

生物信息学和实验验证探究千层纸素 A 抗宫颈癌的效应及其作用机制

王珏

宿迁市第一人民医院 药学部, 江苏 宿迁 223800

摘要: **目的** 探讨千层纸素 A 抑制宫颈癌的作用及潜在机制。**方法** 在 GEO 和 TCGA 数据集中分析 SHC SH2 结构域结合蛋白 1 (SHCBP1) 在宫颈癌患者与健康人之间的表达的差异; 通过 MTT 实验验证千层纸素 A 对 HeLa 细胞的抑制作用。采用 Western blotting 实验对千层纸素 A 与 SHCBP1 之间关系进行研究, 运用分子模拟对接评估千层纸素 A 与 SHCBP1 蛋白的对接效果; Linkedomics 分析宫颈癌患者中 SHCBP1 的共表达基因; 基因本体 (GO) 和京都基因组百科全书 (KEGG) 分析相关共表达基因的潜在机制; CIBERSORT 法分析 SHCBP1 与宫颈癌免疫细胞浸润的相关性; TISIDB 数据库分析 SHCBP1 与免疫检查点的关系。**结果** GEO 数据库及 TCGA 数据库的分析结果得出, SHCBP1 在宫颈癌患者中显著高表达; MTT 和 Western blotting 分析结果显示, 千层纸素 A 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 即对 HeLa 细胞增殖和 SHCBP1 的表达具有显著的抑制效果 ($P < 0.05$)。分子对接结果显示, 千层纸素 A 与 SHCBP1 具有较好的结合势能; TISIDB 数据库的研究及 CIBERSORT 法对 GEO 数据集的分析结果得出, SHCBP1 参与了宫颈癌细胞的免疫浸润; SHCBP1 及其共表达基因主要富集于炎症相关途径中。**结论** 千层纸素 A 通过抑制 SHCBP1 介导的免疫浸润来抑制宫颈癌的生长, 这可能在宫颈癌的治疗中有重要意义。

关键词: 千层纸素 A; 宫颈癌; SHC SH2 结构域结合蛋白 1; 免疫浸润; 共表达基因

中图分类号: R285; R979.1 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2024)02 - 0309 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.02.006

Bioinformatics and experimental verification to explore the anti-cervical cancer effect and mechanism of oroxylin A

WANG Jue

Department of Pharmacy, Suqian First People's Hospital, Suqian 223800, China

Abstract: Objective To investigate the inhibitory effect and potential mechanism of oroxylin A on cervical cancer. **Methods** The expression difference of SHCBP1 between cervical cancer patients and healthy people was analyzed in GEO and TCGA datasets. The inhibitory effect of oroxylin A on HeLa cells was verified by MTT assay. Western blotting experiments were used to study the relationship between oroxylin A and SHCBP1, and molecular simulation docking was used to evaluate the docking effect between oroxylin A and SHCBP1. The co-expression gene of SHCBP1 in patients with cervical cancer was analyzed by Linkedomics. Gene Ontology (GO) and Kyoto Genome Encyclopedia (KEGG) were used to analyze the underlying mechanisms of related co-expressed genes. CIBERSORT method was used to analyze the correlation between SHCBP1 and immune cell infiltration of cervical cancer. TISIDB database was used to analyze the relationship between SHCBP1 and immune checkpoint. **Results** The analysis results of GEO database and TCGA database showed that SHCBP1 was highly expressed in cervical cancer patients. The results of MTT and Western blotting analysis showed that oroxylin A had significant inhibitory effect on the expression of HeLa cells and SHCBP1 at the concentration of 10 $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$). The results of molecular docking showed that the combination of oroxylin A and SHCBP1 had good potential energy. The results of TISIDB database and CIBERSORT analysis of GEO data show that SHCBP1 is involved in the immune invasion of cervical cancer cells. SHCBP1 and its co-expression genes are mainly enriched in inflammatory pathways. **Conclusion** Oroxylin A suppresses the growth of cervical cancer by suppressing SHCBP1-mediated immune infiltration, which could potentially have significant implications in the treatment of cervical cancer.

Key words: Oroxylin A; cervical cancer; SHCBP1; immune infiltration; co-expressed gene

收稿日期: 2023-09-20

作者简介: 王珏, 药师, 硕士, 研究方向为药学。E-mail: 479740598@qq.com

宫颈癌是一种始发于宫颈细胞的癌症，但其通常会随着时间的推移而缓慢发展^[1]。发育异常的子宫颈细胞首先出现在子宫颈组织中，随着时间的推移，如果不进行干预或清除，异常细胞可能会变成癌细胞，并开始生长和扩散到更深的子宫颈和周围组织^[2]。在目前的研究表明，宫颈癌多由高风险类型的人类乳头瘤病毒（HPV）诱发，其中 HPV16、HPV18 占到了 70%^[3]。定期接受宫颈癌筛查和接种 HPV 疫苗被认为是预防宫颈癌发生的有效手段^[4]，但目前这 2 种手段在我国的普及率较低^[5]。目前治疗宫颈癌的常规手段为手术治疗、化疗、放射疗法及靶向治疗^[6-7]。千层纸素 A 是一种从黄芩根皮中所提取的活性成分，多项研究表明千层纸素 A 具有抗肿瘤、抗炎、神经调节等多种药理作用^[8-10]。

SHC SH2 结构域结合蛋白 1（SHCBP1）是细胞表面受体的重要蛋白^[11]，它将激活的生长因子受体偶联到表皮生长因子受体（EGFR）、成纤维细胞生长因子受体（FGFR）和胰岛素受体等相关信号通路^[12]。SHCBP1 在多种癌症中如肝癌、乳腺癌、胶质瘤中过表达，目前有研究表明 SHCBP1 的表达还与肿瘤相关巨噬细胞（TAMs）和免疫抑制基因（TGFB1、PD-L1、TGFB1 等）呈正相关^[13-15]，表明 SHCBP1 与肿瘤免疫有着密切的关系。

目前对于千层纸素 A 抗肿瘤作用研究得到了重点关注，但其作用的机制仍有待研究。本研究通过 MTT 比色法证实了千层纸素 A 可以抑制宫颈癌细胞的增殖，并基于前期研究的基础，通过 Western blotting 实验分析千层纸素 A 与 SHCBP1 之间的关系。此外，对千层纸素 A 与 SHCBP1 进行计算机模拟分子对接，分析结合效能。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

HeLa 细胞购自上海中乔新舟生物科技有限公司；千层纸素 A（质量分数≥98%，货号 480-11-5）购自成都普思生物科技股份有限公司；SHCBP1 抗体（货号 12672-1-AP）购自美国 Proteintech 公司；DMSO（货号 ST038）、MTT 毒性检测试剂盒（货号 C00098）、PBS（货号 C0221A）购自上海碧云天生物技术股份有限公司；DMEM 培养基（货号 6122692）购自美国 Gibco 公司；胎牛血清（货号 11011-8611）购自浙江天杭生物科技股份有限公司。

超精密天平（瑞士梅特勒-托利多公司）、多功能微孔板检测仪（美国伯腾仪器有限公司）、双红外

激光色成像仪（美国 LI-COR 公司）；电泳仪（美国 BIO-BAD 公司）。

1.2 数据集的研究

通过 GEO 和 TCGA 数据库检索人宫颈癌相关数据集，最终选定 GSE9750、GSE63678、GSE29570 和人宫颈癌 TCGA 数据（TCGA-CESC）作为研究数据集，其中对 GSE63678 中非宫颈癌样本进行删除。通过 R 语言分别对 GSE9750、GSE63678、GSE29570 进行整理获得基因表达矩阵，运用生物医学数据分析盒子（Sangerbox）^[16]中 COMBAT 法对 3 个数据集进行去批次效应处理，获得可进行比较的 3 个数据集基因表达矩阵集合，之后在基因表达矩阵中分析 SHCBP1 的表达量。同时，通过 GEPIA 2 平台（<http://gepia2.cancer-pku.cn>）^[17]对 TCGA 数据库中 TCGA-CESC 进行研究，分析 SHCBP1 在 TCGA 数据库中的表达；使用 R 语言中 IOBR 包在 3 个 GEO 数据集中，对 22 种免疫细胞进行 Cibersort 法分析。采用 TISIDB 数据库（<http://cis.hku.hk/TISIDB>）^[18]分析 SHCBP1 与免疫检查点的联系。

1.3 分子对接

分别在 AlphaFoldDB 和 TCMSP 数据库中检索 SHCBP1 和千层纸素 A 的 PDB 格式与 MOL2 格式文件，Pymol 对小分子与蛋白进行脱水等处理，后导入 Autodock 软件中进行分子模拟对接，将势能最低的一个结果使用 Pymol 进行可视化输出。

1.4 MTT 实验

1.4.1 含药培养基配制 用精密天平精准称定 2 mg 千层纸素 A，根据相对分子量加入相应体积的 DMSO 溶液配制成 60 mmol/L 储备液，通过稀释法配制浓度为 10、20、30 mmol/L 的含药母液。

1.4.2 培养细胞 HeLa 细胞在含有 5%胎牛血清的 DMEM 培养基中培养，经传代后，以每孔 1×10^4 个接种入 96 孔板中，每组副孔 6 个，培养至 70%~80%的密度。

1.4.3 加药 取 3 个 5 mL 离心管，分别加入 2 mL 培养基，取 2 μ L 浓度为 10、20、30 mmol/L 的含药母液分别加入含培养基的离心管内，即为 10、20、30 μ mol/L 含药培养基，另取一对对照管加入相应体积的 DMSO。吸干原 96 孔板中培养基，加入 200 μ L 含药培养基，继续培养 24 h。

1.4.4 收样 加入 10 mL MTT 溶液（5 mg/mL）培养 4 h，弃掉原培养基加入 200 μ L DMSO 溶液，充分溶解甲臜 40 min 后 490 nm 处测吸光度（A）值。

1.5 蛋白免疫印记实验

HeLa 细胞在 10、20、30 mmol/L 含药培养基下培养 24 h, 对照组培养基加入相应体积 DMSO 同步培养, 用含有 1% 的蛋白酶抑制剂 (PMSF) 的 NP40 裂解缓冲液提取 HeLa 细胞的蛋白。采用 BCA 法测定蛋白浓度。以 30 μg 的蛋白量加入 10% 的胶中, 100 V 条件下分离, 在 240 mA 下转印 90 min, 经封闭、洗膜、敷抗体等步骤后显影。

1.6 共表达网络分析

通过 Linkedomics^[19] (<http://www.linkedomics.org>) 获取 SHCBP1 共表达基因网络, 并以热图的形式进行可视化。并通过基因本体 (GO) 和京都基因组百科全书 (KEGG) 进一步分析 SHCBP1 的生物学功能。

1.7 数据分析

数据采用 R4.3.1 和 GraphPad Prism 8 进行分析。使用 Wilcoxon 秩和检验分析 SHCBP1 的表达情况; 使用斯皮尔曼的相关性分析来评估相关性。

2 结果

2.1 SHCBP1 在宫颈癌中的表达情况

由于 GEO 数据库中的数据通常来自不同的实验室、不同的实验平台和不同的时间点, 因此存在很大的差异性。为了消除这些非生物学的技术性差异, 需要对数据进行标准化处理, 同时对于不同批次的 GEO 数据还要进行去批次效应处理, 使得各组数据具有可比性。首先对 GSE9750、GSE63678、GSE29570 数据库进行标准化和 COMBAT 去批次,

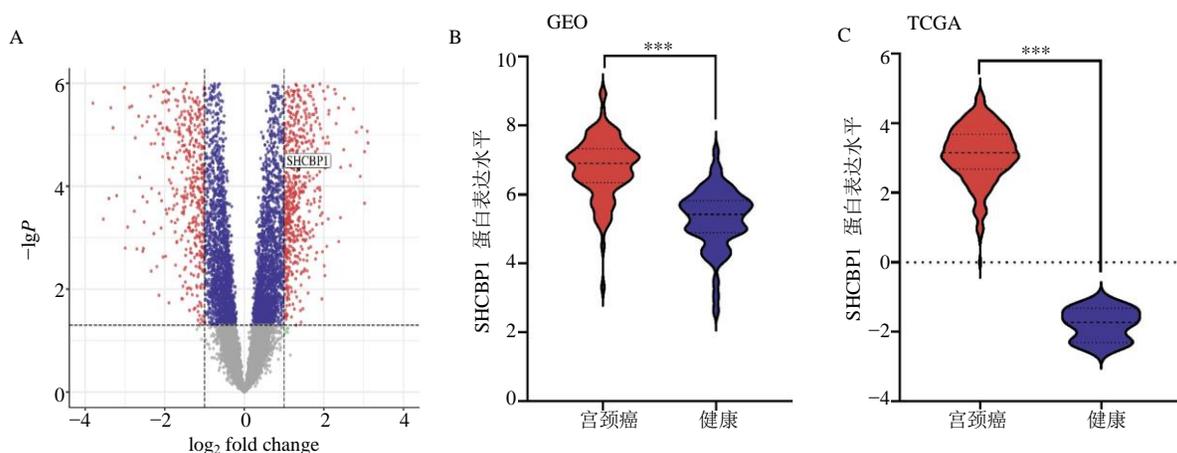
处理后的数据集中 138 组数据 (宫颈癌患者 92 组, 健康人 46 组) 几乎在同一水平线上, 均一性好, 该数据集的芯片数据可靠, 可进行后续分析。经过线性模型拟合、贝叶斯检验, 获得差异表达基因 (DEGs), 使用 ggplot2 和 cowplot 包绘制火山图 (图 1-A)。使用 ggpubr 对 SHCBP1 在 GSE9750、GSE63678、GSE29570 合集集中的表达进行可视化 (图 1-B), 结果显示, 相较于健康受试者, 宫颈癌患者的 SHCBP1 显著上升 ($P < 0.001$); 同时对 TCGA 数据库中 307 例样本 (宫颈癌患者 304 组, 健康受试者 3 组) 的分析中, 也显示出相同的结果 ($P < 0.001$)。

2.2 千层纸素 A 对 HeLa 细胞增殖和 SHCBP1 蛋白表达的影响

结果显示, 与对照组相比, 千层纸素 A 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 时即可对 HeLa 细胞显示出抑制作用; 且各浓度千层纸素 A 均可抑制 SHCBP1 蛋白的表达 ($P < 0.05$ 、0.001), 见图 2、3。

2.3 千层纸素 A 与 SHCBP1 结合能分析

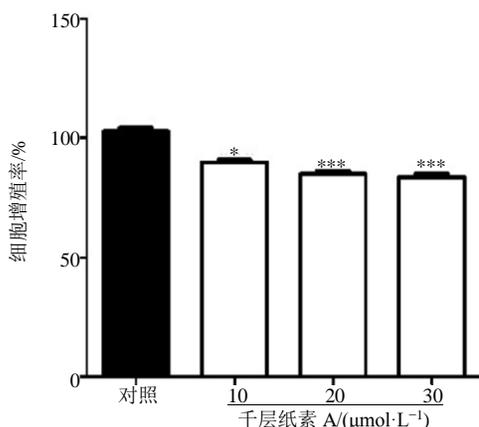
千层纸素 A 与 SHCBP1 的 VAL-109、THR-191、VAL-187、GLN-190 存在氢键作用 (图 4), 其结合自由能为 -7.3 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.4 \text{ J}$), 该结果显示千层纸素 A 与 SHCBP1 蛋白可以在自然情况下进行结合, 且对接结果良好。分子对接结果显示, 千层纸素 A 与 SHCBP1 有较稳定的相互作用, 进一步说明 SHCBP1 蛋白可能为千层纸素 A 抗宫颈癌的潜在重要作用靶点。



A-差异表达基因火山图; B-GEO 数据库中 SHCBP1 蛋白表达水平; C-TCGA 数据库中 SHCBP1 蛋白表达水平; 与健康组比较: *** $P < 0.001$ 。
A-volcano map of differentially expressed genes; B-expression of SHCBP1 in GEO database; C-expression of SHCBP1 in TCGA database *** $P < 0.001$ vs normal group.

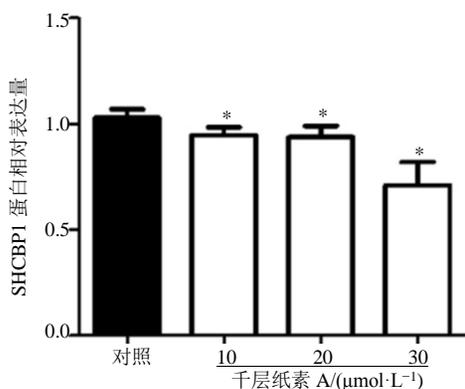
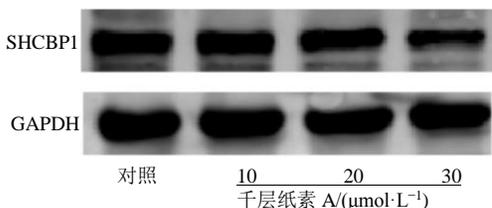
图 1 宫颈癌中 SHCBP1 的表达情况

Fig. 1 Expression of SHCBP1 in cervical cancer



与对照组比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$.
* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 2 千层纸素 A 对 HeLa 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Fig. 2 Effect of oroxylin A on proliferation of HeLa cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



与对照组比较: * $P < 0.05$.
* $P < 0.05$ vs control group.

图 3 千层纸素 A 对 SHCBP1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 3 Effect of oroxylin A on the expression of SHCBP1 protein ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

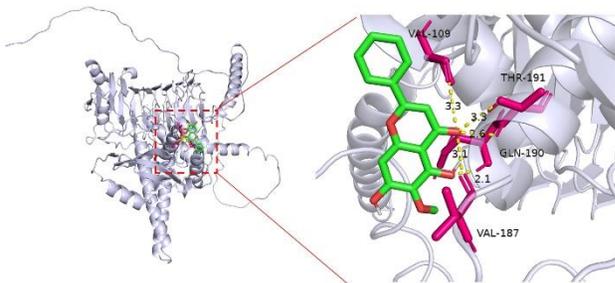


图 4 千层纸素 A 与 SHCBP1 分子对接

Fig. 4 Molecular docking of oroxylin A with SHCBP1

2.4 SHCBP1 在 CESC 中的生物学功能

为了进一步评估 SHCBP1 在 CESC 中的生物学功能,本研究通过 Linkedomics 分析了 SHCBP1 在 CESC 中的共表达网络,共得到与 SHCBP1 正相关基因 453 个,SHCBP1 负相关基因 387 个。将前 50 个的正相关和负相关的基因以热图形式进行展示(图 5)。随后对 SHCBP1 共表达网络进行 GO 与 KEGG 分析(图 6),其中分子功能(MF)涉及激酶活性(kinase activity)、激酶结合(kinase binding)、细胞因子受体结合(cytokine receptor binding)等;生物功能(BP)涉及细胞因子刺激的反应(cellular response to cytokine stimulus)、蛋白磷酸化反应(protein phosphorylation)、磷酸化的正向调节(positive regulation of phosphorylation)等;细胞组成(CC)涉及囊泡腔(vesicle lumen)、受体复合物(receptor complex)、细胞外基质(extracellular matrix)等。KEGG 结果显示,SHCBP1 及共表达基因富集在 TNF 信号通路(TNF signaling pathway)、HIF-1 信号通路(HIF-1 signaling pathway)、IL-17 信号通路(IL-17 signaling pathway)等。

2.5 SHCBP1 在 CESC 免疫浸润和免疫检查点中的作用

肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)可通过直接或间接作用参与肿瘤组织的发生、发展,是影响 CESC 在内的各种癌症发展的独立因素。本研究通过 CIBERSORT 算法计算了 GSE9750、GSE63678、GSE29570 中 22 种免疫细胞的比例(图 7-A),发现活化的树突状细胞、静息的树突状细胞、M0 型巨噬细胞、M1 型巨噬细胞、静息肥大细胞、单核细胞、中性粒细胞、NK 细胞、CD4⁺T 细胞、滤泡辅助性 T 细胞的水平在 CESC 中改变(图 7-B),表明免疫细胞在宫颈癌的发生中起到重要作用。此外,将数据集集合分为 SHCBP1 高、低表达组,在 SHCBP1 高表达组中活化的树突状细胞、M0 型巨噬细胞、M1 型巨噬细胞、浆细胞、活化的 CD4⁺T 记忆细胞、滤泡辅助性 T 细胞比例上调,调节性 T 细胞、肥大细胞、单核细胞、静息 CD4⁺T 记忆细胞比例下调(图 7-C)。通过 TISID 数据库对 SHCBP1 与 CESC 免疫检查点相关性分析得出,SHCBP1 与 RAET1E、TGFB1、TGFB1 表现出正相关,与 TNFRSF14、LGALS9、VTCN1、CXCR4、HLA2 表现出负相关。这些结果表明,SHCBP1 可能参与了 CESC 免疫的调控,见图 8。

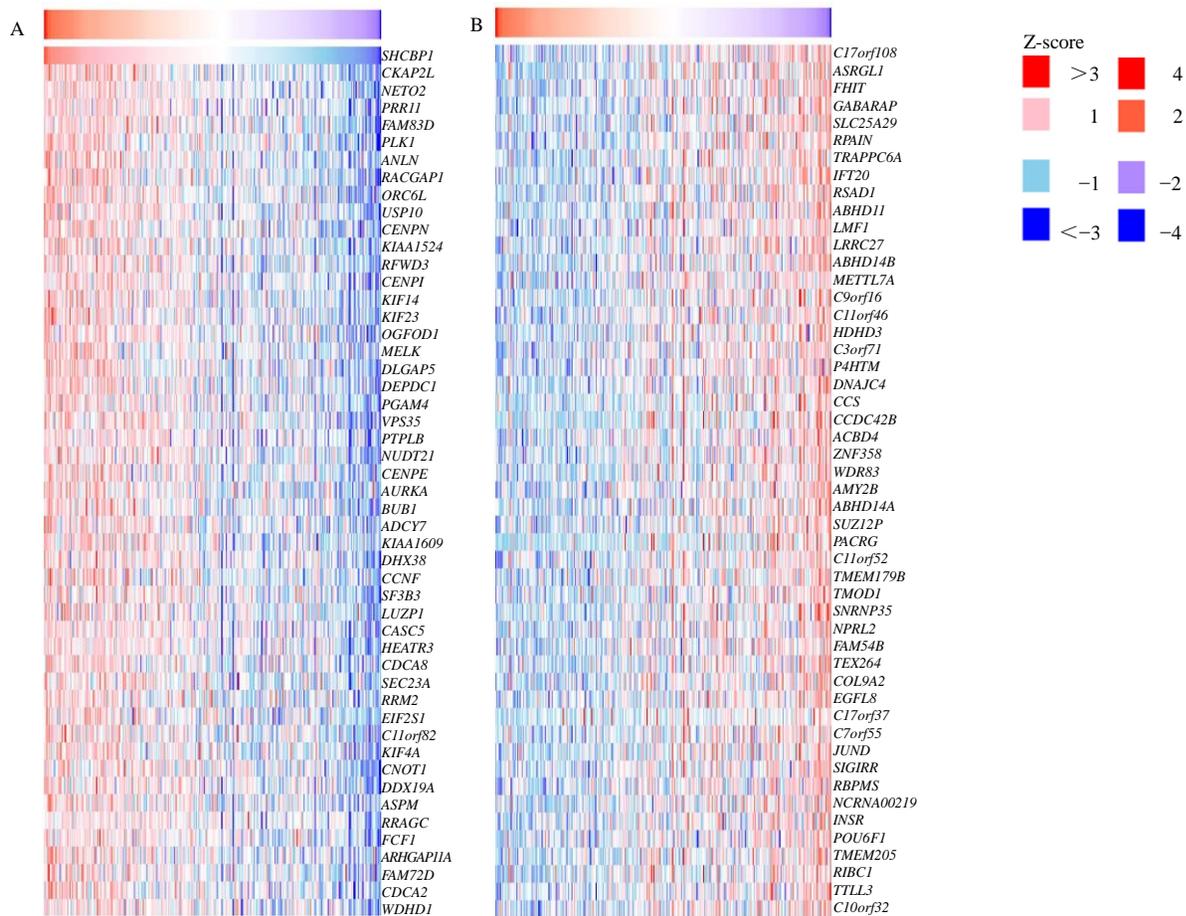


图 5 SHCBP1 在 CESC 中排名前 50 个的正相关 (A) 和负相关 (B) 基因热图

Fig. 5 Heat map of the top 50 positively (A) and negative (B) correlated genes ranked by SHCBP1 in CESC

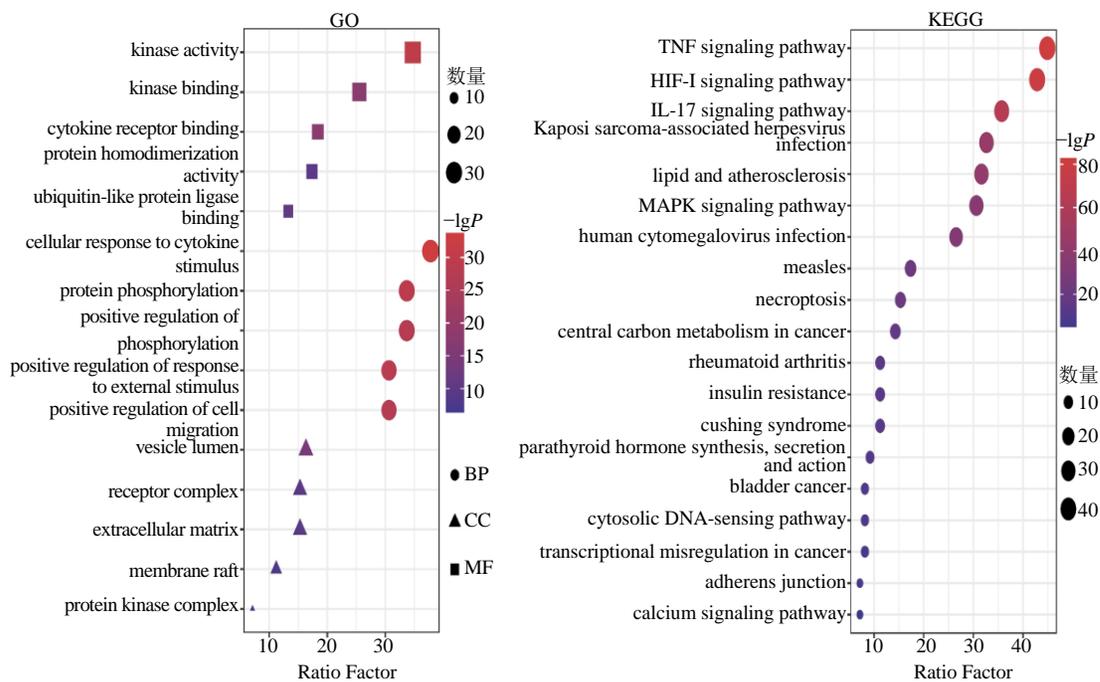


图 6 SHCBP1 在 CESC 中的 GO (A) 和 KEGG (B) 富集分析

Fig. 6 GO (A) and KEGG (B) analysis of SHCBP1 in CESC

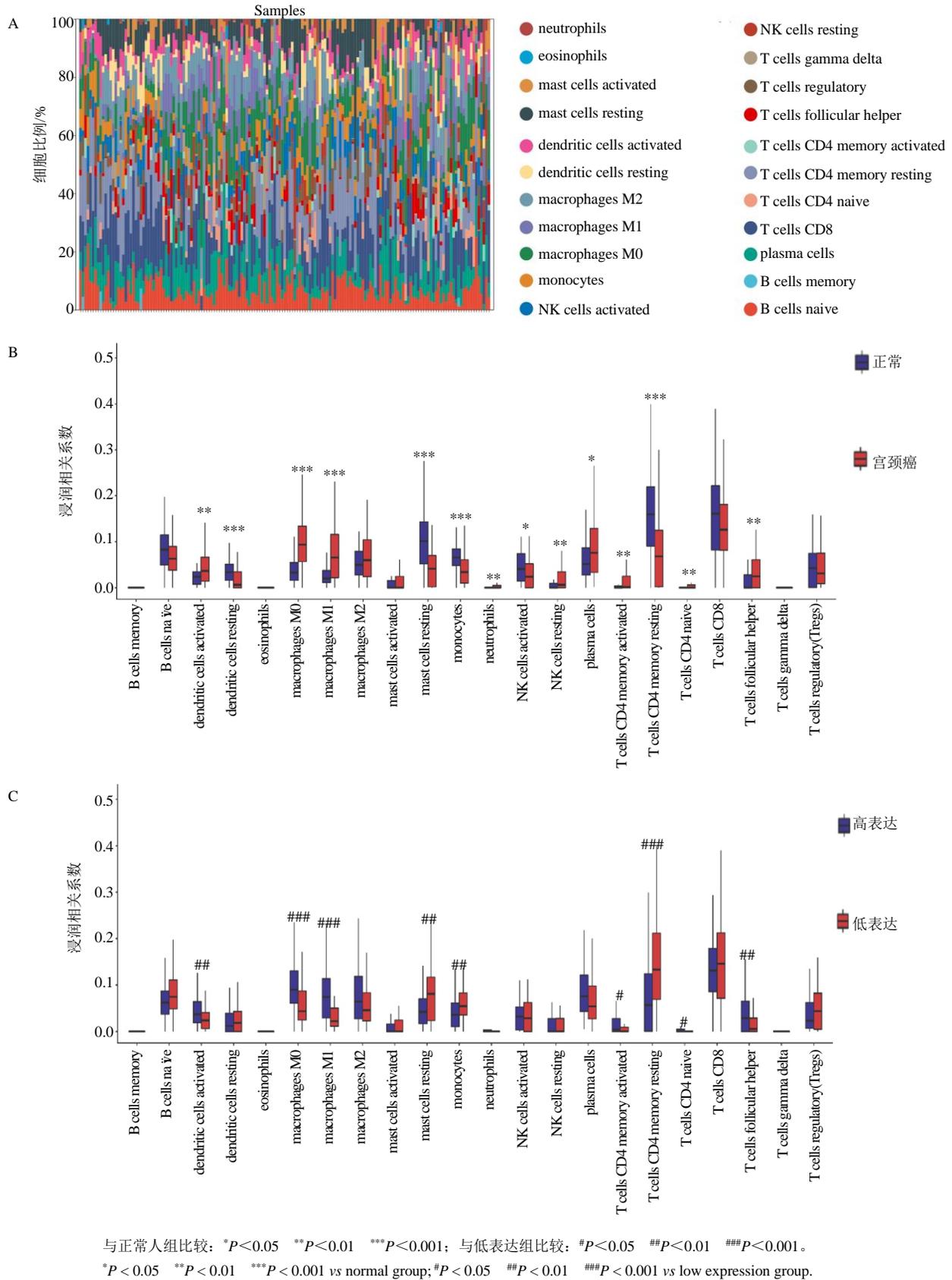


图 7 GEO 数据集中免疫细胞比例 (A)、免疫细胞浸润情况 (B) 和免疫细胞表达差异 (C)

Fig. 7 Proportion of immune cells (A), infiltration of immune cells (B), and differences in immune cell expression (C) in GEO data sets

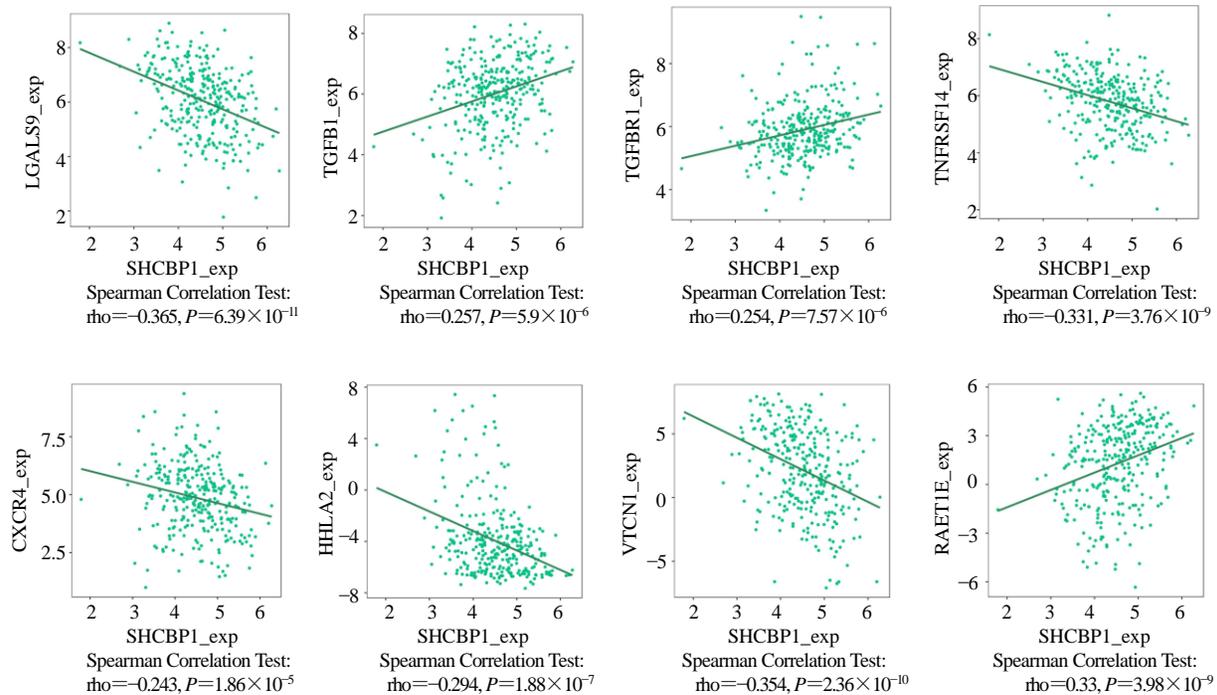


图 8 SHCBP1 与 CESC 中的免疫检查点之间的关系

Fig. 8 Relationship between SHCBP1 and immune checkpoints in CESC

3 讨论

从中药中分离和鉴定具有抗癌活性的化合物，成为宫颈癌的治疗的一种新的研究思路^[20-21]。千层纸素 A 作为一种从黄芩中提取到的活性化合物，在皮肤癌、乳腺癌、肺癌、肝癌中有显著抑制作用^[8]，但在宫颈癌中的研究缺失。本研究表明，千层纸素 A 可以浓度相关性地抑制 HeLa 细胞的增殖。此外基于前期的研究基础，本研究对千层纸素 A 是否调控 SHCBP1 开展了进一步的研究。通过对 GEO 及 TCGA 数据集的研究，发现 SHCBP1 在宫颈癌中是显著高表达的，之后为了验证千层纸素 A 是否能够抑制 SHCBP1 这一猜想，进行了 Western blotting 实验，结果也显示，10 $\mu\text{mol/L}$ 千层纸素 A 即显示出对 SHCBP1 的抑制作用。此外，为了更好的评估千层纸素 A 与靶点 SHCBP1 之间的结合效能，分子对接结果表明千层纸素 A 与 SHCBP1 在多个位点形成氢键，结合能为 -7.3 kcal/mol ，表明 SHCBP1 可能是千层纸素 A 的重要潜在作用靶点。为深入探究 SHCBP1 作为治疗靶点的作用机制，首先对其在宫颈癌中的生物学功能开展分析，通过对 SHCBP1 共表达网络的分析获知 SHCBP1 及其共表达基因参与了 TNF、HIF-1、IL-17 等多个信号通路，而 TNF、HIF-1 和 IL-17 信号通路均参与宫颈癌炎症的发生，

表明 SHCBP1 可能参与调节宫颈癌的炎症反应。在多个研究中，千层纸素 A 在肿瘤中表现出良好的抗炎作用^[14]，因此推断其抗炎机制可能与抑制 SHCBP1 有关。

美国食品药品监督管理局批准帕博利珠单抗联合或不伴贝伐珠单抗的化疗用于一线治疗证实为肿瘤表达 PD-L1 的持续性、复发性或转移性宫颈癌患者^[22]。这是首个被批准用于这些患者一线治疗的抗 PD-1 组合疗法，展示了免疫检查点抑制剂在治疗 CESC 中的重要作用。本研究中，SHCBP1 与 RAET1E、TGFB1、TNFRSF14、CXCR4 等多个免疫检查点相关，这些免疫检查点蛋白参与了人体先天和适应性免疫反应，在机体中发挥着重要的免疫调节作用^[23-25]。免疫细胞浸润与肿瘤炎症反应息息相关，通过对 22 种免疫细胞的分析，也获悉多种免疫细胞与 SHCBP1 的表达相关，其中与 SHCBP1 显著正相关的巨噬细胞，主要分为 M0 型、M1 型和 M2 型，在宫颈癌中分泌各种促炎因子，参与了肿瘤发生、发展。以上均表明 SHCBP1 可能在 CESC 免疫中发挥着关键的作用，值得进一步的研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Chu D M, Liu T T, Yao Y. Implications of viral infections

- and oncogenesis in uterine cervical carcinoma etiology and pathogenesis [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1194431.
- [2] Schubert M, Bauerschlag D O, Muallem M Z, et al. Challenges in the diagnosis and individualized treatment of cervical cancer [J]. *Medicine*, 2023, 59(5): 925.
- [3] Aghbash P S, Hemmat N, Baradaran B, et al. The effect of Wnt/ β -catenin signaling on PD-1/PDL-1 axis in HPV-related cervical cancer [J]. *Oncol Res*, 2023, 30(3): 99-116.
- [4] Cuschieri K, Fellner M D, Arroyo M ühr L S, et al. Quality assurance in human papillomavirus testing for primary cervical screening [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2023, 33(5): 802-811.
- [5] 葛正好, 夏嘉蔚, 刘琦, 等. 影响宫颈癌筛查的供需障碍研究及对策分析 [J]. *医学理论与实践*, 2022, 35(8): 1296-1298.
- [6] Sagae S, Toita Takafumi, Matsuura Motoki, et al. Improvement in radiation techniques for locally advanced cervical cancer during the last two decades [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2023, 33: 1295-1303.
- [7] Grau-Bejar J F, Garcia-Duran C, Garcia-Illescas D, et al. Advances in immunotherapy for cervical cancer [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2023, 15: 17588359231163836.
- [8] Tuli H S, Garg V K, Kumar A, et al. Anticancer potential of oroxylin A: From mechanistic insight to synergistic perspectives [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2023, 396(2): 191-212.
- [9] Bai D S, Sun T F, Zhao J W, et al. Oroxylin A maintains the colonic mucus barrier to reduce disease susceptibility by reconstituting a dietary fiber-deprived gut microbiota [J]. *Cancer Lett*, 2021, 515: 73-85.
- [10] Chien J Y, Lin S F, Chou Y Y, et al. Protective effects of oroxylin A on retinal ganglion cells in experimental model of anterior ischemic optic neuropathy [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(6): 902.
- [11] Shi W G, Zhang G Y, Ma Z J, et al. Hyperactivation of HER2-SHCBP1-PLK1 axis promotes tumor cell mitosis and impairs trastuzumab sensitivity to gastric cancer [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2812.
- [12] Li Y P, Duan F F, Zhao Y T, et al. A TRIM71 binding long noncoding RNA Trincr1 represses FGF/ERK signaling in embryonic stem cells [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1368.
- [13] Zhang G Y, Ma Z J, Wang L, et al. The role of Shcbp1 in signaling and disease [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2019, 19(11): 854-862.
- [14] Lin Y, Cai H. Biological functions and therapeutic potential of SHCBP1 in human cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 160: 114362.
- [15] Wang N, Zhu L Y, Wang L X, et al. Identification of SHCBP1 as a potential biomarker involving diagnosis, prognosis, and tumor immune microenvironment across multiple cancers [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2022, 20: 3106-3119.
- [16] Shen W T, Song Z G, Zhong X, et al. Sangerbox: A comprehensive, interaction-friendly clinical bioinformatics analysis platform [J]. *iMeta*, 2022, 1(3): e36.
- [17] Tang Z F, Kang B X, Li C W, et al. GEPIA2: An enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W556-W560.
- [18] Ru B B, Wong C N, Tong Y, et al. TISIDB: An integrated repository portal for tumor-immune system interactions [J]. *Bioinformatics*, 2019, 35(20): 4200-4202.
- [19] Vasaiakar S V, Straub P, Wang J, et al. LinkedOmics: Analyzing multi-omics data within and across 32 cancer types [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D956-D963.
- [20] 李闪闪, 魏丹丹, 王红玲, 等. 中药单体调控宫颈癌信号通路的研究进展 [J/OL]. *中华中医药学刊*: 1-23. [2024-02-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20230714.1701.045.html>.
- [21] 冯双苗, 张化莲, 袁有华. 马钱苷联合 miR-3619-5p 靶向迁移侵袭增强因子 1 对宫颈癌 SiHa 细胞迁移和凋亡的影响 [J]. *中草药*, 2022, 53(14): 4409-4416.
- [22] Baxi S, Yang A, Gennarelli R L, et al. Immune-related adverse events for anti-PD-1 and anti-PD-L1 drugs: systematic review and meta-analysis [J]. *BMJ*, 2018, 360: k793.
- [23] 杨文静, 刘岩, 朱萌萌, 等. KIF4A 在肺腺癌中的预后意义及与免疫浸润的关系 [J]. *广东医学*, 2023, 44(7): 809-815.
- [24] Sun Q, Hong Z Y, Zhang C, et al. Immune checkpoint therapy for solid tumours: clinical dilemmas and future trends [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 320.
- [25] 田馨莉, 张妍, 李岚, 等. 宫颈癌中单核细胞对 Th17 细胞分化的影响 [J]. *安徽医药*, 2023, 27(6): 1245-1248.

[责任编辑 高源]