-2 表达的影响[J].中国老年学杂志,2019,39(23):5806-5810.
- [13] 杨欣,李亚辉,吕润霖.青蒿素及衍生物抗卵巢癌的作用机制[J].中医药导报,2019,337(15):66-70,80.
- [14] ZHANG F, MA Q, XU Z, *et al.* Dihydroartemisinin inhibits TCTP-dependent metastasis in gallbladder cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1):68-77.
- [15] 安姿旖,周兆,刘革修.双氢青蒿素和达沙替尼联合用药对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用[J].暨南大学学报(自然科学与医学版),2020,41(3):214-223.
- [16] 安依涵,杜璟,侯志文,等.双氢青蒿素抑制 PTEN/AKT 通路诱导急性髓系白血病细胞凋亡[J].中国实验血液学杂志,2020,11(1):14-20.
- [17] KIM S H, KANG S H, KANG B S. Therapeutic effects of dihydroartemisinin and transferrin against glioblastoma [J]. *Nutr Res Pract*, 2016, 10(4):393-397.
- [18] LI C, GAO S, YANG W S, *et al.*  $\beta$ -Dihydroartemisinin-Emodin Promotes Apoptosis by Activating Extrinsic and Intrinsic Pathways in Human Liver Cancer Cells [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2019, 49(3):281-290.

(收稿日期:2020-11-13;修回日期:2021-12-21;编辑:王小菊)