

【综述】

双氢青蒿素诱导肿瘤细胞凋亡的信号通路研究进展

梁小娜¹, 单 淇^{2, 3, 4}, 周福军^{2, 3, 4}, 徐 旭^{2, 4, 5}, 侯文彬^{2, 3, 4*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津药物研究院, 天津 300193

3. 中药现代制剂与质量控制国家地方联合工程实验室, 天津 300193

4. 天津市质量标志物重点实验室, 天津 300193

5. 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘 要: 双氢青蒿素作为青蒿素的重要衍生物, 是我国自行研制出的抗疟新药。近些年来, 人们对双氢青蒿素进行了多方面的研究, 在抗肿瘤研究方面有许多新进展, 发现其诱导肿瘤细胞凋亡的机制与多条信号通路有关, 例如PI3K/Akt、MAPK、STAT3、Wnt/ β -catenin、NF- κ B等信号通路。通过对作用机制的深入研究和阐述有望发现双氢青蒿素的新适应症, 使其在临床上的应用更加广泛。

关键词: 双氢青蒿素; 肿瘤; 细胞凋亡; 信号通路

中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2019) 04-0775-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.04.034

Progress in signaling pathways induced by dihydroartemisinin on tumor cell apoptosis

LIANG Xiaona¹, SHAN Qi^{2,3,4}, ZHOU Fujun^{2,3,4}, XU Xu^{2,3,5}, HOU Wenbin^{2,3,4}

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Pharmaceutical Research Institute, Tianjin 300193, China

3. State Key Laboratory of Drug Release Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300193, China

4. Tianjin Key Laboratory of Quality Markers for Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

5. National and Local Joint Engineering Laboratory for Modern Preparation and Quality Control of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Dihydroartemisinin is not only an important derivative of artemisinin but also a new antimalarial drug developed by China. In recent years, more and more studies had been conducted on dihydroartemisinin, especially on the research of anti-tumor effects and mechanism, which were deeply related to tumor cell apoptosis signal pathways, involving PI3K/Akt signaling pathway, MAPK signaling pathway, STAT3 signaling pathway, Wnt/ β -catenin signaling pathway, NF- κ B signaling pathway and so on. The more studies and clarification of dihydroartemisinin on anti-tumor mechanism, the more indications are going to be found, making it more widely used in clinic.

Key words: dihydroartemisinin; tumor; apoptosis; signaling pathway

青蒿为菊科植物黄花蒿 *Artemisia annua* L. 的干燥地上部分, 秋季花盛开时采割, 除去老茎, 阴干而制得^[1], 性寒, 味苦、辛, 归肝、胆经, 具有清热解暑、除蒸、截疟之功效, 药用历史已有2000多年。青

蒿素是从青蒿叶中提取出的一种含过氧键的特殊倍半萜内酯^[2], 双氢青蒿素 (dihydroartemisinin, DHA) 是青蒿素的衍生物之一, 化学式为 $C_{15}H_{24}O_5$, 其标准命名为 (3*R*, 5*a* *S*, 6*R*, 8*a* *S*, 9*R*, 12*S*, 12*a*, *R*)-

收稿日期: 2018-11-07

基金项目: 国家新药创制项目 (2017ZX09101002-001-005)

第一作者: 梁小娜 (1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向中药新药发现与质量研究。Tel: 15822735600 E-mail: misscatliang@163.com

*通信作者: 侯文彬, 研究员, 中药新药研发和质量控制研究。E-mail: houwb@tjpr.com

八氢-3,6,9-三甲基-3,12-桥氧-12H-吡喃并[4,3-j]-1,2-苯并二氧七环-10(3H)-醇^[3], CAS 号为 81496-81-3; 71939-50-9; 123930-80-3。青蒿素及其衍生物是世界上治疗疟疾最有效的药物,青蒿素联合疗法已被用于几乎所有国家和地区的疟区,每年治疗病例一亿以上,降低了全球疟疾的发生率和死亡率,已挽救了数百万人的生命^[4]。双氢青蒿素治疗红斑狼疮正在开展临床试验。大量研究表明,双氢青蒿素除治疗疟疾、红斑狼疮外,还能抑制多种恶性肿瘤细胞的生长,选择性杀伤肿瘤细胞、诱导其凋亡。其诱导肿瘤细胞凋亡的机制与多条信号通路有关,本文对相关信号通路进行综述,以期为后续研究提供参考。

1 PI3K/Akt 信号传导通路

PI3K 家族是一类特异性催化磷酸酰肌醇脂物质的激酶,可被多种因子(PDGF、EGF、IGF 等)激活。Akt 是一种 Ser/Thr 蛋白,其活化与多种生长因子、激素、细胞因子、PTEN 的失活和 Ras 的激活等相关^[5]。激活的 PI3K 通过磷酸化 Thr308 和 Ser473 位点激活 Akt,而活化的 Akt 可以激活其下游的雷帕霉素靶蛋白(alien target of rapamycin, mTOR)。PI3K/Akt 信号通路中相关基因和分子异常表达所致的功能获得或缺失能够引起肿瘤细胞增殖、凋亡及侵袭的异常,在肿瘤的发生和发展过程中具有重要作用。

Li 等^[6]研究发现 DHA 直接靶向作用于血小板衍生生长因子受体- α (PDGFR α),与其胞间结构域结合,通过加速泛素介导的降解降低蛋白质稳定性,进一步使下游 PI3K 和促分裂原活化蛋白激酶途径(mitogen-activated protein kinase, MAPK)失活,并抑制上皮-间质转化,抑制细胞生长和转移。唐溧等^[7]研究显示 DHA 能抑制抑癌基因泛素羧基末端水解酶 L1(ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1, UCHL1)表达,恢复抑癌基因 UCHL1 的表达,进而诱导细胞凋亡,作用机制可能与抑制 PI3K/Akt 信号通路的活性相关;该结论也得到高小玲等^[8]的研究验证。

Odaka 等^[9]研究显示 DHA 影响 mTORC2 介导的 Akt 磷酸化效果不显著,表明 DHA 可能作为一类新型 mTORC1 抑制剂,通过阻断肿瘤细胞中 mTORC1 介导的信号通路实现其抗癌活性。Chen 等^[10]研究显示解聚素金属蛋白酶 17(ADAM17)激动剂趋化因子佛波醇肉豆蔻酸酯乙酸酯会促进 EGFR 和 AKT 磷酸化,而加入 DHA 会抑制 ADAM17 和磷酸化 EGFR、Akt(分别为 p-EGFR 和 p-Akt)的蛋白质表达水平,表明 DHA 通过抑制

ADAM17 和下调 EGFR-PI3K-AKT 信号传导来抑制神经胶质瘤的增殖和侵袭。

2 MAPK 信号传导通路

MAPK 是一组可被多种信号激活的丝氨酸/苏氨酸激酶,通过磷酸化核转录因子、细胞骨架蛋白及酶类等参与细胞增殖、分化、转化及凋亡的调节,并与炎症、肿瘤等多种疾病的发生密切相关。目前至多发现 5 个并行的 MAPK 信号通路:细胞外信号调节激酶(ERK1/2)、c-Jun-末端激酶(JNK/SAPK; JNK1、JNK2 和 JNK3)、p38 激酶同工酶(p38A、p38B、p38C 和 p38D)、ERK3/ERK4、ERK5^[11-12]。

Dong 等^[13]实验表明 DHA 可降低 ERK1/2 的磷酸化,下调 ERK1/2 的 mRNA 和蛋白表达,并抑制 ERK1/2 下游效应子 c-Fos 和 c-Myc 的转录和蛋白质表达,表明 DHA 通过抑制 ERK 信号传导途径来抑制内皮细胞增殖。Chris 等研究发现组蛋白去乙酰酶抑制剂(HDACI)可以促进肿瘤细胞凋亡,增强 DHA 抗肿瘤。其机制可能是 DHA 抑制细胞外调节蛋白激酶 ERK 磷酸化,联用抑制其磷酸化非 ATP 竞争性的 MEK 抑制剂 PD98059 可以增加 DHA 诱导凋亡的作用^[14-15]。

实验者发现 JNK 抑制剂 SP600125 可以逆转 DHA 诱导的悬浮人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的细胞死亡,表明 DHA 可能介导 JNK 途径诱导内皮细胞失活凋亡^[16]。Wang 等^[17]研究发现用 DHA 处理可以增加 U266 细胞中的 Caspase-3 和 c-Jun 表达,将 c-Jun 抑制剂 SP600125 加入到已用 DHA 处理后的细胞中会显著降低 Caspase-3 和 c-Jun 表达水平。这些发现证实 DHA 通过干扰 JNK 信号传导途径来抑制多发性骨髓瘤细胞的增殖。Zhang 等^[18]研究发现 DHA 会上调 Bax, cleaved Caspase-3、Caspase-9 表达,降低 DNA 修复酶(PARP)表达,下调 Bcl-2 表达和 Bcl-2/Bax 的比值,同时促进 ERK1/2、JNK1/2 和 p38 MAPK 的磷酸化。JNK1/2 和 p38 MAPK 激酶活性的合成抑制剂能够消除 DHA 诱导的 Caspase-3 和 Caspase-9 活化,表明 DHA 通过 JNK1/2 和 p38MAPK 信号传导途径诱导 BGC-823 细胞凋亡。

Im 等^[19]研究发现泛 Caspase 酶抑制剂 Z-VAD-FMK 能显著抑制 DHA 诱导的细胞凋亡、Caspase 酶活化和 PARP 的裂解,蛋白酶体抑制剂 MG132 可以恢复 DHA 抑制的 Sp1 蛋白表达,表明 DHA 通过参与 MAPK 途径的 Sp1 的蛋白酶体依赖性降解,诱导 HCC SK-Hep-1 细胞中的 Caspase 酶依赖性细胞凋亡。

3 STAT3信号通路

研究发现STAT3参与调控细胞生长、分化、恶性转化及凋亡抑制等活动^[20]。通过酪氨酸激酶(JAK1、JAK2、JAK3、TYK2等),细胞外蛋白可与细胞膜表面的特异受体结合使受体酪氨酸磷酸化而活化,进而激活STAT3分子。此外,生长因子类受体(如EGFR等)本身具有内在的酪氨酸激酶活性,可与其配体结合活化后直接磷酸化STAT3分子,此后STAT单体形成同源或异源二聚体,作为转录因子进入细胞核调控靶基因的转录^[21]。

Shi等^[22]研究发现DHA可以促进Cal-27细胞自噬,增加LC3B-II水平,增加自噬体形成以及Beclin-1水平,并引起DNA双链断裂,增加 γ H2AX焦点和氧化应激,抑制磷酸化的信号转导子和转录激活子3(p-STAT3)的核定位,导致细胞自噬性死亡。Jia等^[23]通过选择性阻断JAK2/STAT3信号,发现DHA对STAT3激活表现出显著特异的抑制作用,表明DHA是一种推定的STAT3抑制剂,靶向JAK2/STAT3信号抑制HNSCC的生长。Yan等^[24]数据表明,DHA与Bcl-2蛋白家族拮抗剂ABT-263协同作用会触发培养物中Bax依赖性NSCLC细胞的凋亡;有效抑制STAT3磷酸化,使STAT3失活,下调Mcl-1和Survivin的表达,增强ABT-263诱导的细胞毒性,从而与ABT-263协同作诱导携带EGFR或RAS突变的NSCLC细胞凋亡。Hu等^[25]发现DHA联用表阿霉素可以有效抑制Bcl-2的活性,促进Beclin1的释放,进一步激活Bax,Bax激活细胞凋亡导致I型程序性乳腺癌细胞死亡,而Beclin1引发过度自噬,导致乳腺癌细胞II型程序性死亡。Thongchot等^[26]发现DHA诱导死亡相关蛋白激酶-1(DAPK1)的表达,降低Beclin1与Bcl-2的相互作用,同时促进它与III型磷脂酰肌醇-3激酶(PI3KC3)的相互作用,治疗胆管癌。

4 Wnt/ β -catenin信号通路

Wnt/ β -catenin通路是经典的Wnt通路,作为细胞间信号转导通路之一,调控细胞增殖、分化、黏附及凋亡等,在胚胎发育过程中发挥重要作用。Wnt信号通路的异常激活可引起细胞异常增殖、分化而导致肿瘤的发生。此外,Wnt信号通路也是诱导肿瘤细胞发生上皮间质转化(EMT)过程的关键通路之一,影响肿瘤的进展和转移。该通路中包含许多信号成员蛋白,其中E钙黏蛋白(E-cadherin)和 β -连环素(β -catenin)是该通路的核心因子,并且是构成上皮细胞间连接复合体的关键分子。E-cadherin表

达下调和 β -catenin表达异位可激活Wnt通路的靶基因,通过降低上皮细胞间的黏附力、增加细胞的增殖及迁移能力,促使上皮细胞发生间质转化^[27]。

Hui等^[28]用Wnt/ β -catenin信号通路激活剂BIO和抗Caspase-3抗体预处理A431细胞,通过PCR检测抗凋亡基因Survivin和促凋亡基因Caspase-3的mRNA水平,发现减少Survivin和增加Caspase-3的表达减少,表明DHA以时间相关性和剂量相关性方式抑制A431细胞的增殖并诱导细胞凋亡。此外,用BIO预处理明显抑制DHA诱导的效应,当使用抗体抑制Caspase-3表达时,DHA诱导的A431细胞的生长抑制被显著抵消,证实DHA通过抑制Wnt/ β -catenin信号传导抑制皮肤癌A431细胞生长。Liu等^[29]发现DHA可以减少 β -catenin的总蛋白水平和转录活性,推测其可能原因是糖原合酶激酶3 β (GSK3 β)的催化活性增加。此外,DHA对OS细胞的抑制作用通过 β -catenin的过表达而逆转,表明DHA可以通过失活Wnt/ β -catenin信号抑制OS细胞的肿瘤生长。Tong等^[30]通过Wnt抑制剂IWP-2和Wnt5a siRNA,发现青蒿素(ART)、DHA和青蒿琥酯(ARTS)可以显著降低Wnt5-a/b的蛋白水平,同时增加NKD2和Axin2的蛋白水平,导致 β -catenin下调。推测其可以部分依赖于Wnt/ β -catenin失活而抑制肿瘤进展。

5 内源性(细胞线粒体凋亡)信号通路

线粒体在物质代谢、氧自由基的生成、细胞凋亡、钙稳态的调节、基因组调控等过程中发挥着重要作用,是真核细胞最复杂的细胞器。线粒体内的凋亡主要是调节Bcl-2蛋白家族和调控活性氧(ROS),Bcl-2家族在调节细胞凋亡的过程中起至关重要的作用,ROS产生过量可以导致DNA链断裂,阻滞细胞周期进行修复,使修复失败的细胞走向凋亡。

Zhang等^[31]研究发现DHA可以上调HeLa细胞中的小窝蛋白1(Cav1)和线粒体载体同系物2(MTCH2)的表达水平,抑制细胞活力;且上调Cav1会促进DHA活化p53和下调氧化还原酶NAD(P)H:醌氧化还原酶1(NQO1),进而诱导细胞凋亡;DHA能够诱导Cav1和p53的核移位和积累,表明一种新的潜在机制,即Cav1对p53活化的调节。实验证实Cav1和MTCH2是DHA的分子靶点,并揭示了上调上游Cav1/MTCH2和下游DHA诱导的细胞细胞凋亡途径的新联系。

Lu等^[32]实验表明DHA会降低线粒体膜电位,激活Caspase-3、Caspase-8和Caspase-9,上调Bax/

Bcl-2 比例,同时使凋亡诱导因子(AIF)转位和释放线粒体细胞色素 C(Cyt C),且自由基清除剂 Ac-DEVD-CHO(*N*-乙酰半胱氨酸或 Caspase-3 抑制剂)抑制 DHA 诱导细胞凋亡的效果显著,证实 DHA 通过 ROS 介导的线粒体相关性途径促使癌细胞凋亡。Poupel 等^[33]研究发现 DHA 会促进细胞内 ROS 的产生、Cyt C 释放和线粒体跨膜电位($\Delta\Psi_m$)的丧失,并下调 Bcl-2 和上调 Bax,表明 DHA 通过线粒体信号传导途径诱导细胞凋亡。Qu 等^[34]结果证明 DHA 通过加速线粒体膜去极化,Cyt C 释放和 Caspase-9 活化诱导胶质母细胞瘤细胞凋亡;通过增加 GRP78、CHOP 和 eIF2 α 的表达以及 Caspase-12 的活化,证实 DHA 参与了内质网应激途径的凋亡,进一步表明 DHA 可以导致 ROS 积累诱导细胞凋亡和自噬。此外,DHA 可通过 ROS 介导的细胞凋亡和改变 Bcl-2/Bax 表达比,增强细胞对 DNA/RNA 合成抑制剂(5-FU)的敏感性,进而起到抗癌作用^[35]。

6 Notch 信号通路

Notch 蛋白是一种跨膜蛋白,分为胞外段、跨膜段、胞内段。Notch 信号是一个在进化过程中高度保守的信号通路,广泛参与器官、组织及细胞的发育分化,调控多细胞机体的细胞凋亡、增殖和分化。Notch 信号通路的主要调控方式是泛素化调节,完整的 Notch 信号通路由 Notch 受体(单链跨膜蛋白,是由胞外域和胞内域两个亚基组成异二聚体 Notch1、Notch2、Notch3 和 Notch4)、Notch 配体(Jagged1、Jagged2、Delta1、Delta3 和 Delta4)、胞内效应分子、DNA 结合蛋白及 Notch 的调节分子等组成。

刘朝霞等^[36]的 PCR 结果显示,DHA 会下调人卵巢癌 Skov3 细胞中 Notch1 mRNA 表达;Western blot 结果显示,DHA 会下调人卵巢癌 Skov3 细胞中 Notch1 蛋白表达,推测 DHA 抑制细胞增殖的作用机制可能是下调 Notch1 信号的传导。皮雳等^[37]研究结果证实 DHA 可以抑制 NICD-1(Notch-1 受体的活化形式)表达,且 NICD-1 及其下游蛋白 Hes1 的表达水平均与 DHA 有浓度相关关系。齐磊等^[38]发现 DHA 可抑制 U-2OS 细胞中 Notch-1 通路的活性;同时下调 Notch-1 的表达,增强 DHA 抗骨肉瘤作用。

7 NF- κ B 信号通路

NF- κ B 是生物体内的一种调节转录的核蛋白因子,主要参与调节机体炎症、胚胎发育、组织损伤和修复等相关的基因表达^[39-40]。NF- κ B 经典激活是由 I κ B 激酶(IKK)介导实现,IKK 的活性受 p-38

MAPK、Akt 等调控。在某些情况下,NF- κ B 的活化另有一条不经 I κ B 磷酸化和降解的途径。

Wei 等^[41]实验表明 DHA 抑制 NF- κ B 转录调控的 ROS 调节剂——铁蛋白重链(FHC)和锰超氧化物歧化酶(MnSOD)的表达,导致 ROS 的积累,诱导细胞自噬过程。证实 DHA 通过阻断核转录 NF- κ B 来激活自噬程序。Li 等^[42]体外实验证实 DHA 可以增强光动力疗法(PDT)诱导的食管癌细胞的生长抑制和凋亡,部分机制是 DHA 抑制 PDT 诱导的 NF- κ B 活化,降低其靶基因 Bcl-2 的异常表达。

8 其他通路

王爱军等^[43]研究表明 DHA 可以减少促血管生成因子 VCAM-1、COX-2、VEGF-C 基因表达,促进抑癌基因 PTEN 表达,抑制癌细胞生长。Li 等^[44]发现 5 种 DHA 调节的 microRNA 和 11 种靶 mRNA 通过 19 种 microRNA-mRNA 相互作用抑制细胞增殖和血管生成,促进细胞凋亡,其中 4 个 microRNAs、9 个 mRNAs 和 17 个 microRNA-mRNA 相互作用均已通过实验验证。Chen 等^[45]用 DHA 会增加癌细胞中的应激调节蛋白 p8,进而上调内质网应激相关蛋白 ATF4 和 CHOP 诱导自噬;通过 siRNA 抑制 p8 时,DHA 诱导的细胞凋亡显著增加,但 p8 的过表达会导致对 DHA 诱导的凋亡的抗性,表明 p8 介导的自噬会减弱 DHA 诱导的癌细胞凋亡,证实可以将 p8 用作癌症治疗的靶标。Hu 等^[46]研究表明 DHA 可以上调 Raf 激酶抑制蛋白(RKIP)的表达且下调 Bcl-2 的表达,抑制宫颈癌生长。

Zhou 等^[47]发现 DHA 可以激活 Cl⁻通道,并特异性促进 CNE-2Z 细胞中 CLC-3 氯通道蛋白表达,导致细胞早期的 Cl⁻外排和凋亡体积减少(AVD),进而累积 Ca²⁺及激活 Caspase-3,诱导细胞凋亡。Liu 等^[48]发现 DHA 能够抑制 purmorphamine(Hh 信号通路激动剂)和增强 GANT61(hedgehog 信号通路抑制剂)诱导的细胞增殖、迁移、侵袭,诱导上皮卵巢癌细胞凋亡。Gong 等^[49]用正常组比较 DHA 处理组,发现 LMP2A 的 mRNA 和蛋白水平显著下调,表明 DHA 通过下调 LMP2A 抑制 EBV 相关性胃癌(Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma, EBVaGC)GT-38 细胞系的生长并诱导凋亡。

9 展望

青蒿素是我国第一个真正意义上走向世界的中药,在治疗疟疾方面取得卓越成效,引起世界广泛关注。DHA 作为青蒿素的重要衍生物,具有多种药理活性,是人们研究的热点。在 DHA 的药理作用

中,其治疗疟疾和红斑狼疮的效果显著,同时其抗癌作用备受关注。实验研究已经确定DHA可以诱导多种癌细胞凋亡,近些年许多国内学者外对其抗癌活性及机制进行大量研究,但其机制复杂,涉及到多条相关信号传导途径、多种凋亡调控基因及蛋白酶表达,未完全明确。在今后的研究中,需进一步明确DHA的药理活性机制,探索DHA的新适应症,将使其在临床更广泛应用,以造福人类。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2015.
- [2] Mott B T, Tripathi A, Siegler M A, et al. Synthesis and antimalarial efficacy of two-carbon-linked artemisinin-derived trioxane dimers in combination with known antimalarial drugs [J]. J Med Chem, 2013, 56(6): 2630-2641
- [3] Chaudhary S, Naikade N K, Tiwari M K, et al. New orally active diphenylmethyl-based ester analogues of dihydroartemisinin: Synthesis and antimalarial assessment against multidrug-resistant *Plasmodium yoelii nigeriensis* in mice [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2016, 26(6): 1536-1541.
- [4] 袁亚男, 姜廷良, 周兴, 等. 青蒿素的发现和发展 [J]. 科学通报, 2017(18): 1914-1927.
- [5] 李建, 周怀君. PI3K/Akt信号通路在肿瘤研究中的进展 [J]. 东南大学学报(医学版), 2014(3): 392-395.
- [6] Li X, Qian B, Liu Y, et al. Dihydroartemisinin selectively inhibits PDGFR α - positive ovarian cancer growth and metastasis through inducing degradation of PDGFR α protein [J]. Cell Discov, 2017, 3: 17042.
- [7] 唐溧, 罗子国, 朱庆茂, 等. 双氢青蒿素对前列腺癌PC-3细胞中UCHL1基因表达的调控机制研究 [J]. 肿瘤, 2014, 34(12): 1082-1089.
- [8] 高小玲, 李庆春, 罗子国. 双氢青蒿素干扰前列腺癌PC-3细胞体外生长的研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(24): 2074-2077.
- [9] Odaka Y, Xu B, Luo Y, et al. Dihydroartemisinin inhibits the mammalian target of rapamycin-mediated signaling pathways in tumor cells [J]. Carcinogenesis, 2014, 35(1): 192-200.
- [10] Chen J, Chen X, Wang F, et al. Dihydroartemisinin suppresses glioma proliferation and invasion via inhibition of the ADAM17 pathway [J]. Neurol Sci, 2015, 36(3): 435-440.
- [11] Javelaud D, Mauviel A. Crosstalk mechanisms between the mitogen-activated protein kinase pathways and Smad signaling downstream of TGF- β : implications for carcinogenesis [J]. Oncogene, 2005, 24(37): 5742.
- [12] Akasaka E, Takekoshi S, Horikoshi Y, et al. Protein oxidative damage and heme oxygenase in sunlight-exposed human skin: roles of MAPK responses to oxidative stress [J]. Tokai J Exp Clin Med, 2010, 35(4): 152-164.
- [13] Dong F, Tian H, Yan S, et al. Dihydroartemisinin inhibits endothelial cell proliferation through the suppression of the ERK signaling pathway [J]. Int J Mol Med, 2015, 35(5): 1381-1387.
- [14] Chris Z Z, Pan Y H, George G C, et al. Histone deacetylase inhibitors facilitate dihydroartemisinin-induced apoptosis in liver cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. Plos One, 2012, 7(6): e39870.
- [15] Wang J, Guo Y, Zhang B C, et al. Induction of apoptosis and inhibition of cell migration and tube-like formation by dihydroartemisinin in murine lymphatic endothelial cells [J]. Pharmacology, 2007, 80(2): 207-218.
- [16] Zhang J, Guo L, Zhou X, et al. Dihydroartemisinin induces endothelial cell anoikis through the activation of the JNK signaling pathway [J]. Oncol Lett, 2016, 12(3): 1896-1900.
- [17] Wang Y, Xu X, Wu X, et al. Dihydroartemisinin treatment of multiple myeloma cells causes activation of c-Jun leading to cell apoptosis [J]. Oncol Lett, 2018, 15(2): 2562.
- [18] Zhang S Y, Shi L, Ma H W, et al. Dihydroartemisinin induces apoptosis in human gastric cancer cell line BGC-823 through activation of JNK1 / 2 and p38 MAPK signaling pathways [J]. J Rec Sign Transd Res, 2017, 37(2): 174-180.
- [19] Im E, Yeo C, Lee H J, et al. Dihydroartemisinin induced caspase-dependent apoptosis through inhibiting the specificity protein 1 pathway in hepatocellular carcinoma SK-Hep-1 cells [J]. Life Sci, 2018, 192: 286-292.
- [20] Karni S, David E L. Malignant transformation but not normal cell growth depend on STAT3 [J]. Cancer Res, 2005, 65(13): 5828-5834.
- [21] Lütticken C, Wegenka U M, Yuan J, et al. Association of Transcription Factor APRF and Protein Kinase Jak1 with the Interleukin-6 Signal Transducer gp130 [J]. Science, 1994, 263(5143): 89-92.
- [22] Shi X, Wang L, Li X, et al. Dihydroartemisinin induces autophagy-dependent death in human tongue squamous cell carcinoma cells through DNA double-strand break-mediated oxidative stress [J]. Oncotarget, 2017, 8(28): 45981-45993.
- [23] Jia L, Song Q, Zhou C, et al. Dihydroartemisinin as a putative STAT3 inhibitor, suppresses the growth of head and neck squamous cell carcinoma by targeting Jak2 / STAT3 signaling [J]. Plos One, 2016, 11(1): e0147157.
- [24] Yan X, Li P, Zhan Y, et al. Dihydroartemisinin suppresses STAT3 signaling and Mcl-1 and Survivin expression to potentiate ABT-263-induced apoptosis in Non-small Cell Lung Cancer cells harboring EGFR or RAS mutation [J]. Biochem Pharmacol, 2018, 150: 72-85.

- [25] Hu Y J, Zhang J Y, Luo Q, et al. Nanostructured dihydroartemisinin plus epirubicin liposomes enhance treatment efficacy of breast cancer by inducing autophagy and apoptosis [J]. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 2018, 10(8): 804.
- [26] Thongchot S, Vidoni C, Ferraresi A, et al. Dihydroartemisinin induces apoptosis and autophagy-dependent cell death in cholangiocarcinoma through a DAPK1-BECLIN1 pathway [J]. *Mol Carcinogen*, 2018, 57(12): 1735-1750.
- [27] 乔迪, 宋静慧. Wnt/ β -catenin 信号通路激活与宫颈病变研究新进展 [J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2016, 35(6): 510-514.
- [28] Hui H Y, Wu N, Wu M, et al. Dihydroartemisinin suppresses growth of squamous cell carcinoma A431 cells by targeting the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Anti-Cancer Drugs*, 2016, 27(2): 99-105.
- [29] Liu Y, Wang W, Xu J, et al. Dihydroartemisinin inhibits tumor growth of human osteosarcoma cells by suppressing Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(4): 1723-1730.
- [30] Tong Y, Liu Y, Zheng H, et al. Artemisinin and its derivatives can significantly inhibit lung tumorigenesis and tumor metastasis through Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(21): 31413-31428.
- [31] Zhang T, Hu Y, Wang T, et al. Dihydroartemisinin inhibits the viability of cervical cancer cells by upregulating caveolin 1 and mitochondrial carrier homolog 2: Involvement of p53 activation and NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 downregulation [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(1): 21-30.
- [32] Lu M, Sun L, Zhou J, et al. Dihydroartemisinin induces apoptosis in colorectal cancer cells through the mitochondria-dependent pathway [J]. *Tum Biol*, 2014, 35(6): 5307-5314.
- [33] Aghaei M, Poupel F, Movahedian A, et al. Dihydroartemisinin induces apoptosis in human bladder cancer cell lines through reactive oxygen species, mitochondrial membrane potential, and cytochrome C pathway [J]. *Int J Prev Med*, 2017, 8(1): 78.
- [34] Qu C B, Ma J, Liu X B, et al. Dihydroartemisinin exerts anti-tumor activity by inducing mitochondrion and endoplasmic reticulum apoptosis and autophagic cell death in human glioblastoma cells [J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11: 310.
- [35] Yao Z, Bhandari A, Wang Y, et al. Dihydroartemisinin potentiates antitumor activity of 5-fluorouracil against a resistant colorectal cancer cell line [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501(3): 636-642.
- [36] 刘朝霞, 王丹, 丁娇, 等. 双氢青蒿素下调 Notch1 蛋白表达对人卵巢癌 Skov3 细胞抑制作用的研究 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2014(2): 215-218.
- [37] 皮雳, 徐忠烨, 程远. 双氢青蒿素通过下调 NICD-1 抑制胶质瘤生长 [J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39(14): 1445-1451.
- [38] 齐磊, 段永刚, 丁英奇, 等. Notch-1 下调对双氢青蒿素抗人骨肉瘤细胞株 U-2OS 存活率的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2015, 31(12): 2120-2125.
- [39] Baker R G, Hayden M S, Ghosh S, et al. NF- κ B, inflammation, and metabolic disease [J]. *Cell Metabolism*, 2011, 13(1): 11-22.
- [40] Varfolomeev E, Goncharov T, Maecker H, et al. Cellular inhibitors of apoptosis are global regulators of NF- κ B and MAPK activation by members of the TNF family of receptors [J]. *Sci Signal*, 2012, 5(216): ra22-ra22.
- [41] Wei H, Sang-Sang C, Jia-Li Z, et al. Dihydroartemisinin induces autophagy by suppressing NF- κ B activation [J]. *Cancer Lett*, 2014, 343(2): 239.
- [42] Li Y J, Zhou J H, Du X X, et al. Dihydroartemisinin accentuates the anti-tumor effects of photodynamic therapy via inactivation of NF- κ B in Eca109 and Ec9706 esophageal cancer cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 33(5): 1527-1536.
- [43] 王爱军, 施华, 郑宝军, 等. 二氢青蒿素对胃癌细胞血管生成及相关基因表达的影响 [J]. *中国肿瘤临床*, 2014, 41(4): 227-230.
- [44] Li Y, Wang Y, Kong R, et al. Dihydroartemisinin suppresses pancreatic cancer cells via a microRNA-mRNA regulatory network [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(38): 62460-62473.
- [45] Chen S S, Hu W, Wang Z, et al. p8 attenuates the apoptosis induced by dihydroartemisinin in cancer cells through promoting autophagy [J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16(5): 770-779.
- [46] Hu C J, Zhou L, Cai Y. Dihydroartemisinin induces apoptosis of cervical cancer cells via upregulation of RKIP and downregulation of bcl-2 [J]. *Cancer Biol Ther*, 2014, 15(3): 279-288.
- [47] Zhou C, Tang X, Xu J, et al. Opening of the CLC-3 chloride channel induced by dihydroartemisinin contributed to early apoptotic events in human poorly differentiated nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(11): 9560-9572.
- [48] Liu Y, Gao S, Zhu J, et al. Dihydroartemisinin induces apoptosis and inhibits proliferation, migration, and invasion in epithelial ovarian cancer via inhibition of the hedgehog signaling pathway [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(11): 5704-5715.
- [49] Gong W, Zhang L, Yu H, et al. Dihydroartemisinin suppresses the proliferation of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma cells via downregulation of latent membrane protein 2A [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(2): 2613-2619.