

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.27.008

青蒿琥酯抑制白血病耐药细胞株 K562/ADM 转铁蛋白受体表达*

张 阳¹ 周康熙² 李 俊¹ 耿英华¹ 张 凤¹ 杨艳丽^{1Δ}

(1 安徽省蚌埠医学院第一附属医院血液科 安徽 蚌埠 233000; 2 江苏省苏州大学第一附属医院 江苏 苏州 215000)

摘要 目的:观察青蒿琥酯对于白血病多药耐药细胞株 K562/ADM 转铁蛋白受体表达的影响。**方法:**将 K562/ADM(耐阿霉素)细胞分别经浓度为 12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 的青蒿琥酯处理 48 h,同时 25 $\mu\text{g/mL}$ 实验组在 12 h、24 h、36 h 分别收集足量细胞。采用流式细胞术检测青蒿琥酯对细胞转铁蛋白受体(TfR)密度的调控作用,Western blot 检测青蒿琥酯对细胞 TfR 蛋白表达的调控作用。CCK-8 法分析青蒿琥酯对 K562/ADM 细胞生长增殖的影响。**结果:**K562/ADM 细胞 TfR 密度和 TfR 蛋白表达水平分别经 12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 青蒿琥酯处理后均下降,呈浓度依赖性。25 $\mu\text{g/mL}$ 青蒿琥酯处理 K562/ADM 细胞不同时间段后转铁蛋白受体蛋白表达水平随着 Art 作用时间延长而逐渐降低,表明呈时间依赖性。K562/ADM 细胞经青蒿琥酯处理后其耐药性减弱:与对照组相比,12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 实验组细胞耐药逆转倍数分别为 1.38、2.12 和 2.95 倍,从而抑制 K562/ADM 细胞增殖。 IC_{50} 值为 19.7 $\mu\text{mol/L}$ 。**结论:**青蒿琥酯能降低细胞 TfR 密度和下调 TfR 蛋白的表达,逆转 K562/ADM 细胞的耐药性,从而起到抗肿瘤作用。

关键词:青蒿琥酯;转铁蛋白受体;K562/ADM 细胞

中图分类号:R-33;R733.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)27-5233-05

Effect of Artesunate on Transferrin Receptor in K562/ADM Cells*

ZHANG Yang¹, ZHOU Kang-xi², LI Jun¹, GENG Ying-hua¹, ZHANG Feng¹, YANG Yan-li^{1Δ}

(1 Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui, 233000, China;

2 The First Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou, Jiangsu, 215000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of Artesunate (Art) on the expression of transferrin receptor (TfR) in K562/ADM cells. **Methods:** The drug-resistant K562/ADM cells were cultured with 1000 ng/mL doxorubicin for two weeks followed by Artesunate treatment with different concentrations (12.5 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$ and 50 $\mu\text{g/mL}$) or different time (12 h, 24 h, 36 h, and 48 h). The content of transferrin receptor in K562/ADM cells was determined by flow cytometry. The effect of Artesunate on the expression of transferrin receptor protein in K562/ADM cells was measured by Western blot. Cell counting kit-8 (CCK-8) assay was used to evaluate inhibitory effect of Art combined with doxorubicin (ADM) in K562/ADM cells. The reversal index was defined as the IC_{50} of the experimental group divided by the IC_{50} of the control group in K562/ADM cells. **Results:** Art effectively decreased the content of transferrin receptor and the expression of transferrin receptor protein in K562/ADM cells in a dose-dependent manner. Moreover, Art also inhibited transferrin receptor protein expression in K562/ADM cells in a time-dependent manner. The different concentrations of Art (12.5 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$ and 50 $\mu\text{g/mL}$) could induce reversal of drug-resistance with the reversal index being 1.38, 2.12 and 2.95 times ($P < 0.05$). Art inhibited cell proliferation of K562/ADM cells, and the IC_{50} were 19.7 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusions:** Art effectively down-regulated the transferrin receptor content as well as transferrin receptor protein expression in K562/ADM cells, which resulted in reversal of drug resistance of K562/ADM cells. Art also inhibited K562/ADM cells proliferation, which has great value in clinical treatment of leukemia.

Key words: Artesunate; Transferrin receptor; K562/ADM cells

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R733.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)27-5233-05

前言

白血病(leukemia)作为一种造血系统恶性肿瘤,其致死率在我国肿瘤患者死亡率中排名前列,尤其是在儿童之中其致死率居首位,成为影响国民健康和生命的危险因素之一。近年来虽然各种化疗药物尤其是靶向药物的问世极大改善了白血病

患者的生存质量,延长了患者生存时间。但在临床治疗过程中相关治疗方案失败的原因之一常为体内肿瘤细胞对化疗药物产生抵抗或敏感性下降即产生耐药性。青蒿素(Artesunate, Art)为我国学者从我国传统药物中提取的一种晶状体,具有明显的抗疟疾作用并以此获得诺贝尔奖。青蒿素类药物首先应用于抗疟治疗中,但在研究中发现此类药物对于诸如卵巢癌、前列腺

* 基金项目:蚌埠医学院 2015 年度研究生科研创新计划(Byyxcx1512)

作者简介:张阳(1989-),硕士研究生,住院医师,研究方向:恶性白血病的基础与临床,电话:18605642149, E-mail: gaffet002@163.com

Δ 通讯作者:杨艳丽(1974-),硕士生导师,主任医师,研究方向:恶性白血病的基础与临床, E-mail: yangyanli0702@126.com

(收稿日期:2017-03-19 接受日期:2017-04-15)

癌等多种肿瘤细胞的增殖分化也具有一定的抑制作用^[4-5],其中对白血病细胞的作用也有较多相关报道^[6,7]。而青蒿琥酯具有上述作用的同时且与同类药物相比显示出更强的抗肿瘤活性^[8]。

1 材料与方法

1.1 药品与仪器

青蒿琥酯、阿霉素为上海阿拉丁生化科技有限公司产品,二甲亚砜(DMSO)为美国 Sigma 公司产品,所有实验中 DMSO 终浓度<0.1%。CCK-8 细胞增殖-毒性检测试剂盒购买于上海东仁化学科技有限公司。苯甲基磺酰氟(PMSF)为美国 Amresco 公司产品,4× Laemmli sample buffer 和聚偏二氟乙烯膜(PVDF 膜)为美国 Bio-Rad 公司产品,兔抗人 CD71、β-actin 为美国 CST 公司产品,辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔抗体为美国 Santa Cruz 公司产品,ECL 为美国 Advanta 公司产品。细胞 K562/ADM(耐药株)为上海酶研生物科技有限公司,胎牛血清购买于杭州四季青生物工程材料有限公司,RP-MI1640 培养基购买于上海培源生物科技有限公司。低速离心机 1-16 型(Sigma,美国);流式细胞仪 FC500 型(Beckman coulter,美国);垂直电泳设备(Bio-Rad,美国);荧光倒置显微镜(Lecica,德国);酶联免疫分析仪(Bio-Tek,美国)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 将 K562/ADM 细胞培养于含 10% 小牛血清 RPMI 1640 液中(100 U/mL 青霉素,100 μg/mL 链霉素,5% CO₂,37℃)。利用处于对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 药物处理 化疗药物近似血药浓度按公式计算:最大血药浓度=该药物临床用量/(患者体重×0.08×1000)。患者体重以 60 kg 计算,最大近似浓度为 25 μg/mL^[9]。建立青蒿琥酯浓度分别为 12.5、25、50 μg/mL。

1.2.3 流式细胞术测定 TfR 密度 上述浓度药物处理 K562/ADM 细胞 48 h,按文献记载方法^[10]离心收集,用冰冻甲醇固定 20 min,PBS 洗 1 次后用 3%BSA 封闭 30 min,建立细胞浓度梯度,取不同浓度细胞悬液 100 μL,加入 TfR 单克隆抗体 2 μL 孵育 1 h 后,PBS 洗 1 次后继续以 100 μL 重悬,加入二抗 2 μL,避光孵育 30 min,PBS 洗两次,加 PBS 500 μL 上机检测 TfR 细胞表达率。

1.2.4 Western blot 检测 K562/ADM 细胞用不同浓度的青蒿琥酯作用 48 h 后,1000 rpm 离心后加入 PBS 洗一次,用等体积 2× 细胞裂解液裂解细胞,加入 1 mmol/LPMSF,金属浴 5min,

加入 4× Laemmli sample buffer。蛋白条带用 100V,1 h 转移至 PVDF 膜。膜经含 5%脱脂奶粉 TBST [10 mmol/L Tris,150 mmol/L NaCl,0.1%Tween-20]室温封闭 1 h,兔抗人 TfR 单克隆抗体(1:1000 稀释)及抗β-actin 单克隆抗体(1:1000 稀释)4℃过夜孵育。HRP 标记的山羊抗兔抗体(1:8000 稀释)室温孵育 1 h。再次 TBST 洗膜并采用 ECL 法检测 TfR 及 β-actin 条带。

1.2.5 细胞增殖分析 K562/ADM 细胞(1×10⁴/mL)接种于 96 孔板,分别于上述浓度药物作用 48 h 后,向每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液,继续孵育 4 小时,用酶标仪测定波长 450 nm 下各孔吸光度(A)值,并绘制生长曲线。

1.2.6 细胞生长抑制实验 将 K562/ADM 细胞分为 4 组:(I)对照组:K562/ADM(不加任何药物);(II)12.5 μg/mL 实验组 K562/ADM 细胞+青蒿琥酯(终末浓度为 12.5 μg/mL),(III)25 μg/mL 实验组 K562/ADM 细胞+青蒿琥酯(终末浓度为 25 μg/mL),(IV)50 μg/mL 实验组 K562/ADM 细胞+青蒿琥酯(终末浓度为 50 μg/mL),96 孔培养板接种对数生长期 K562/ADM 细胞,细胞密度调整为 1×10⁴/mL。按上述分组加入不同浓度青蒿琥酯。培养 48 h 后加入阿霉素,使阿霉素终末浓度分别为 0、200、400、800 及 1600 ng/mL,再培养 48 h 后。每孔加入 CCK-8 溶液 10 μL,继续孵育 4 h,用酶标仪测定波长 450 nm 下各孔吸光度(A)值,以既不加药也不加 CCK-8 试剂为空白对照组,计算细胞存活率。细胞存活率=[(As-Ab)/(Ac-Ab)]×100%;细胞增殖抑制率=[(Ac-As)/(Ac-Ab)]×100%(As、Ac、Ab 分别代表实验孔、对照孔和空白孔)。各组设 3 个复孔,实验重复 4 次,取平均值。计算出半数抑制率的 ADM 浓度(IC₅₀)。细胞耐药逆转倍数=对照组细胞 IC₅₀/实验组细胞 IC₅₀。

1.2.7 数据统计分析 所有实验至少重复 3 次,数据采用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两样本间均数比较采用 t 检验。所有数据均用 SPSS13.0 统计软件处理。P<0.05 表示有统计学差异。

2 结果

2.1 青蒿琥酯降低 K562/ADM 细胞 TfR 密度

经不同浓度青蒿琥酯处理后 K562/ADM 细胞 TfR 密度均有不同程度下降,且呈浓度依赖性。图 1 可见 25 μg/mL 组和 50 μg/mL 组与对照组相比分别下降 36.61%和 47.85%,差异具有统计学意义(P<0.05)。

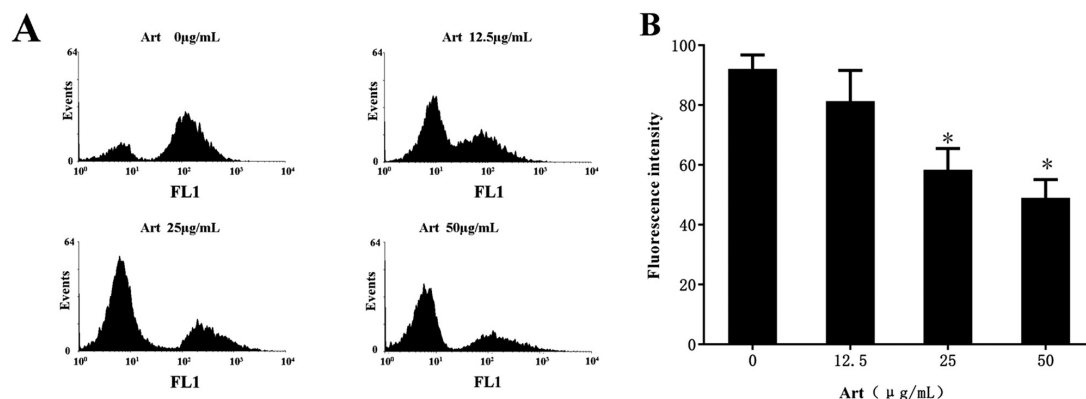


图 1 青蒿琥酯对 K562/ADM 细胞 TfR 密度的影响

Fig.1 Effect of Art on TfR content in K562/ADM cells

2.2 青蒿琥酯下调 K562/ADM 细胞 TfR 蛋白表达

Western blot 结果显示 K562/ADM 细胞 TfR 蛋白表达水平在经青蒿琥酯处理后发生不同程度下降,且呈剂量依赖和时间依赖的特性。其中 K562/ADM 细胞水平分别经 12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ Art 处理后 TfR 蛋白表达量随青蒿琥酯浓度增加而逐渐减少,见图 2A。25 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$ 实验组与对照组相比差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 2B。经 25 $\mu\text{g/mL}$ 青蒿琥酯分别作用 12 h、24 h、36 h 和 48 h 后,细胞表面 TfR 蛋白表达量相对于未经药物处理组均有所下降,且随着时间的延长下降程度逐渐增加,见图 2C,青蒿琥酯作用耐药细胞 24 h 后与对照组差异有统计学意义($P<0.05$),见图 2D。

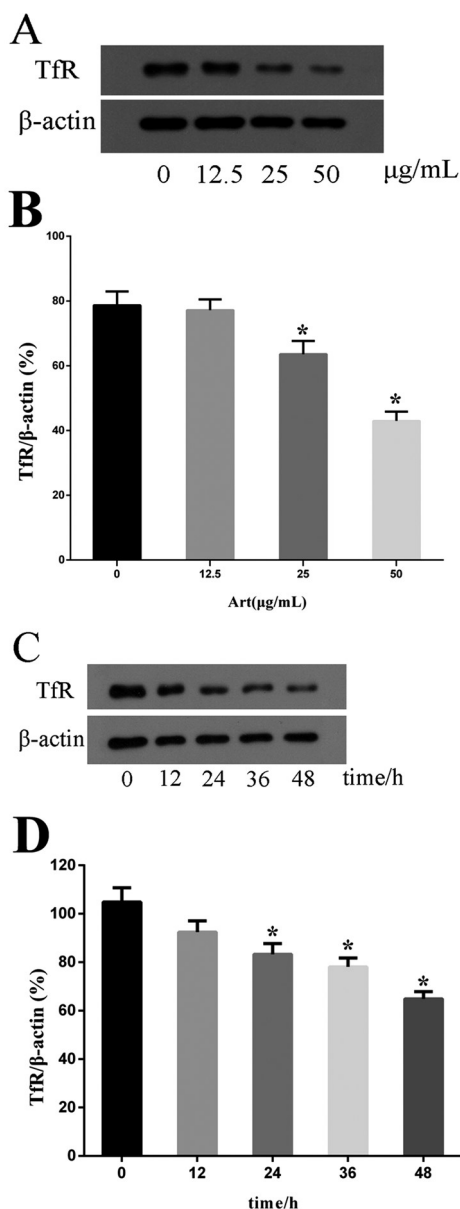


图2 青蒿琥酯对 K562/ADM 细胞 TfR 蛋白表达的影响。

Fig.2 Effect of Art on expression of TfR protein in K562/ADM cells

2.3 青蒿琥酯对 K562/ADM 细胞的耐药逆转作用

不同药物浓度的青蒿琥酯对 K562/ADM 细胞均具有不同程度的耐药逆转作用,并且在 12.5-50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内,逆转作用(耐药倍数)随青蒿琥酯浓度升高而明显增加:12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 实验组细胞分别为 1.38、2.12 和 2.95 倍,呈浓度依赖性

($P<0.05$),见表 1。

表 1 不同浓度青蒿琥酯对 K562/ADM 细胞耐药性的逆转

Table 1 Effect of Artesunate with different concentrations on MDR reversal of K562/ADM cells

Groups	the reversal index being
(I) K562/ADM cell	
(II) K562/ADM cell+12.5 $\mu\text{g/mL}$ Art	1.38*
(III) K562/ADM cell+25 $\mu\text{g/mL}$ Art	2.12*
(IV) K562/ADM cell+50 $\mu\text{g/mL}$ Art	2.95*

Note: Compared with group I, * $P<0.05$.

2.4 青蒿琥酯对 K562/ADM 细胞增殖的影响

经不同浓度青蒿琥酯处理后的 K562/ADM 细胞增殖均受到抑制。将浓度分别为 12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 的青蒿琥酯与 K562/ADM 细胞作用 48 h 后,抑制率依次为 42.4%、51.91% 和 69.29%,呈剂量依赖性。统计学处理得到 IC_{50} 值为 19.7 $\mu\text{mol/L}$ 。

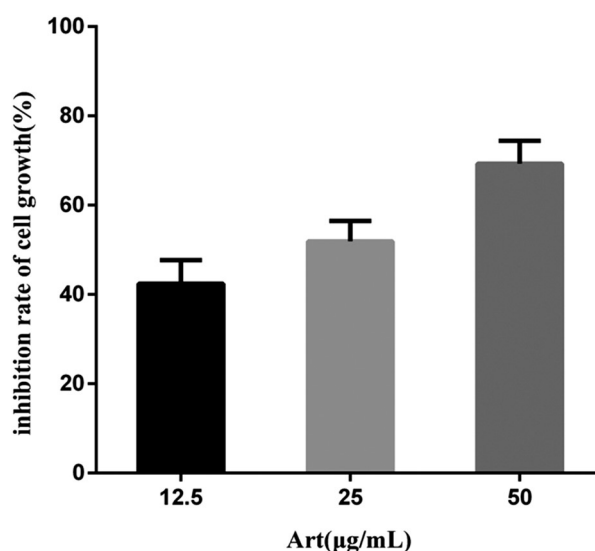


图3 青蒿琥酯对 K562/ADM 细胞增殖的影响

Fig.3 Effects of Art on the proliferation of K562/ADM cells

3 讨论

转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR)是一种可见于绝大多数机体正常细胞细胞膜上的跨膜糖蛋白,尤其是在幼红细胞和肝细胞细胞膜上最多。转铁蛋白受体基因位于第 3 号染色体上的 q21-25 区,有两个相对分子质量为 95000 的亚单位构成^[11]。转铁蛋白受体参与铁离子吸收和细胞生长且表达水平受细胞内铁离子水平调节,其可通过铁-转铁蛋白-转铁蛋白受体复合物形式将铁运送至细胞内。而大量研究发现在肿瘤细胞发生发展过程中转铁蛋白受体可能起着极其重要的作用。Liu 等^[12-15]研究发现与正常组织相比,肿瘤细胞细胞膜上 TfR 蛋白表达明显增高,并且在肿瘤细胞增殖周期中 TfR 发挥出重要作用。同时肿瘤细胞处于增殖周期时 TfR 表达明显增高,而处于静止期的细胞表面 TfR 表达水平仅维持在极低水平甚至缺乏^[16]。这可能与肿瘤细胞中铁离子大量增加有关。而且在肿瘤细胞增殖过程中 TfR 可能始终处于活动状态以维持肿瘤细胞的多种生理

功能。实验表明抗转铁蛋白受体单克隆抗体对于在各种白血病细胞同样产生抑制肿瘤生长等作用,因此在各种白血病治疗中对于 TfR 表达的调节如制备相关单抗可能是有效治疗手段之一^[17,18]。转铁蛋白受体还有另一种形式 -- 转铁蛋白受体 2 (TfR2),其基因位于人 7 号染色体 q22 区,有两个亚基(α 亚基和 β 亚基)^[19]。与转铁蛋白受体 1 (TfR1)不同的是 TfR2 表达水平并不受细胞内铁离子水平影响而是受细胞周期调节,在细胞增殖中的不同时期表达水平不一^[20]。TfR2 在正常组织细胞中表达十分有限,仅在肝细胞和部分肠组织细胞中多见^[21,22]。但当细胞发生恶变成后,多种肿瘤细胞中 TfR2 表达水平均明显增高。这两种转铁蛋白受体在肿瘤细胞中发挥出重要作用,它们可能在白血病的诊治、疗效判断及预后中有重要意义,比如可以作为相关白血病的肿瘤标记物^[23]。因此它们在临床治疗白血病中有巨大潜力。

实验发现 K562/ADM 细胞 TfR 密度分别经 12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 青蒿琥酯处理后均发生不同程度下降:其中与未经青蒿琥酯处理组相比 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 组下降程度差异无统计学意义 ($P>0.05$,下同),而 25 $\mu\text{g/mL}$ 组和 50 $\mu\text{g/mL}$ 组差异有统计学意义 ($P<0.05$,下同),显示出青蒿琥酯对转铁蛋白受体密度的调节具有剂量依赖性。Western blot 结果同样显示三组不同浓度的青蒿琥酯具有下调转铁蛋白受体蛋白表达水平的作用,其作用也且呈剂量依赖性。而同一浓度青蒿琥酯(25 $\mu\text{g/mL}$)处理 K562/ADM 细胞不同时间段后(12 h、24 h、36 h 及 48 h)实验结果显示转铁蛋白受体蛋白表达水平随着青蒿琥酯作用时间延长而逐渐降低,则显示出时间依赖性。此结果与青蒿素类衍生物双氢青蒿素对敏感株 K562 细胞表面转铁蛋白受体的影响一致^[9],表明 K562 细胞经阿霉素诱导对其产生耐药性后转铁蛋白受体仍可作为青蒿素类药物杀伤肿瘤细胞的靶点之一。实验进一步发现 K562/ADM 细胞经青蒿琥酯处理后对阿霉素的耐药性有所降低,以耐药系数为指标,12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 实验组分别为 1.38、2.12 和 2.95 倍,且与未经青蒿琥酯处理的 K562/ADM 细胞相比差异均具有统计学意义 ($P<0.05$),表明 K562/ADM 细胞对阿霉素的耐药性随着青蒿琥酯浓度增高而逐渐降低,即具有剂量依赖性。与此对应的是 12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 的青蒿琥酯对 K562/ADM 细胞生长抑制率依次为 42.4%、51.91% 和 69.29%,同样呈剂量依赖性。

目前认为青蒿素类药物抗肿瘤细胞机制复杂,因其作为植物提取化学物之一具有多靶点多机制特性,抗肿瘤作用可能与参与信号转导、抗氧化应激、影响细胞增殖周期、抑制血管再生、铁离子过载、线粒体损伤、损伤 DNA 及诱导细胞凋亡等有关^[3,24-30]。而肿瘤细胞对抗肿瘤药物耐药性的产生一方面可能是突变过程中已经携带相关药物耐药基因,另一方面可能是由化疗药物逐渐诱导产生的,比如基因表达异常,DNA 损伤修复能力异常,多药耐药相关基因表达、耐药肿瘤细胞中基因扩增及其他与肿瘤耐药相关的分子改变等^[31]。以上实验结果证明青蒿琥酯可以影响 K562/ADM 细胞增殖周期达到抑制其生长的目的,同时还能逆转其耐药性进一步加强对于 K562/ADM 细胞杀伤作用。其机制可能为通过干扰 K562/ADM 细胞表面 TfR 表达,影响肿瘤细胞内吞作用、线粒体功能、铁的摄取及活性氧的

产生等功能从而起到抗肿瘤作用。而且青蒿琥酯作为青蒿素类衍生物之一同样具有过氧基团,肿瘤细胞内所富含的二价铁离子可以催化青蒿琥酯过氧桥裂解,产生大量自由基和活性氧簇(ROS),本身还可能通过加强 DNA 损伤、下调 ABC 转运蛋白超家族如 P-糖蛋白的表达、下调耐药基因的表达等多方面起到逆转耐药性的作用。其机制值得我们更进一步探索。

青蒿琥酯作为青蒿素类衍生物本身具有抗肿瘤作用,且试验发现它与多种化疗药物如长春新碱等无交叉耐药。而且其不仅可以从黄花蒿中获取,更有报道称烟草中也可以提取出大量相关物质^[32],这表明其来源广泛易获取且价格低廉。多年临床用药观察已经证实青蒿素类药物治疗疟疾时安全性强,患者可以耐受相关副反应。而且已经有临床研究发现肿瘤患者对于治疗量青蒿琥酯也具有较好的耐受性^[33],这为青蒿素类药物应用于临床治疗肿瘤疾病提供了有效的保障。虽然青蒿素类及其衍生物在体内外及前期临床实验中均展现了良好的抗肿瘤特性,但仍需大规模 II 期和 III 期临床试验来为此提供更为有效地证据。同样青蒿琥酯如何在肿瘤细胞尤其是多药耐药肿瘤细胞中发挥作用值得更加深入。

参考文献(References)

- [1] Wu B, Hu K, Li S, et al. Dihydroartemisinin inhibits the growth and metastasis of epithelial ovarian cancer [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(1): 101-108
- [2] Zhang CZ, Zhang H, Yun J, et al. Dihydroartemisinin exhibits antitumor activity toward hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(9): 1278-1289
- [3] Blazquez AG, Fernandez-Dolon M, Sanchez-Vicente L, et al. Dihydroartemisinin inhibits tumor growth of human osteosarcoma cells by suppressing Wnt/beta-catenin signaling [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21(14): 4432-4441
- [4] Zuo W, Wang ZZ, Xue J. Artesunate induces apoptosis of bladder cancer cells by miR-16 regulation of COX-2 expression[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(8): 14298-14312
- [5] Du S, Xu G, ZOU W, et al. Effect of dihydroartemisinin on UHRF1 gene expression in human prostate cancer PC-3 cells [J]. *Anticancer Drugs*, 2017, 28(4): 384-391
- [6] Gerhardt T, Jones R, Park J, et al. Effects of antioxidants and pro-oxidants on cytotoxicity of dihydroartemisinin to Molt-4 human leukemia cells[J]. *Anticancer Res*, 2015, 35(4): 1867-1871
- [7] Elf S, Lin R, Xia S, et al. Targeting 6-phosphogluconate dehydrogenase in the oxidative PPP sensitizes leukemia cells to antimalarial agent dihydroartemisinin[J]. *Oncogene*, 2017, 36(2): 254-262
- [8] Fan Rong, Xie Hong, Yang Lei, et al. Comparison on the growth inhibiting effects of three Artemisinin derivatives on leukemia cell K562 [J]. *Acta Academiae Medicinae*, 2006, 15(3): 199-201
- [9] Yang Hong-yong, Wang Xin-hua, Li Yuan-ming. Effect of Artesunate on Mitochondrial Membrane Potential of Human Acute Leukemia Primary Cells [J]. *Journal of Guang zhou University of Traditional Chinese Medicine*, 2011, 28(2): 155-157
- [10] Wang Zeng, Zhou Hui-jun. Dihydroartemisinin down-regulates the expression of transferrin receptor in myeloid leukemia cells [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2008, 43(6): 576-583
- [11] Jing SQ, Trowbridge IS. Identification of the intermolecular disulfide

- bonds of the human transferrin receptor and its lipid-attachment site [J]. EMBO J, 1987, 6(2): 327-331
- [12] Liu Dao-zhou, Liu Miao, Cai Rong-qiao, et al. Preparation and in Vitro Anti-tumor Activity of Transferrin Modified Magnetic Nanoparticle [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16 (9): 1631-1635
- [13] Seung Min Jeong, Sunsook Hwang, Rho Hyun Seong. Transferrin receptor regulates pancreatic cancer growth by modulating mitochondrial respiration and ROS generation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 471(3): 373-379
- [14] Taetle R. The role of transferrin receptors in hemopoietic cell growth [J]. Exp Hematol, 1990, 18: 360-365
- [15] Tortorella S, Karagiannis TC. Transferrin receptor-mediated endocytosis: a useful target for cancer therapy [J]. J Membr Biol, 2014, 247 (4): 291-307
- [16] Keer HN, Kozlowski JM, Tsai YC, et al. Elevated transferrin receptor content in human prostate cancer cell lines assessed in vitro and in vivo[J]. J Urol, 1990, 143: 381-385
- [17] Callens C, Moura IC, Lepelletier Y, et al. Recent advances in adult T-cell leukemia therapy: focus on a new anti-transferrin receptor monoclonal antibody[J]. Leukemi, 2008, 22(1): 42-48
- [18] Shimosaki S, Nakahata S, Ichikawa T, et al. Development of a complete human IgG monoclonal antibody to transferrin receptor 1 targeted for adult T-cell leukemia/ lymphoma [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 485(1): 144-151
- [19] Glöckner G, Scherer S, Schattevoy R, et al. Large-scale sequencing of two regions in human chromosome 7q22: analysis of 650 kb of genomic sequence around the EPO and CUTL1 loci reveals 17 genes[J]. Genome Res, 1998, 8(10): 1060-1073
- [20] Kawabata H, Germain RS, Vuong PT, et al. Transferrin receptor 2- α supports cell growth both in iron-chelated cultured cells and in vivo[J]. J Biol Chem, 2000, 275(22): 16618-16625
- [21] Kawabata H, Nakamaki T, Ikonomi P, et al. Expression of transferrin receptor 2 in normal and neoplastic hematopoietic cells [J]. Blood, 2001, 98(9): 2714-2719
- [22] Deaglio S, Capobianco A, Cali A, et al. Structural, functional, and tissue distribution analysis of human transferrin receptor-2 by murine monoclonal antibodies and a polyclonal antiserum [J]. Blood, 2002, 100(10): 3782-3789
- [23] Liu Yong-zheng, Xiao Ruo-bing. Clinical effect of detection of serum ferritin, serum transferritin, serum transferritin receptor in patients with leukemia[J]. Anti-tumor Pharmacy, 2011, 01(5): 447-449
- [24] Seo EJ, Wiench B, Hamm R, et al. Cytotoxicity of natural products and derivatives toward MCF-7 cell monolayers and cancer stem-like mammospheres[J]. Phytomedicine, 2015, 22(4): 438-443
- [25] Li J, Casteels T, Frogne T, et al. Artemisinins target GABAA receptor signaling and impair alpha cell identity [J]. Cell, 2017, 168(1-2): 86-100
- [26] Subedi A, Futamura Y, Nishi M, et al. High-throughput screening identifies artesunate as selective inhibitor of cancer stemness: involvement of mitochondrial metabolism [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 477 (4): 737-742
- [27] Tin AS, Sundar SN, Tran KQ, et al. Antiproliferative effects of artemisinin on human breast cancer cells requires the downregulated expression of the E2F1 transcription factor and loss of E2F1-target cell cycle genes[J]. Anticancer Drugs, 2012, 23(4): 370-379
- [28] Zhu H, Liao SD, Shi JJ, et al. DJ-1 mediates the resistance of cancer cells to dihydroartemisinin through reactive oxygen species removal [J]. Free Radic Biol Med, 2014, 71: 121-132
- [29] Jia J, Qin Y, Zhang L, et al. Artemisinin inhibits gallbladder cancer cell lines through triggering cell cycle arrest and apoptosis [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(5): 4461-4468
- [30] Jeong da E, Song HJ, Lim S, et al. Repurposing the anti-malarial drug artesunate as a novel therapeutic agent for metastatic renal cell carcinoma due to its attenuation of tumor growth, metastasis, and angiogenesis[J]. Oncotarget, 2015, 6(32): 33046-33064
- [31] Sun Xiao-ran, Sun Jian-jing, Zhang Lin-xi. Research progress of multidrug resistance in tumor[J]. Journal of Modern Oncology, 2017, 01: 164-166
- [32] Fuentes P, Zhou F, Erban A, et al. A new synthetic biology approach allows transfer of an entire metabolic pathway from a medicinal plant to a biomass crop[J]. Elife, 2016, 5
- [33] Zhang ZY, Yu SQ, Miao LY, et al. Artesunate combined with vinorelbine plus cisplatin in treatment of advanced non-small cell lung cancer: a randomized controlled trial[J]. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao, 2008, 6(2): 134-138