

分类号：  
学 号：20222114191

密 级：公开  
单位代码：10759

# 石河子大学

## 硕 士 学 位 论 文



### 白藜芦醇通过 DHODH 介导的铁死亡对胰腺癌 细胞顺铂敏感性影响的研究

学 位 申 请 人	郑艳霞
指 导 教 师	丁玉松 贾怀妙
申 请 学 位 类 别	专业硕士
专 业 名 称	公共卫生
研 究 领 域	营养与食品卫生学
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子  
2025 年 5 月

分类号：  
学号：20222114191

密级：公开  
单位代码：10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### 白藜芦醇通过 DHODH 介导的铁死亡对胰腺癌 细胞顺铂敏感性影响的研究

学位申请人	郑艳霞
指导教师	丁玉松 贾怀妙
申请学位类别	专业硕士
专业名称	公共卫生
研究领域	营养与食品卫生学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子  
2025年5月

**Study on the Effect of Resveratrol on Cisplatin Sensitivity in  
Pancreatic Cancer Cells through DHODH-Mediated Ferroptosis**

A Dissertation Submitted to

**Shihezi University**

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

**Master of Public health**

**By**

Zheng Yanxia

**(Public Health)**

Dissertation Supervisor: Prof. Ding Yusong  
Jia Huaimiao

May, 2025

## 石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

### 学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：郑艳霞

时间：2025年5月21日

### 使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：郑艳霞

时间：2025年5月21日

导师签名：丁玉松

时间：2025年5月21日

## 中文摘要

目的:

胰腺癌 (Pancreatic Cancer, PC) 是一种高度恶性的消化道肿瘤, 其治疗面临严峻挑战。顺铂 (Cisplatin, DDP) 是 PC 的一线化疗药物, 其疗效受到细胞耐药性的限制。铁死亡 (Ferroptosis) 作为一种新型细胞程序性死亡方式, 在癌症治疗领域备受关注。二氢乳清酸脱氢酶 (Dihydroorotate dehydrogenase, DHODH) 被确定为一种新的铁死亡防御分子, 是癌症治疗的重要靶点。白藜芦醇 (Resveratrol, RSV) 是一种天然的多酚化合物, 具有显著的抗肿瘤活性。本研究旨在探讨 RSV 通过调控 DHODH 的表达对 PC 细胞铁死亡的影响, 并评估其对 DDP 化疗敏感性的调节作用, 从而为 PC 的临床治疗提供新的理论依据和潜在治疗策略。

方法:

使用不同剂量的 DDP 处理人胰腺癌细胞系 (PANC1) 和人原位胰腺腺癌细胞系 (BxPC-3); 使用铁死亡抑制剂 (Ferrostatin-1, Fer-1) 处理细胞; 使用 GEPIA 分析胰腺癌 (PAAD) 数据集, 筛选介导铁死亡的关键蛋白 DHODH, DDP 与 Fer-1 单独或联合处理细胞; 使用布喹那 (Brequinar, BQR) 和 RSV 对细胞进行干预; 过表达 DHODH 蛋白, 与 DDP、RSV 共同干预细胞。通过细胞计数试剂盒 (Cell Counting Kit-8 assay, CCK-8) 测定细胞活力; western blot 检测细胞中谷胱甘肽过氧化物酶 4 (Glutathione Peroxidase 4, GPX4)、溶质载体家族 7 成员 11 (Recombinant Solute Carrier Family 7 Member 11, SLC7A11/xCT) 和 DHODH 的蛋白表达水平; 通过分光光度法测定细胞内丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量, 评估脂质过氧化程度; DCFH-DA 探针检测细胞内活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 的水平, 进一步了解氧化应激的变化; JC-1 荧光探针检测细胞线粒体膜电位 (Mitochondrial Membrane Potential, MMP) 的变化; 免疫荧光法检测细胞增殖标志物 Ki67 的水平, 评估细胞增殖的变化; 划痕实验检测细胞迁移能力的变化。

结果:

1. DDP 对 PANC1、BxPC-3 细胞铁死亡的影响: 与对照组相比, DDP 处理之后, PANC1、BxPC-3 细胞活力显著下降 ( $P < 0.05$ ), 铁死亡关键蛋白 GPX4、xCT 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ), 氧化损伤加剧, ROS 荧光强度、MDA 含量升高 ( $P < 0.05$ ), 细胞 MMP 降低 ( $P < 0.05$ ), 细胞增殖能力下降, Ki67 荧光强度降低 ( $P < 0.05$ )。

Fer-1 处理后, 与 DDP 组相比, Fer-1+DDP 组细胞活力升高 ( $P < 0.05$ ), GPX4、xCT 蛋白表达水平升高 ( $P < 0.05$ ), 细胞中 ROS 积累减少 ( $P < 0.05$ ), MDA 含量降低 ( $P < 0.05$ ), 细胞 MMP 升高 ( $P < 0.05$ ), Ki67 荧光强度增强 ( $P < 0.05$ )。

2. BQR 对 DDP 诱导的 PANC1、BxPC-3 细胞铁死亡的影响: BQR 干预后, 与 DDP 组相比, BQR+DDP 组细胞活力下降 ( $P < 0.05$ ), GPX4、xCT、DHODH 蛋白水平表达下降 ( $P < 0.05$ ), 细胞中 ROS 水平升高 ( $P < 0.05$ ), MDA 含量升高 ( $P < 0.05$ ), 细胞 MMP 降低 ( $P < 0.05$ ), Ki67 荧光强度降低 ( $P < 0.05$ ), 细胞迁移能力下降, 划痕愈合率降低 ( $P < 0.05$ )。

3. RSV 对 DDP 诱导的 PANC1、BxPC-3 细胞铁死亡的影响: RSV 干预后, 与 DDP 组相比,

RSV+DDP 组细胞活力下降 ( $P < 0.05$ ), GPX4、xCT、DHODH 蛋白表达下降 ( $P < 0.05$ ), 细胞中 ROS 积累增多 ( $P < 0.05$ ), MDA 含量升高 ( $P < 0.05$ ), 细胞 MMP 降低 ( $P < 0.05$ ), Ki67 荧光强度降低 ( $P < 0.05$ ), 细胞迁移能力下降, 划痕愈合率降低 ( $P < 0.05$ )。

4. DHODH 过表达对 DDP 诱导的 PANC1、BxPC-3 细胞铁死亡的影响: CCK-8 结果显示, 与 Ad-null+DDP+RSV 组相比, Ad-DHODH+DDP+RSV 组细胞活力上升 ( $P < 0.05$ ), western blot 结果显示, Ad-DHODH+DDP+RSV 组 GPX4、xCT、DHODH 蛋白表达上升 ( $P < 0.05$ ), MMP 检测结果显示, Ad-DHODH+DDP+RSV 组细胞 MMP 升高 ( $P < 0.05$ ), Ki67 免疫荧光结果显示, Ad-DHODH+DDP+RSV 组 Ki67 荧光强度升高 ( $P < 0.05$ ), 细胞增殖能力增强, 划痕实验结果显示, Ad-DHODH+DDP+RSV 组细胞迁移能力增强 ( $P < 0.05$ )。

结论:

DDP 可能通过 DHODH 介导的铁死亡抑制 PANC1、BxPC-3 细胞增殖。抑制 DHODH 诱导 PANC1、BxPC-3 细胞发生铁死亡, 且增强 DDP 敏感性。RSV 可能通过抑制 DHODH 活性促进 DDP 的抗癌效果。

**关键词:** DHODH; 胰腺癌; 顺铂; 铁死亡; 白藜芦醇

## Abstract

### Objective:

Pancreatic cancer (PC) represents a highly aggressive malignancy of the digestive system, posing significant therapeutic challenges. Cisplatin (DDP), a first-line chemotherapeutic agent for PC, demonstrates limited clinical efficacy due to inherent cellular resistance. Ferroptosis, a novel form of regulated cell death, has emerged as a promising therapeutic target in oncology. Recent studies have identified dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) as a key regulator of ferroptosis defense, establishing it as a potential therapeutic target. Resveratrol (RSV), a naturally occurring polyphenolic compound, exhibits potent antitumor properties. This investigation aims to elucidate the impact of RSV-mediated DHODH modulation on ferroptosis in PC cells and evaluate its ability to enhance DDP chemosensitivity, thereby providing novel mechanistic insights and potential therapeutic strategies for clinical PC management.

### Methods:

Human pancreatic cancer cell line PANC1 and primary pancreatic adenocarcinoma cell line BxPC-3 were treated with varying concentrations of DDP. Cells were also treated with the ferroptosis inhibitor Ferrostatin-1 (Fer-1). The GEPIA database was utilized to analyze the pancreatic adenocarcinoma (PAAD) dataset, identifying DHODH as a key protein mediating ferroptosis. Cells were treated with DDP and Fer-1 individually or in combination. Interventions were performed using Brequinar (BQR) and Resveratrol (RSV). DHODH protein was overexpressed, and cells were co-treated with DDP and RSV. Cell viability was assessed using the Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay. Western blot was employed to measure the protein expression levels of Glutathione Peroxidase 4 (GPX4), Solute Carrier Family 7 Member 11 (SLC7A11/xCT), and DHODH. Malondialdehyde (MDA) content was quantified spectrophotometrically to evaluate lipid peroxidation. Intracellular reactive oxygen species (ROS) levels were detected using the DCFH-DA probe to assess oxidative stress. Changes in mitochondrial membrane potential (MMP) were monitored using the JC-1 fluorescent probe. Immunofluorescence was used to detect the expression of the cell proliferation marker Ki67, evaluating changes in cell proliferation. A wound-healing assay was conducted to assess alterations in cell migration ability.

### Results:

1. Effect of DDP on ferroptosis in PANC1 and BxPC-3 cells: Compared with the control group, the viability of PANC1 and BxPC-3 cells decreased significantly after DDP treatment ( $P < 0.05$ ), the levels of key ferroptosis proteins GPX4 and xCT were decreased ( $P < 0.05$ ), Oxidative damage was exacerbated, as indicated by increased ROS fluorescence intensity and elevated MDA levels ( $P < 0.05$ ). Mitochondrial membrane potential (MMP) decreased ( $P < 0.05$ ), and cell proliferation capacity declined, evidenced by reduced Ki67 fluorescence intensity ( $P < 0.05$ ).

After Fer-1 intervention, compared with the DDP group, the Fer-1+DDP group exhibited increased cell

viability ( $P < 0.05$ ), elevated expression of GPX4 and xCT proteins ( $P < 0.05$ ), reduced ROS accumulation ( $P < 0.05$ ), decreased MDA content ( $P < 0.05$ ), restored MMP ( $P < 0.05$ ), and enhanced Ki67 fluorescence intensity ( $P < 0.05$ ).

2. Effect of BQR on DDP-induced ferroptosis in PANC1 and BxPC-3 cells: After BQR intervention, compared to the DDP group, the BQR+DDP group showed decreased cell viability ( $P < 0.05$ ), downregulated expression of GPX4, xCT, and DHODH proteins ( $P < 0.05$ ), increased ROS levels ( $P < 0.05$ ), elevated MDA content ( $P < 0.05$ ), reduced MMP ( $P < 0.05$ ), diminished Ki67 fluorescence intensity ( $P < 0.05$ ), and impaired cell migration ability, as indicated by reduced wound healing rate ( $P < 0.05$ ).

3. Effect of RSV on DDP-induced ferroptosis in PANC1 and BxPC-3 cells: After RSV intervention, compared to the DDP group, the RSV+DDP treatment group exhibited decreased cell viability ( $P < 0.05$ ), downregulated expression of GPX4, xCT, and DHODH proteins ( $P < 0.05$ ), increased ROS accumulation ( $P < 0.05$ ), elevated MDA content ( $P < 0.05$ ), reduced MMP ( $P < 0.05$ ), diminished Ki67 fluorescence intensity ( $P < 0.05$ ), and impaired cell migration ability, as indicated by reduced wound healing rate ( $P < 0.05$ ).

4. Effect of DHODH overexpression on DDP-induced ferroptosis in PANC1 and BxPC-3 cells: CCK-8 results showed that, compared with the Ad-null+DDP+RSV group, the cell viability of the Ad-DHODH+DDP+RSV group increased ( $P < 0.05$ ), western blot results showed that the protein expression of GPX4, xCT, and DHODH in the Ad-DHODH+DDP+RSV group increased ( $P < 0.05$ ), MMP detection results showed that the mitochondrial membrane potential (MMP) in the Ad-DHODH+DDP+RSV group increased ( $P < 0.05$ ), Ki67 immunofluorescence results showed that the fluorescence intensity of Ki67 in the Ad-DHODH+DDP+RSV group increased ( $P < 0.05$ ), indicating enhanced cell proliferation ability, scratch assay results showed that the cell migration ability of the Ad-DHODH+DDP+RSV group increased ( $P < 0.05$ ).

Conclusion:

DDP may inhibit the proliferation of PANC1 and BxPC-3 cells through DHODH-mediated ferroptosis. Suppression of DHODH induces ferroptosis in PANC1 and BxPC-3 cells and enhances their sensitivity to DDP. RSV may potentiate the anticancer effects of DDP by inhibiting DHODH activity.

**Key words:** DHODH; Pancreatic Cancer; DDP; Ferroptosis; Resveratrol

# 目录

中文摘要.....	I
<b>Abstract</b> .....	<b>III</b>
主要英文缩略词.....	VIII
第 1 章 前言.....	1
第 2 章 材料与方法.....	5
2.1 材料.....	5
2.1.1 实验对象.....	5
2.1.2 主要仪器及试剂.....	5
2.2 方法.....	8
2.2.1 细胞培养.....	8
2.2.2 细胞活性检测.....	10
2.2.3 MDA 含量检测.....	10
2.2.4 ROS 检测.....	10
2.2.5 MMP 检测.....	10
2.2.6 Ki67 免疫荧光检测.....	11
2.2.7 划痕实验.....	11
2.2.8 生信分析.....	11
2.2.9 western blot.....	11
2.2.10 统计分析.....	14
2.3 技术路线.....	15
第 3 章 结果.....	16
3.1 DDP 对 PANC1、BxPC-3 细胞的影响.....	16
3.1.1 DDP 对 PANC1、BxPC-3 细胞活力的影响.....	16
3.1.2 DDP 对 PANC1、BxPC-3 细胞铁死亡关键蛋白表达的影响.....	16
3.1.3 DDP 对 PANC1、BxPC-3 细胞氧化损伤的影响.....	17
3.1.4 DDP 对 PANC1、BxPC-3 细胞线粒体膜电位的影响.....	18
3.1.5 DDP 对 PANC1、BxPC-3 细胞增殖能力的影响.....	19
3.2 Fer-1 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞的影响.....	20
3.2.1 Fer-1 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞活力的影响.....	20
3.2.2 Fer-1 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞铁死亡关键蛋白表达的影响.....	21
3.2.3 Fer-1 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞氧化损伤的影响.....	22

3.2.4	Fer-1 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞线粒体膜电位的影响 .....	23
3.2.5	Fer-1 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞增殖能力的影响 .....	24
3.3	DDP 与 Fer-1 对 PANC1、BxPC-3 细胞中 DHODH 表达的影响 .....	25
3.3.1	DHODH 在胰腺癌中高表达 .....	25
3.3.2	不同剂量 DDP 对 PANC1、BxPC-3 细胞 DHODH 表达的影响 .....	26
3.3.3	Fer-1 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞中 DHODH 表达的影响 .....	27
3.4	BQR 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞的影响 .....	27
3.4.1	BQR 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞活力的影响 .....	27
3.4.2	BQR 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞铁死亡关键蛋白表达的影响 .....	28
3.4.3	BQR 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞氧化损伤的影响 .....	29
3.4.4	BQR 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞线粒体膜电位的影响 .....	30
3.4.5	BQR 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞增殖能力的影响 .....	31
3.4.6	BQR 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞迁移能力的影响 .....	32
3.5	RSV 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞的影响 .....	33
3.5.1	不同浓度 RSV 对 PANC1、BxPC-3 细胞活力的影响 .....	33
3.5.2	RSV 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞活力的影响 .....	34
3.5.3	RSV 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞铁死亡关键蛋白表达的影响 .....	34
3.5.4	RSV 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞氧化损伤的影响 .....	35
3.5.5	RSV 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞线粒体膜电位的影响 .....	36
3.5.6	RSV 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞增殖能力的影响 .....	37
3.5.7	RSV 与 DDP 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞迁移能力的影响 .....	38
3.6	过表达 DHODH 与 DDP+RSV 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞的影响 .....	39
3.6.1	过表达 DHODH 与 DDP+RSV 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞活力的影响 .....	39
3.6.2	过表达 DHODH 与 DDP+RSV 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞铁死亡关键蛋白表达的影响 .....	40
3.6.3	过表达 DHODH 与 DDP+RSV 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞线粒体膜电位的影响 .....	41
3.6.4	过表达 DHODH 与 DDP+RSV 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞增殖能力的影响 .....	41
3.6.5	过表达 DHODH 与 DDP+RSV 联用对 PANC1、BxPC-3 细胞迁移能力的影响 .....	42
第 4 章	讨论 .....	44
4.1	铁死亡在顺铂致胰腺癌细胞死亡中的作用 .....	44

4.2 DHODH 是胰腺癌治疗中的重要靶点 .....	46
4.3 RSV 增强顺铂诱导的胰腺癌细胞铁死亡 .....	48
第 5 章 结论.....	49
第 6 章 局限性及展望.....	50
第 7 章 文献综述.....	51
7.1 前言 .....	51
7.2 铁死亡 .....	52
7.2.1 System Xc <sup>-</sup> -GSH-GPX4 轴.....	52
7.2.2 FSP1-CoQH <sub>2</sub> 轴 .....	52
7.2.3 GCH1-BH <sub>4</sub> -DHFR 轴.....	53
7.2.4 DHODH-CoQH <sub>2</sub> 轴.....	53
7.3 胰腺癌进展中的铁死亡 .....	53
7.4 胰腺癌防治中的铁死亡 .....	54
7.5 胰腺癌耐药中的铁死亡 .....	55
7.6 总结和展望 .....	55
参考文献.....	57
致谢.....	68
作者简介 .....	69
导师评阅表.....	70

## 主要英文缩略词

缩写	英文全称	中文全称
Acr	Acrylamide-Bis-acrylamide	丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺
AP	Ammonium persulphate	过硫酸铵
BQR	Brequinar	布喹那
CCK-8	Cell Counting Kit-8	细胞活性检测
DCFH-DA	2', 7'-dichlorofluorescein diacetate	2', 7'-二氯荧光素二乙酸酯
DMEM	Dulbecco's modified eagle's medium	改良型 Eagle 培养基
DDP	Cisplatin	顺铂
DHODH	Dihydroorotatede hydrogenase	二氢乳清酸脱氢酶
Fer-1	Ferostatin-1	铁抑制素-1
FBS	Fetal bovine serum	胎牛血清
GPX4	Glutathione peroxidase 4	谷胱甘肽过氧化物酶 4
MDA	Malondialdehyde	丙二醛
MMP	Mitochondrial membrane potential	线粒体膜电位
PC	Pancreatic Cancer	胰腺癌
PBS	Phosphate buffer saline	磷酸缓冲盐溶液
PMSF	Phenyl methane sulfonyl fluoride	苯甲基磺酰氟
PVDF	Polyvinylidene fluoride	聚偏二氟乙烯膜
RAS	RAS-selective lethal	RAS 选择性致死
RIPA	Radioimmunoprecipitation Assay buffer	放射免疫沉淀法缓冲液
ROS	Reactive oxygen species	活性氧
RSV	Resveratrol	白藜芦醇
SDS	Sodium dodecyl sulfonate	十二烷基磺酸钠
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis	聚丙烯酰胺凝胶电泳
SLC7A11	Recombinant Solute Carrier Family 7, Member 11	溶质载体家族 7 成员 11
TBST	Tris Buffer Solution Tween20	Tris 缓冲盐溶液 Tween20
TEMED	N, N, N', N'-tetramethylethylenediamine	四甲基乙二胺

## 第 1 章 前言

胰腺（Pancreas），一个约14-25厘米长、呈海绵状的管状器官，位于上腹部，在胃和脊柱之间<sup>[1]</sup>。正常健康胰腺由多种不同类型的细胞构成，包括腺泡细胞、导管细胞、中心腺泡细胞、内分泌岛细胞，以及星状细胞<sup>[2]</sup>。当胰腺细胞的DNA发生异常突变时，细胞生长分裂的调控机制出现严重失调，进而异常增殖形成肿瘤，最终发展成胰腺癌（Pancreatic Cancer, PC）<sup>[3]</sup>。胰腺癌是最具侵袭性和致命性的恶性肿瘤之一<sup>[4]</sup>。其中，胰腺导管腺癌（Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, PDAC）占有胰腺癌的90%以上，主要由Kirsten大鼠肉瘤病毒（KRAS）癌基因驱动<sup>[5]</sup>。预计到2030年，PDAC将成为癌症相关死亡的第二大原因<sup>[6]</sup>。近年来胰腺癌的发病率持续上升，据统计，在全球范围内，预计到2050年，发病率将增至18.6/10万，年均增长1.1%，然而该病总体平均5年生存率仅为9%<sup>[7,8]</sup>。在中国，胰腺癌的5年相对生存率为7.2%，是所有癌症中生存率最低的水平<sup>[9]</sup>。据GLOBOCAN 2020 数据库显示，胰腺癌的死亡人数与确诊病例数几乎持平，使其成为两性癌症死亡的第七大原因<sup>[10]</sup>。这些数据表明胰腺癌的发病率和死亡人数正在逐渐增加，并且将在全球范围内构成巨大的公共卫生负担。此外，因胰腺特殊的解剖位置和胰腺癌早期症状的隐匿性，导致多数患者在确诊时已处于晚期，丧失了最佳的手术切除机会。即使进行手术，由于肿瘤的浸润和转移，术后复发率仍然较高。因此，化疗仍然是胰腺癌的一线治疗方法，但标准化疗的生存获益仍然非常有限，患者的中位生存期不到6个月<sup>[11]</sup>。研究表明<sup>[12]</sup>，某些胰腺癌基因突变亚型对顺铂（Cisplatin, DDP）等铂类药物表现出较高的敏感性<sup>[13, 14]</sup>，目前一些临床试验正在尝试将顺铂纳入胰腺癌联合化疗方案，以期提升治疗效果和安全性。顺铂具有疗效高、广谱等优点，然而，顺铂耐药导致化疗效果不佳，预后不良，这也将是胰腺癌生存率进一步降低的重要原因之一。综上所述，寻找更加行之有效的增加顺铂敏感性从而延长胰腺癌患者生存期的方法迫在眉睫。

化疗药物主要通过诱导细胞凋亡来抑制肿瘤细胞增殖，然而由于肿瘤细胞的独特特性，诱导凋亡的效果往往有限，肿瘤细胞表现出对细胞凋亡的免疫，这会导致治疗耐药和复发<sup>[15]</sup>。因此，研究非凋亡性的细胞死亡方式为开发新型抗癌方案提供了新的思路。顺铂诱导的细胞毒性涉及多种机制，包括干扰糖酵解过程、导致线粒体功能障碍，以及促进活性氧（Reactive Oxygen Species, ROS）的积累<sup>[16]</sup>。目前有研究<sup>[17, 18]</sup>表明，顺铂可引起癌细胞的 ROS 增加，谷胱甘肽（Glutathione, GSH）耗竭和谷胱甘肽过氧化物酶 4（Glutathione peroxidase 4, GPX4）失活。Zhang 等人的研究结果表明<sup>[19]</sup>，如果抑制癌细胞 GPX4 活性，可以增强顺铂的抗癌作用。在顺铂耐药的子宫内膜癌细

胞中, ROS 与丙二醛 (Malon dialdehyde, MDA) 升高<sup>[20]</sup>。另外, 双氢青蒿素 (DHA) 与顺铂协同使 PDAC 细胞更容易受到铁死亡 (Ferroptosis) 的影响<sup>[21]</sup>。上述研究结果均表明可以开发基于铁死亡的联合化疗来增强治疗效果与顺铂细胞敏感性。

作为一种新型的细胞程序性死亡方式, 铁死亡最初是在肿瘤细胞暴露于一种名为 erastin 的小分子化学探针后发现的, 被描述为 RAS 依赖性细胞死亡<sup>[22]</sup>。与其他细胞死亡方式不同, 铁死亡的典型形态学特征为线粒体体积缩小、线粒体外膜断裂、嵴减少或缺失、细胞核保持正常大小且无核浓缩<sup>[23]</sup>。此外, 铁死亡极易在 RAS 突变的癌细胞中发生, 这可能为增强癌细胞对化疗药物敏感提供新的策略<sup>[24]</sup>, 并且 KRAS 突变的癌细胞对铁依赖性细胞死亡、铁死亡和线粒体中的高铁含量高度敏感<sup>[25]</sup>。以往的研究表明, KRAS 基因的突变可以通过诱导癌细胞中促凋亡蛋白下调和抗凋亡蛋白上调来发挥抗凋亡作用<sup>[26, 27]</sup>。原癌基因 RAS 突变是胰腺癌发生过程中最早出现的基因变化, 它能够促进胰腺癌细胞的增殖、转移和侵袭, 还影响肿瘤微环境以及细胞的代谢重编程<sup>[28]</sup>。基于上述结论, 绕过凋亡信号通路选择非凋亡程序性死亡通路似乎是治疗 PDAC 最可行的策略。此外, 研究表明<sup>[29]</sup>, 铁死亡与包括 PDAC 在内的不同类型癌症的发生和进展密切相关, 不仅会导致 PDAC 中的癌细胞死亡并抑制肿瘤生长, 还会增强抗肿瘤药物的有效性。因此, 靶向铁死亡对于治疗胰腺癌具有非凡的意义。然而, 顺铂是否引起胰腺癌细胞铁死亡, 并且铁死亡与顺铂化疗耐药之间是否存在某种关联, 有待进一步探究。

铁死亡涉及细胞内铁沉积, 导致氧化应激、ROS 生成和脂质过氧化物(Lipid-OOH) 积累<sup>[30]</sup>。与细胞凋亡、坏死和自噬不同, 在生化上, 铁死亡的主要特征是铁离子积累、ROS 聚集和脂质过氧化<sup>[31]</sup>。ROS 主要来源于线粒体, 当铁过载时, 细胞通过 Fenton 反应产生大量 ROS<sup>[32, 33]</sup>。在铁死亡过程中, 线粒体能量代谢发生变化, 氧化磷酸化合成和 ATP 的产生相应地增加, 糖酵解减少<sup>[34]</sup>。氧化应激水平增加, 过度氧化应激会对线粒体造成不可逆的损伤, 降低细胞器完整性, 最终导致能量消耗和细胞死亡。因此, 靶向破坏线粒体可显著增强对癌细胞的杀伤效果。铁死亡机制主要可分为三种类型<sup>[35]</sup>: 第一种由 GPX4 介导, 通过将磷脂过氧化物还原为相应的磷脂醇来抵抗铁死亡; 第二种由铁死亡抑制蛋白 1 (FSP1)、二氢乳清酸脱氢酶 (DHODH)、一氧化氮合酶 2 (NOS2)、环水解酶-1 (GCH1) 和其他酶介导。这些酶可产生具有自由基捕获抗氧化 (RTA) 活性的代谢物, 从而终止磷脂过氧化并抑制铁死亡; 第三种是由性激素抑制 O-酰基转移酶 1/2 (MBOA1/2) 介导的铁死亡。其中 DHODH 功能的揭示首次将线粒体纳入铁死亡防御机制的研究范畴。通过线粒体介导的铁死亡防御通路分为 GPX4 依赖性 (mGPX4) 和 GPX4 非依赖性 (DHODH-COQH<sub>2</sub>) 通路。以 mGPX4 和 DHODH 为中心的轴通常是互补的, 一个轴的失活会增加对另一个轴的依赖。对于 mGPX4, 没有专门靶向的药物, 但研发通用 GPX4 抑制剂用于癌症治疗的可行性已在许多癌症模

型中得到验证, 包括黑色素瘤<sup>[36]</sup>、肾细胞癌<sup>[37]</sup>、小细胞肺癌<sup>[38]</sup>和其他癌症模型<sup>[39]</sup>。

DHODH 是一种定位于线粒体内膜的含铁黄素依赖性酶, 并在嘧啶核苷酸从头合成途径中发挥着限速作用。作为细胞呼吸和嘧啶合成环节的重要酶, DHODH 催化合成功能的再激活可以使线粒体缺陷的肿瘤细胞再次生长<sup>[40]</sup>, 所以 DHODH 主要是作为抑制肿瘤生长的重要靶点来研究<sup>[41]</sup>。Mao<sup>[42]</sup>等研究表明, DHODH 可通过产生线粒体内膜中二氢泛醌 (CoQH<sub>2</sub>) 从而在线粒体中抑制铁死亡, DHODH 被确认为一种与 GXP4 独立的铁死亡防御因子, 为癌症治疗提供了新的治疗策略。近年来的研究表明, DHODH 抑制剂可诱导铁死亡, 影响癌症治疗<sup>[43]</sup>。因此, 抑制 DHODH 可能是一种潜在的胰腺癌治疗策略<sup>[44]</sup>。Zhang 等<sup>[45]</sup>研究表明, 单独的 DHODH 抑制就足以诱导肿瘤细胞中的脂质过氧化和铁死亡。DHODH 在宫颈癌组织中上调, 其沉默或药理学抑制促进了宫颈癌细胞的铁死亡, 同时与顺铂联用具有协同作用<sup>[46]</sup>。然而研究表明<sup>[47]</sup>, 含顺铂的方案显示疗效中等, 虽然 1 年总生存期、稳定病率和进展率显著改善, 但是只有一小部分患者达到总体缓解率。因此, 可以将 DHODH 抑制剂与抗癌药物联合使用, 以提高癌细胞对药物的敏感性。研究表明<sup>[48]</sup>DHODH 可能在胰腺癌中发挥着重要作用, 其消耗可能有助于提高抗癌效率。并且一项体内研究表明<sup>[49]</sup>, 在胰腺癌异种移植模型中抑制 DHODH 能产生很强的抗肿瘤活性。然而, DHODH 抑制剂通过 DHODH 介导的铁死亡与顺铂联合使用在胰腺癌的治疗中是否能达到预期效果, 还需深入研究。

DHODH 在肿瘤发生发展中起着关键作用, 已成为抗恶性肿瘤药物研发中极具潜力的靶点。到目前为止, 报道了许多不同结构的 DHODH 抑制剂<sup>[50]</sup>。布喹那 (Brequinar, BQR) 是已知最强的人类 DHODH 抑制剂之一, IC<sub>50</sub> 值为 1.8 nmol/L<sup>[51]</sup>。BQR 在 KRAS 突变胰腺异种移植模型中, 通过 DHODH 耗竭表现出很强的体内抗肿瘤活性, 并诱导稳态谷氨酸浓度降低<sup>[52]</sup>。虽在晚期实体瘤恶性肿瘤患者的 I 期和 II 期试验中进行了评估, 但由于未能进入后续不同的 II 期临床试验, BQR 对多种实体瘤的抗癌疗效受到显著限制, 其狭窄的治疗窗口进一步阻碍了临床应用<sup>[53]</sup>。联合药物治疗是一种潜在的癌症治疗策略, 但化疗药物联合使用带来的意外不良反应对于晚期癌症患者或总体健康状况不佳的患者来说可能是无法忍受的<sup>[54]</sup>。因此, 癌症治疗的重点已转向将植物化学物质与化疗药物相结合并研究新的给药策略<sup>[55]</sup>。白藜芦醇 (Resveratrol, RSV) 是一种非类黄酮多酚化合物, 以植物产生的植物抗毒素的形式出现, 通过调节脂质过氧化和铁稳态来调节铁死亡, 并在肿瘤治疗领域显示出相当大的前景<sup>[56]</sup>。Zou 等研究发现<sup>[57]</sup>, RSV 通过下调 miR-21-3p 激活 p53/SLC7A11 通路, 促进铁死亡并阻止子宫内膜异位症 (EMS) 的发展。在结直肠癌中<sup>[58]</sup>, RSV 通过增加 ROS 和脂质过氧化并下调 SLC7A11 和 GPX4, 显著降低了癌细胞增殖的能力。对于肺鳞状细胞癌 (LUSC), RSV 使得 H520 细胞活力呈剂量依赖性降低, 其中 50 μM 浓度通过调节关键蛋白表达和增强免疫调节细胞因子 (TNF-α、IFN-γ、IL-12、IL-2) 诱导铁死亡<sup>[59]</sup>。上述研究结果均说明了

RSV 在癌症治疗中的多功能性，能够参与多种信号通路并增强身体的免疫反应，从而增强其治疗效果。张明波等<sup>[60]</sup>提出，虎杖中的有效化合物 RSV 对 DHODH 具有较强的抑制作用。Cheng 等的研究结果提出<sup>[61]</sup>，RSV 联合化疗药物可很好地抑制胰腺癌细胞的增殖，并增强胰腺癌细胞对化疗药物的敏感性，还可以降低化疗药物使用剂量。然而，RSV 是否可以作为一种 DHODH 抑制剂与顺铂联用治疗胰腺癌尚不明确。

综上所述，本研究通过体外培养 PANC1、BxPC-3 细胞，分别给予顺铂、Fer-1、BQR、RSV 干预，并测定相关指标，旨在探讨顺铂与 RSV 在胰腺癌细胞铁死亡中的可能作用机制，为胰腺癌的治疗提供联合用药新方向。