



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.02.05

文章编号: 2095-1264(2023)02-0161-06

青蒿琥酯通过介导铁死亡逆转结肠癌细胞 5-氟尿嘧啶耐药的作用研究

陈书琴, 周宋汇, 汪瑞辰, 席 昱*

(江苏省肿瘤医院/南京医科大学附属肿瘤医院/江苏省肿瘤防治研究所, 江苏 南京, 210009)

摘要: **目的** 探讨青蒿琥酯(ART)通过介导铁死亡逆转结肠癌细胞对5-氟尿嘧啶(5-FU)耐药的作用。**方法** 以人结肠癌HT-29/5-FU耐药细胞株为研究对象,采用MTS法检测5-FU、ART以及5-FU+ART对HT-29/5-FU细胞的抑制作用,并计算其逆转耐药倍数;克隆形成实验检测HT-29/5-FU细胞克隆形成能力;流式细胞术检测细胞内活性氧(ROS)水平;试剂盒检测细胞内丙二醛(MDA)水平;Western blotting检测细胞内Nrf2和GPX4蛋白表达水平。**结果** $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ART可逆转HT-29/5-FU细胞对5-FU的耐药,逆转倍数为2.9倍;5-FU联合ART可抑制HT-29/5-FU细胞的克隆形成能力,升高细胞内ROS和MDA水平,并降低Nrf2及GPX4蛋白表达水平,且这些效应能够被铁死亡抑制剂Ferrostatin-1所逆转。**结论** ART能够通过抑制Nrf2、GPX4表达诱导铁死亡,从而逆转HT-29/5-FU细胞对5-FU的耐药。

关键词: 结肠癌; 5-氟尿嘧啶; 耐药; 青蒿琥酯; 铁死亡

中图分类号: R735.3+5 **文献标识码:** A

Artesunate reverse the resistance of colon cancer cells to 5-fluorouracil by mediating ferroptosis

CHEN Shuqin, ZHOU Songhui, WANG Ruichen, XI Yu*

(Jiangsu Cancer Hospital/The Affiliated Cancer Hospital of Nanjing Medical University/Jiangsu Institute of Cancer Research,
Nanjing, 210009, Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of artesunate (ART) on the reverse of colon cancer cell resistance to 5-fluorouracil by mediating ferroptosis. **Methods** The inhibitory effects of 5-FU, ART and 5-FU+ART on HT-29/5-FU cells were detected by MTS, and the drug resistance index were calculated. The clone formation ability of HT-29/5-FU cells was detected by clone formation assay. The level of reactive oxygen species (ROS) was detected by flow cytometry. The level of malondialdehyde (MDA) was detected by MDA kit. The protein expression levels of Nrf2 and GPX4 were detected by Western blotting. **Results** $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ART could reverse the cell resistance to 5-FU, and the resistance index was 2.9. 5-FU combined with ART could inhibit the clone formation ability of HT-29/5-FU cells, and increase the intracellular ROS and MDA levels, and decrease the protein expression levels of Nrf2 and GPX4. These effects could be reversed by ferroptosis inhibitor ferrostatin-1. **Conclusion** ART could reverse the resistance of HT-29/5-FU cells to 5-FU by inhibiting the expression of Nrf2 and GPX4 and inducing ferroptosis.

Keywords: Colon cancer; 5-Fluorouracil; Drug resistance; Artesunate; Ferroptosis

作者简介:陈书琴,女,药师。研究方向:抗肿瘤药理。

*通信作者:席昱,女,主管药师。研究方向:抗肿瘤药理。

前言

随着近年来人们饮食习惯的改变,尤其是“红肉”饮食的增加,我国结直肠癌的发病率逐年增高。同时,由于结直肠癌发病隐秘,发现时往往已处于疾病发展的中晚期,严重危害人民的生命健康安全^[1]。因此,寻求有效的结直肠癌诊疗策略显得尤为重要。5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)是临床上结直肠癌辅助化疗及姑息化疗最常用的药物之一^[2],临床效果良好。但是随着5-FU用药时间的延长,结直肠癌细胞对其易产生原发或继发性耐药^[3],严重影响了5-FU的临床使用。当前,关于结直肠癌细胞对5-FU耐药的机制还不明确,且尚无明确有效的逆转药物。因此,寻求切实有效的逆转肿瘤细胞对5-FU耐药的药物具有十分重要的临床意义。

青蒿琥酯(artesunate, ART)^[4-5]是青蒿素的一种衍生物,作为一线的抗疟药物被临床广泛应用。近年来,越来越多的研究发现ART具有一定的抗肿瘤效应^[6],但其机制尚不清楚。铁死亡作为一种新发现的程序性死亡形式,其特征表现为铁过载、细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)累积以及细胞抗氧化能力减弱,已成为肿瘤研究的热点^[7]。相关研究表明,ART能够提高某些肿瘤细胞的铁死亡水平^[8-9],提示其抗肿瘤效应可能与铁死亡有关。基于此,本研究采用人结肠癌 HT-29/5-FU 耐药细胞作为研究对象,探讨ART逆转耐药的作用,并对其机制是否与铁死亡相关进行探讨,以期为后续实验研究和临床应用提供实验支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

人结肠癌 HT-29 细胞株和 HT-29/5-FU 耐药细胞株购自江苏凯基生物技术股份有限公司。5-FU (Cat No. B25419, 纯度 $\geq 97\%$)和青蒿琥酯(Cat No. S24000, 纯度 $\geq 98\%$)购自上海源叶生物科技有限公司; Ferrostatin-1 购自上海蓝木化工有限公司; 胎牛血清购自依科赛生物科技有限公司; RPMI-1640 培养基、四唑氮衍生物 MTS、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)和胰蛋白酶均购自江苏凯基生物技术股份有限公司; ROS 检测试剂盒、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)细胞培养基均购自北京索莱宝科技有限公司; 丙二醛(malondial-

dehyde, MDA)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所有限公司; Nrf2 蛋白一抗(Cat No. 16396-1-AP)、GPX4 蛋白一抗(Cat No. 67763-1-Ig)、GAPDH 蛋白一抗(Cat No. 60004-1-Ig)和蛋白二抗购自 Proteintech 公司; ECL 增强型发光液购自上海翊圣生物科技有限公司。CO₂ 细胞培养箱为 Thermo 公司产品; 倒置显微镜为 ZEISS 公司产品; 酶标仪为 Thermo 公司产品; 流式细胞仪为 BD 公司产品; 化学发光凝胶成像系统为 Bio-Rad 公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 将人结肠癌 HT-29/5-FU 耐药细胞株接种于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中, 置于 37 °C、CO₂ 培养箱中培养, 待细胞汇合达 90% 时进行 1:3 传代培养。

1.2.2 MTS 法检测细胞增殖情况 将 HT-29/5-FU 细胞消化重悬后接种于 96 孔细胞培养板中, 每孔接种细胞数量为 9 000 个。细胞过夜培养贴壁之后, 弃去培养基, 分别加入 20、40、60、80、100、120 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 5-FU 或 20、40、60、80、100、120、140 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ART 处理 24 h, 实验设置 6 个复孔。药物处理结束后, 每孔分别加入 20 μL MTS 液, 将培养板置于培养箱中继续培养 2 h。实验结束取出培养板, 酶标仪检测 490 nm 波长处吸光度值(A 值)。

1.2.3 克隆形成实验检测 5-FU 联合 ART 对细胞克隆形成能力的影响 细胞经消化、重悬、计数后, 接种于 6 孔细胞培养板中, 每孔接种数量为 300 个细胞, 培养 12 h。待细胞贴壁后弃去培养基, 更换为分别含有 5-FU (20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、ART (40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、5-FU (20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) + ART (40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、5-FU (20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) + ART (40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + Ferrostatin-1 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的无血清培养基, 实验设置 3 个复孔, 将培养板置于细胞培养箱中培养 7 天。培养结束后, 小心弃去培养基, 采用 PBS 洗涤, 加入无水甲醇固定 20 min, 吸去甲醇, 微微晾干之后加入结晶紫染色液染色 30 min, 完毕后小心洗去染色液, 晾干后拍照, 并统计克隆形成数。

1.2.4 流式细胞术检测细胞 ROS 水平 细胞经消化、重悬、计数后, 接种于 6 孔细胞培养板中。过夜贴壁之后, 更换为分别含 5-FU (20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、ART (40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、5-FU (20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) + ART (40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 5-FU (20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) + ART (40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + Ferrostatin-1 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的含药培养基, 继续置于培养箱中培养 24 h, 实验设置 3 个复孔, 胰酶消化, PBS 洗

涤 2 次后更换为无血清培养基。参照 ROS 试剂盒说明书装载相应的 ROS 探针, 37 °C 培养箱中孵育 20 min, 每隔 5 min 颠倒混匀 1 次。待转染完毕后, 无血清培养基洗涤 3 次, 重悬细胞, 上机检测。

1.2.5 MDA 试剂盒检测细胞 MDA 水平 细胞接种和处理方法同 1.2.4, 参照试剂盒说明书进行细胞 MDA 含量检测。

1.2.6 Western blotting 检测细胞中 Nrf2 和 GPX4 蛋白表达 细胞接种和处理方法同 1.2.4。将细胞采用含 1% PMSF 的 RIPA 蛋白裂解液进行裂解, 在 4 °C、12 000 r·min⁻¹ 条件下离心 15 min, 取上清加入 5×上样缓冲液, 100 °C 条件下于干式混匀器中煮 10 min。蛋白经 SDS-PAGE 凝胶电泳、PVDF 转膜后, 采用脱脂奶粉封闭 2 h, 添加 Nrf2、GPX4 和 GAPDH 蛋白一抗, 于 4 °C 冰箱中孵育过夜。TBST 漂洗 3 次后, 采用相应的蛋白二抗室温下孵育 2 h, TBST 洗涤。采用 Bio-Rad 凝胶成像系统拍照, Image Lab 软

件进行数据分析。

1.2.7 统计学分析 实验数据采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, 采用 Graph-Pad Prism 5.0 软件绘图, 以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 5-FU 和 ART 对人结肠癌 HT-29/5-FU 细胞增殖的影响 MTS 结果显示, 不同浓度 5-FU 或 ART 处理 24 h 后, 5-FU 对 HT-29/5-FU 细胞的半数抑制浓度 (half inhibitory concentration, IC₅₀) 为 (91.28±7.13) μg·mL⁻¹, 而对 HT-29 细胞的 IC₅₀ 值为 (17.15±2.26) μg·mL⁻¹; ART 杀伤 HT-29/5-FU 细胞的 IC₅₀ 值大于 100 μmol·L⁻¹ (图 1), 因此选用 HT-29/5-FU 细胞 85% 存活的 ART 浓度 (40 μmol·L⁻¹) 开展后续逆转耐药的研究。

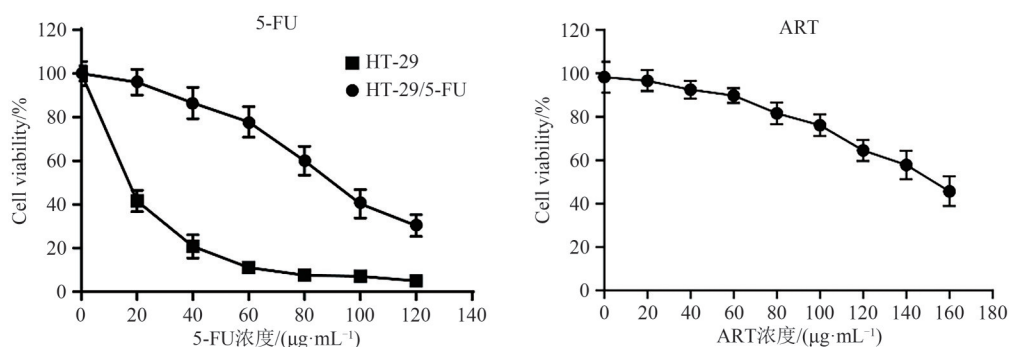


图 1 不同浓度 5-FU 或 ART 处理后 HT-29/5-FU 细胞的增殖情况

Fig. 1 Proliferation of HT-29/5-FU cells after treated by different concentrations of 5-FU or ART

2.2 ART 对 HT-29/5-FU 细胞耐药的逆转作用 MTS 结果显示, 加入 ART 后 5-FU 对 HT-29/5-FU 细胞的 IC₅₀ 值为 (31.13±3.28) μg·mL⁻¹, 相较于单独使用 5-FU 时的 IC₅₀ 值 (91.28±7.13) μg·mL⁻¹, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$) (图 2), 耐药逆转倍数为 2.9 倍。选取低于 IC₅₀ 值的 5-FU 浓度 20 μg·mL⁻¹ 开展后续的实验。

2.3 5-FU 联合 ART 对 HT-29/5-FU 细胞克隆生成的影响 克隆形成结果显示, 与 5-FU 组相比, 5-FU+ART 组克隆形成明显减少, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 表明 5-FU+ART 可明显抑制 HT-29/5-FU 细胞克隆生成。加入铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 后, 克隆形成数明显增加, 与 5-FU+ART 组相比, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$) (图 3), 提示 5-FU 联合

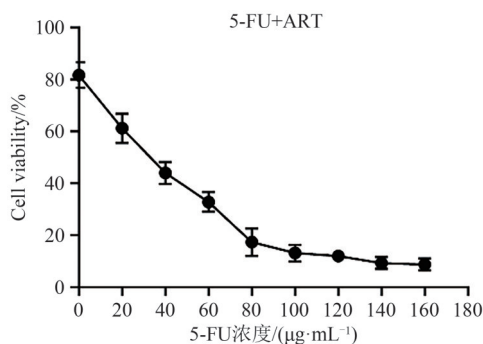
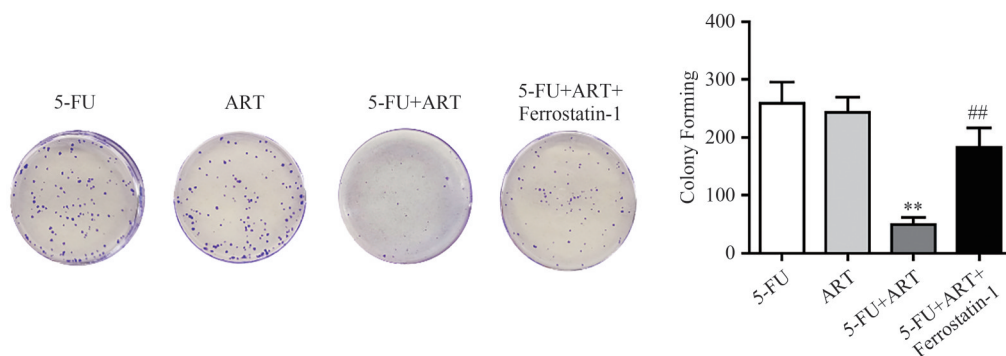


图 2 不同浓度 5-FU 联合处理后 HT-29/5-FU 细胞的增殖情况

Fig. 2 Proliferation of HT-29/5-FU cells after treated by different concentrations of 5-FU combined with ART

ART 协同抑制 HT-29/5-FU 细胞增殖的作用能够被 Ferrostatin-1 所抑制, 表明其联合抑制作用机制可



注：与 5-FU 组相比，** $P<0.01$ ；与 5-FU+ART 组相比，## $P<0.01$ 。

Note: Compared with the 5-FU group, ** $P<0.01$; Compared with the 5-FU+ART group, ## $P<0.01$.

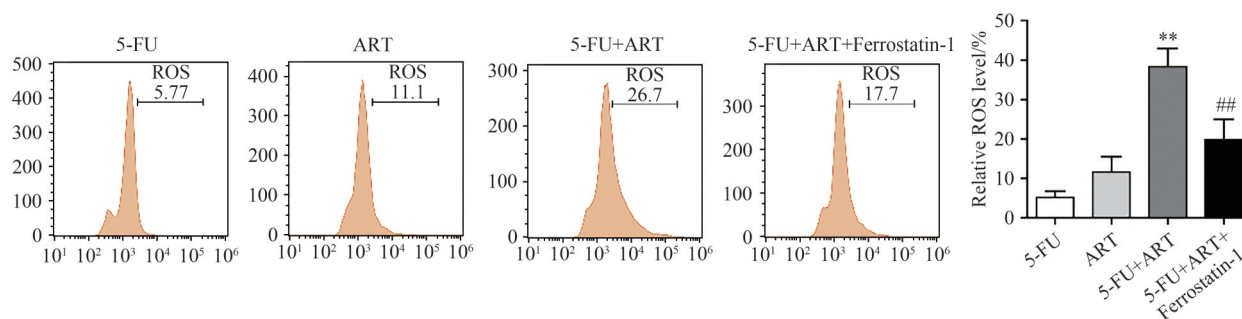
图 3 5-FU 联合 ART 抑制 HT-29/5-FU 细胞克隆形成

Fig. 3 Inhibition of 5-FU combined with ART on the clone formation of HT-29/5-FU cells

能与铁死亡有关。

2.4 5-FU 联合 ART 对 HT-29/5-FU 细胞 ROS 水平的影响 流式细胞术结果显示，与 5-FU 组相比，5-FU+ART 组 ROS 水平明显升高，差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。加入铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1

后，细胞中 ROS 水平明显降低，与 5-FU+ART 组相比，差异具有统计学意义 ($P<0.01$) (图 4)。这表明 5-FU 联合 ART 能够升高 HT-29/5-FU 细胞中的 ROS 水平，且 Ferrostatin-1 能够逆转这样的效应。



注：与 5-FU 组相比，** $P<0.01$ ；与 5-FU+ART 组相比，## $P<0.01$ 。

Note: Compared with the 5-FU group, ** $P<0.01$; Compared with the 5-FU+ART group, ## $P<0.01$.

图 4 5-FU 联合 ART 对 HT-29/5-FU 细胞中 ROS 水平的影响

Fig. 4 5-FU combined with ART increased the ROS level in HT-29/5-FU cells

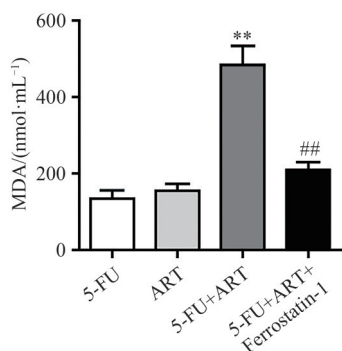
2.5 5-FU 联合 ART 对 HT-29/5-FU 细胞 MDA 水平的影响 MDA 检测结果显示，与 5-FU 组相比，5-FU+ART 组 MDA 水平明显升高，差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。加入铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 后，细胞中 MDA 水平明显下降，与 5-FU+ART 组相比，差异具有统计学意义 ($P<0.01$) (图 5)。这表明 5-FU 联合 ART 能够升高 HT-29/5-FU 细胞内 MDA 水平，且 Ferrostatin-1 能够抑制 ART 联合 5-FU 介导的 MDA 水平升高。

2.6 5-FU 联合 ART 对 HT-29/5-FU 细胞铁死亡相关蛋白表达的影响 Western blotting 结果显示，与 5-FU 组相比，5-FU+ART 组 Nrf2 和 GPX4 蛋白表

达水平明显降低，差异具有统计学意义 ($P<0.01$)；加入铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 后，Nrf2 和 GPX4 蛋白表达水平升高，与 5-FU+ART 组相比，差异具有统计学意义 ($P<0.01$) (图 6)。这提示 ART 联合 5-FU 能够抑制 Nrf2 和 GPX4 蛋白的表达，且其抑制作用能够被 Ferrostatin-1 所逆转。

3 讨论

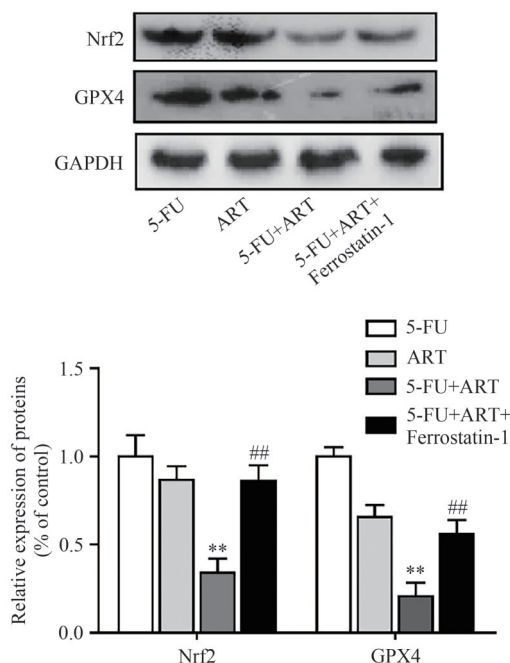
5-FU 是一种胸苷酸合成酶抑制剂，在细胞内能够转变为 5-氟尿嘧啶脱氧核苷酸，抑制脱氧胸苷酸合成酶活性，阻止脱氧尿苷酸 (deoxyuridine monophosphate, dUMP) 甲基化转变为脱氧胸苷酸 (de-



注：与 5-FU 组相比，** $P<0.01$ ；与 5-FU+ART 组相比，## $P<0.01$ 。

Note: Compared with the 5-FU group, ** $P<0.01$; Compared with the 5-FU+ART group, ## $P<0.01$.

图 5 5-FU 联合 ART 对 HT-29/5-FU 细胞 MDA 水平的影响
Fig. 5 5-FU combined with ART increased the MDA level in HT-29/5-FU cells



注：与 5-FU 组相比，** $P<0.01$ ；与 5-FU+ART 组相比，## $P<0.01$ 。

Note: Compared with the 5-FU group, ** $P<0.01$; Compared with the 5-FU+ART group, ## $P<0.01$.

图 6 5-FU 联合 ART 对 HT-29/5-FU 细胞内 Nrf2 和 GPX4 蛋白表达的影响
Fig. 6 5-FU combined with ART decreased the expression levels of Nrf2 and GPX4 proteins in HT-29/5-FU cells

oxythymidylic monophosphate, dTMP), 从而 影响 DNA 的合成。此外,5-FU 在体内也可转化为 5-氟尿嘧啶核苷,以伪代谢产物形式掺入 RNA 中干扰蛋白质合成,发挥抗结直肠癌的作用^[10]。但是,随着用药时间的延长和次数的增加,往往会出现结直肠癌对 5-FU 的耐药,这对于结直肠癌的治疗极为不

利。因此,寻求逆转耐药作用的药物是结直肠癌研究的热点和难点。本研究采用人结肠癌 HT-29/5-FU 耐药细胞株^[11]作为研究对象,发现单独使用 5-FU,其敏感性较低,而联合 ART 处理后,细胞对 5-FU 的敏感性增强,且 ART 逆转耐药倍数为 2.9 倍,表明 ART 能够逆转 HT-29/5-FU 细胞对 5-FU 的耐药。

ART 是青蒿素的衍生物,临床用于治疗疟疾,但近年来其抗肿瘤活性受到越来越多的关注。有研究发现,ART 具有诱导肿瘤细胞发生铁死亡的作用。铁死亡作为一种新发现的细胞死亡方式,在肿瘤研究中不断受到关注,也成为研究的热点。与凋亡等其他死亡模式不同,铁死亡主要通过促进细胞内氧化还原失衡^[12],使细胞内 ROS 不断累积,促进脂质过氧化,导致有毒氧化物不断增加,其中磷脂氢过氧化物的堆积是铁死亡的标志^[13]。通过实验研究发现,5-FU 及 ART 均对 HT-29/5-FU 细胞株的体外增殖产生一定影响,但是 ART 的细胞毒性较低,单独作用于 HT-29/5-FU 细胞株的效果远远小于结直肠癌一线治疗药物 5-FU。而 5-FU 联合 ART 能够减少 HT-29/5-FU 细胞的克隆形成数量,逆转肿瘤耐药;进一步检测细胞内的 ROS 发现,5-FU 联合 ART 能够明显提升细胞内 ROS 水平,使细胞内 ROS 不断堆积;进一步检测细胞内过氧化产物 MDA 的水平发现,5-FU 联合 ART 能够明显提高细胞内 MDA 水平,表明 5-FU 联合 ART 能够造成 HT-29/5-FU 细胞氧化还原失衡,而这种氧化还原失衡的状态能够被铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 所逆转。由此推测,ART 可能通过诱导细胞发生铁死亡逆转细胞对 5-FU 耐药。

研究发现,GPX4 是磷脂氢氧化物酶^[14],在细胞内能够将铁死亡过程中有毒的磷脂氢氧化物代谢为无毒的磷脂醇,发挥抗脂质过氧化的作用,从而发挥抗铁死亡的作用。Nrf2 是一种众所周知的转录因子,在细胞抗氧化过程中发挥着极其关键的作用^[15]。GPX4 是 Nrf2 的下游基因,因此 Nrf2 是铁死亡过程中的重要调节因子^[16]。本研究对 GPX4 和 Nrf2 蛋白水平进行检测,发现 5-FU 联合 ART 能够明显降低细胞内 Nrf2 和 GPX4 的表达水平,且这一效应能够被铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 所逆转,进一步证实 ART 可能通过抑制 Nrf2 和 GPX4 蛋白表达来促进细胞发生铁死亡,从而发挥逆转 5-FU 耐药的作用。本实验不足之处在于尚未能够在动物体内验证

ART 逆转 HT-29/5-FU 细胞对 5-FU 的耐药作用,后续研究中将采用动物实验进行体内药效验证。

综上所述,ART 能够逆转 HT-29/5-FU 细胞对 5-FU 的耐药,其作用机制可能与促进细胞发生铁死亡有关。因此,ART 可能成为克服结肠癌细胞对 5-FU 耐药的治疗策略,值得进一步研究。

参考文献(References)

- [1] 田传鑫,赵磊. 结直肠癌及结直肠癌肝转移流行病学特点[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2021, 28(13): 1033-1038. DOI: 10.16073/j.cnki.cjcp.2021.13.12.
- [2] VODENKOVA S, BUCHLER T, CERVENA K, et al. 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: past, present and future [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 206: 107447. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2019.107447.
- [3] BLONDY S, DAVID V, VERDIER M, et al. 5-Fluorouracil resistance mechanisms in colorectal cancer: from classical pathways to promising processes [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(9): 3142-3154. DOI: 10.1111/cas.14532.
- [4] 杨博,孙毅凡,雷瑶,等. 青蒿素及其衍生物治疗疟疾的研究进展[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2021, 39(3): 393-402. DOI: 10.12140/j.issn.1000-7423.2021.03.016.
- [5] WHITE N J, PUKRITTAYAKAMEE S, HIEN T T, et al. Malaria [J]. *Lancet*, 2014, 383(9918): 723-735. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60024-0.
- [6] PIRALI M, TAHERI M, ZAREI S, et al. Artesunate, as a HSP70 ATPase activity inhibitor, induces apoptosis in breast cancer cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 164: 3369-3375. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.198.
- [7] SU Y W, ZHAO B, ZHOU L F, et al. Ferroptosis, a novel pharmacological mechanism of anti-cancer drugs [J]. *Cancer Lett*, 2020, 483: 127-136. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.02.015.
- [8] LI Z J, DAI H Q, HUANG X W, et al. Artesunate synergizes with sorafenib to induce ferroptosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(2): 301-310. DOI: 10.1038/s41401-020-0478-3.
- [9] WANG K, ZHANG Z Y, WANG M, et al. Role of GRP78 in-

hibiting artesunate-induced ferroptosis in *KRAS* mutant pancreatic cancer cells [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 2135-2144. DOI: 10.2147/DDDT.S199459.

- [10] METTERLE L, NELSON C, PATEL N. Intraleisional 5-fluorouracil (FU) as a treatment for nonmelanoma skin cancer (NMSC): a review [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2016, 74(3): 552-557. DOI: 10.1016/j.jaad.2015.09.040.
- [11] 邱婷婷,项晓军,雷婉,等. 耐 5-氟尿嘧啶的人结肠癌 HT-29/5-FU 细胞株的建立及其生物学特性[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(3): 328-332. DOI: 10.13423/j.cnki.cjc-mi.007241.
- [12] WIERNICKI B, DUBOIS H, TYURINA Y Y, et al. Excessive phospholipid peroxidation distinguishes ferroptosis from other cell death modes including pyroptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(10): 922. DOI: 10.1038/s41419-020-03118-0.
- [13] TANG D L, KANG R, BERGHE T V, et al. The molecular machinery of regulated cell death [J]. *Cell Res*, 2019, 29(5): 347-364. DOI: 10.1038/s41422-019-0164-5.
- [14] WEI Y P, LV H H, SHAIKH A B, et al. Directly targeting glutathione peroxidase 4 may be more effective than disrupting glutathione on ferroptosis-based cancer therapy [J]. *Biochim Biophys Acta BBA Gen Subj*, 2020, 1864(4): 129539. DOI: 10.1016/j.bbagen.2020.129539.
- [15] BELLEZZA I, GIAMBANCO I, MINELLI A, et al. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress [J]. *Biochim Biophys Acta BBA Mol Cell Res*, 2018, 1865(5): 721-733. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2018.02.010.
- [16] SONG X H, LONG D X. Nrf2 and ferroptosis: a new research direction for neurodegenerative diseases [J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 267. DOI: 10.3389/fnins.2020.00267.

校稿:王娟 李征

本文引用格式: 陈书琴,周宋汇,汪瑞辰,等. 青蒿琥酯通过介导铁死亡逆转结肠癌细胞 5-氟尿嘧啶耐药的作用研究[J]. 肿瘤药学, 2023, 13(2): 161-166. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.02.05.

Cite this article as: CHEN Shuqin, ZHOU Songhui, WANG Ruichen, et al. Artesunate reverse the resistance of colon cancer cells to 5-fluorouracil by mediating ferroptosis [J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2023, 13(2): 161-166. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.02.05.