

基于网络药理学和实验验证探究重楼皂苷 I 抗宫颈癌的作用机制

黄慧琳^{1,2}, 李志浩^{2,3}, 刘经健^{2,3}, 武 伦², 柯昌虎², 刘慧敏², 任芳玲², 杨 旺^{1,2}, 明庭文^{1,2}, 李 鹏^{1,2*}

1. 湖北医药学院 药学院, 湖北 十堰 442000
2. 湖北医药学院附属国药东风总医院, 湖北 十堰 442000
3. 武当特色中药研究湖北省重点实验室 (湖北医药学院), 湖北 十堰 442000

摘 要: **目的** 通过网络药理学、分子对接以及体外实验探讨重楼皂苷 I 抗宫颈癌的潜在靶点和作用机制。**方法** 使用 Swiss Target Prediction 数据库获得重楼皂苷 I 作用靶点, 通过 GeneCards 和 OMIM 数据库检索宫颈癌的潜在作用靶点。采用 Venny 2.1 和 Cytoscape 3.10.0 构建“重楼皂苷 I - 交集靶点”网络。通过 STRING 平台构建蛋白质相互作用 (PPI) 网络图筛选出重楼皂苷 I 抗宫颈癌的可能的核心靶点, 通过富集分析对核心靶点的信号通路及生物学功能进行分析, 利用分子对接方法评估重楼皂苷 I 与关键信号通路中核心靶蛋白的结合潜力。通过 CCK-8 法检测宫颈癌细胞增殖能力, 划痕实验检测细胞的迁移能力, Western blotting 检测靶点蛋白表达水平。**结果** 通过数据库得到 105 个重楼皂苷 I 作用靶点, Venn 图得到 96 个交集靶点, 通过蛋白质相互作用网络筛选出酪氨酸蛋白激酶 (SRC)、表皮生长因子受体 (EGFR)、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、信号传导转录激活因子 3 (STAT3) 等 35 个核心靶点。GO 分析结果表明重楼皂苷 I 显著富集于 200 条生物过程, 40 个分子功能, 49 个细胞组分; KEGG 富集分析获得 99 条通路。分子对接显示重楼皂苷 I 与 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK)、细胞外调节蛋白激酶 (ERK)、p38 蛋白 (p38) 有较好的结合力。体外细胞实验表明, 重楼皂苷 I 抑制宫颈癌 SiHa 细胞的增殖活力和迁移能力。Western blotting 结果表明, 重楼皂苷 I 可以上调 MAPK 信号通路中磷酸化蛋白的表达水平。**结论** 重楼皂苷 I 可能通过作用于 MAPK 信号通路发挥抗宫颈癌作用。

关键词: 重楼皂苷 I; 宫颈癌; 网络药理学; 分子对接; 酪氨酸蛋白激酶; 表皮生长因子受体; 胱天蛋白酶 3

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2025)02 - 0310 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.02.007

Mechanism of action of polyphyllin I against cervical cancer through network pharmacology and experimental validation

HUANG Huilin^{1,2}, LI Zhihao^{2,3}, LIU Jingjian^{2,3}, WU Lun², KE Changhu², LIU Huimin², REN Fangling², YANG Wang^{1,2}, MING Tingwen^{1,2}, LI Peng^{1,2}

1. College of Pharmacy, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China
2. Dongfeng General Hospital affiliated to Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China
3. Hubei Key Laboratory of Wudang Local Chinese Medicine Research (Hubei University of Medicine), Shiyan 442000, China

Abstract: Objective To explore the potential targets and action mechanisms of polyphyllin I in treating cervical cancer through network pharmacology, molecular docking, and *in vitro* experiments. **Methods** The potential targets for polyphyllin I in treating diseases were obtained from the Swiss Target Prediction database. Potential targets for cervical cancer were searched in the GeneCards and OMIM databases. The “polyphyllin I – intersection target” network was constructed using Venny 2.1 and Cytoscape 3.10.0. The potential core targets of polyphyllin I against cervical cancer were screened out by constructing a PPI network map through the STRING platform. The signaling pathways and biological functions of the core targets were analyzed by enrichment analysis. The binding potential of polyphyllin I to the core target proteins in the key signaling pathways was evaluated by molecular docking. The proliferation

收稿日期: 2024-12-04

基金项目: 湖北省中医药管理局中医药科研项目 (ZY2023F075); 湖北医药学院“十四五”省优势特色学科群 (生物与医药) 资助项目 (2024BMXXQT6); 武当特色中药研究湖北省重点实验室 (湖北医药学院) 开放课题 (WDCM2024024); 十堰市引导性科研项目 (24Y139)

作者简介: 黄慧琳, 女, 硕士研究生, 研究方向为临床药理学。E-mail: 2250888461@qq.com

***通信作者:** 李 鹏, 男, 主任药师, 硕士生导师, 研究方向为临床药理学。E-mail: dfyylp@163.com

ability of cervical cancer cells was detected by the CCK-8 method, the migration ability of cells was detected by the scratch test, and the expression levels of target proteins were detected by Western blotting. **Results** A total of 105 potential targets for polyphyllin I in treating cervical cancer were identified from the databases, 96 intersection targets were obtained by Venn diagram, and 35 core targets, such as SRC, EGFR, CASP3, STAT3 were screened through the protein interaction network. GO analysis showed that polyphyllin I was significantly enriched in 200 biological processes, 40 molecular functions and 49 cell components. KEGG enrichment analysis obtained 99 pathways. Molecular docking showed that polyphyllin I had good binding force with the JNK, ERK, and p38. *In vitro* cell experiments showed that polyphyllin I inhibited the proliferation and migration of SiHa cervical cancer cells. Western blotting analysis showed that polyphyllin I can up-regulate the expression of phosphorylated protein in MAPK signaling pathway. **Conclusion** Polyphyllin I may play an anti-cervical cancer role by acting on MAPK signaling pathway.

Key words: polyphyllin I; cervical cancer; network pharmacology; molecular docking; SRC; EGFR; CASP3

宫颈癌发病率和死亡率在全世界女性癌症中均位居第 4 位, 仅次于乳腺癌、结直肠癌和肺癌^[1]。宫颈癌发生的重要危险因素包括高危型人乳头瘤病毒 (HPV) 慢性感染、性传播感染、免疫抑制和吸烟等^[2-3]。临床常采用手术、放疗和化疗等治疗方法, 治疗效果显著, 但肿瘤复发率和转移率较高, 采用标准治疗预后较差^[4-5]。重楼作为中草药的应用已有两千多年的历史, 属于我国传统名贵中药材。研究表明, 重楼的成分及其提取物具有显著的药理活性, 包括抗癌、抗氧化、抗菌、抗炎、抗病毒和免疫调节等作用^[6]。重楼皂苷 I 作为重楼的主要活性成分, 在抗肿瘤方面表现出良好的效果, 能抑制宫颈癌细胞的增殖^[7-8]。网络药理学从生物网络角度阐明药物作用机制, 挖掘中药药效作用靶点^[9-10]。因此, 本研究拟通过网络药理学和体外实验的研究方法, 对重楼皂苷 I 治疗宫颈癌的作用靶点进行预测和分析, 为其临床应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 网络药理学分析

1.1.1 重楼皂苷 I 和宫颈癌作用靶点获取 从 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) 数据库获得重楼皂苷 I 的结构, 将结构数据导入 Swiss Target Prediction 数据库中获取重楼皂苷 I 治疗疾病的相关靶点; 以“宫颈癌”为关键词从 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM (<https://www.omim.org/>) 数据库中收集宫颈癌的相关靶点。使用 Uniprot 数据库规范基因名称。

1.1.2 构建“重楼皂苷 I-交集靶点”网络 将重楼皂苷 I 作用靶点与宫颈癌靶点通过 Draw Venn Diagram 网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 取交集, 得到交集靶点。将重楼皂苷 I 和交集靶点导入 Cytoscape 3.8.2 软件, 构建“重楼皂苷 I-交集靶点”网络图。

1.1.3 构建蛋白质相互作用 (PPI) 网络 利用 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>) 分析交集靶点, 将物种设为“Homo sapiens”, 获取蛋白质相互作用关系及靶蛋白 PPI 网络, 剔除游离靶蛋白。将 TSV 格式数据文件导入 Cytoscape 3.10.0 软件, 使用 NetworkAnalyzer 工具对 PPI 网络数据进行分析。根据 degree 值进行排序, 选取 degree 值高于平均值的靶点作为核心靶点。

1.1.4 基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 采用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov>) 对重楼皂苷 I 和宫颈癌的交集靶点进行 GO 生物过程富集分析 KEGG 通路富集分析, 选择 $P < 0.01$ 的通路, 利用 R 软件和微信在线网站绘制可视化 GO 功能富集图, KEGG 功能富集图以及靶点-信号通路图。

1.1.5 分子对接 通过 PubChem 数据库获得重楼皂苷 I 的 2D 结构, RSCB PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 获得 MAPK 通路相关靶点蛋白的 3D 结构。利用 AutoDockTools 1.5.7 软件准备分子对接所需配体及蛋白, 并对目的蛋白的晶体结构进行去水、加氢、修饰氨基酸等预处理, 接下来以预处理过的蛋白为受体, 以化合物为配体, 进行蛋白与重楼皂苷 I 的分子对接并计算结合能。使用 AutoDock 软件进行结果的可视化操作。结合能小于 -5.0 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.2 \text{ J}$) 表示具有良好的结合潜力。

1.2 体外实验

1.2.1 实验材料 人宫颈鳞癌细胞 SiHa 由国药东风总医院提供; 重楼皂苷 I (上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98\%$, 货号 B21668); DMEM 培养基 (CellMax 公司, 货号 CGM101.05); 胎牛血清 (CellMax 公司, 货号 SA211.01); 双抗 (美国 Hyclone 公司, 货号 SV30010); 0.25% 胰蛋白酶 (CellMax 公司, 货号 CPT101.02); 二甲基亚砜溶液 (MP

Biomedicals 公司); CCK-8 试剂盒 (Target Mol, 货号 C0005); RIPI 裂解液 (上海碧云天生物科技有限公司, 货号 P0013B); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (上海碧云天生物科技有限公司, 货号 P0010); β -肌动蛋白 (β -actin, 中国 Abclonal 公司, 货号 AC026); c-Jun 氨基末端激酶 (JNK, CST 公司, 货号 14715)、细胞外调节蛋白激酶 (ERK, CST 公司, 货号 13158)、p38 蛋白 (p38, CST 公司, 货号 2774)、p-JNK (CST 公司, 货号 15071)、p-ERK (CST 公司, 货号 2530)、p-p38 (CST 公司, 货号 2530)。

1.2.2 细胞培养 SiHa 细胞在加入 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素的 DMEM 培养基中培养。置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中培养。

1.2.3 细胞存活率 采用 CCK-8 法将 SiHa 细胞以每孔 5×10^4 个/mL 的密度接种于 96 孔板, 每孔 100 μ L 细胞悬液, 每组设 6 个复孔, 培养 24 h。对照组加入含 0.1% DMSO 的 DMEM 完全培养基, 给药组加入 2、3、4、5 μ mol/L 重楼皂苷 I。24 h 后吸弃旧液, 用 PBS 洗涤, 每孔加入含 10 μ L CCK-8 溶液的 DMEM 完全培养基, 避光孵育, 使用多功能酶标仪检测 450 nm 处各孔吸光度 (A) 值, 并计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{对照}})$$

1.2.4 观察细胞形态变化 将 SiHa 细胞以每孔 2×10^5 个/mL 的密度接种于 6 孔板, 每孔 2 mL 细胞悬液, 培养 24 h。对照组加入含 0.1% DMSO 的 DMEM 培养基, 给药组加入 2、3、4 μ mol/L 重楼皂苷 I。处理 24 h 后, 在光学显微镜下观察 SiHa 细胞的形态变化情况并对结果进行拍照记录。

1.2.5 细胞划痕实验 将 SiHa 细胞以每孔 4×10^5 个/mL 的密度接种于 6 孔板, 每孔 2 mL 细胞悬液。培养 24 h 后, 使用 200 μ L 枪头在 6 孔板底部划出 3 条竖线, 用 PBS 清洗两遍。对照组加入含 0.1% DMSO 和 2%胎牛血清的 DMEM 培养基, 给药组加入 2、3、4 μ mol/L 重楼皂苷 I。分别于 0、24 h 后在显微镜下观察拍照划痕愈合情况, 使用 Image J 和 GraphPad Prism 软件计算划痕愈合率。

1.2.6 Western blotting 实验 将 SiHa 细胞分为对照组和重楼皂苷 I (2、3、4 μ mol/L) 组, 使用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取细胞蛋白, 用 BCA 蛋白浓度试剂盒测量各组蛋白浓度。取变性蛋白样品上样, 4%~20% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白, 在 300 mA 条件下 1 h 将蛋白样品转移

至 PVDF 膜上, 使用快速封闭液封闭 15 min, 其中磷酸化蛋白使用 5% BSA 封闭 1 h。使用 TBST 洗 4 次, ERK、JNK、p38、p-ERK、p-JNK、p-p38、 β -actin 一抗 (稀释比为 1:1 000) 于 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 次日, TBST 洗 4 次 (1:10 000) 室温孵育 1 h, HRP-ECL 法显影, 使用 UVPINC 凝胶成像系统曝光拍照, Image J 软件测灰度值并对结果进行分析。

1.2.7 统计学处理 使用 GraphPad Prism 10 软件进行处理, 所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组数据的比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 重楼皂苷 I 及宫颈癌靶点

将重楼皂苷 I 化合物结构导入 Swiss Target Prediction 数据库, 得到 105 个重楼皂苷 I 治疗疾病的相关靶点。从 GeneCards 和 OMIM 数据库中检索得到 10 822 个宫颈癌相关靶点基因。使用 Venny 2.1 在线网站获得 96 个重楼皂苷 I 与宫颈癌的交集靶基因, 见图 1。

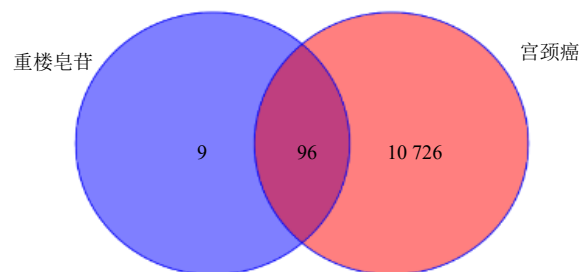


图 1 重楼皂苷 I 与宫颈癌靶点的 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of polyphyllin I and cervical cancer targets

2.2 “重楼皂苷 I - 交集靶点”网络

将 96 个重楼皂苷 I 与宫颈癌的交集靶基因导入 Cytoscape 3.10.0 软件, 构建“重楼皂苷 I - 交集靶点”网络图。如图 2 所示, 重楼皂苷 I 可能通过作用于 96 个宫颈癌靶点发挥宫颈癌防治作用。

2.3 重楼皂苷 I 的 PPI 网络 and 核心靶点图

STRING 数据库获得重楼皂苷 I 抗宫颈癌靶点的 PPI 网络, 去除 1 个游离靶点, 包含 95 个节点和 557 条边。将数据导入 Cytoscape 3.10.0 软件进行网络分析, 发现靶蛋白平均节点 degree 值为 11.7, 超过平均 degree 值的靶蛋白有 35 个, 即为核心靶蛋白, 其中排名前 10 位的靶点为酪氨酸蛋白激酶 (SRC)、表皮生长因子受体 (EGFR)、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、信号传导转录激活因子 3 (STAT3)、V-Jun 肉瘤病毒癌基因同源物重组蛋白 (JUN)、酪



图 2 “重楼皂苷 I - 交集靶点”网络图

Fig. 2 “Polyphyllin I - intersection target” network diagram

氨酸激酶受体 2 (ERBB2)、白细胞介素 (IL)-2、热休克蛋白 90 α 家族 A 类成员 1 (HSP90AA1)、生长因子受体结合蛋白 2 (GRB2)、碱性成纤维细胞生长因子 (FGF2)，见图 3。

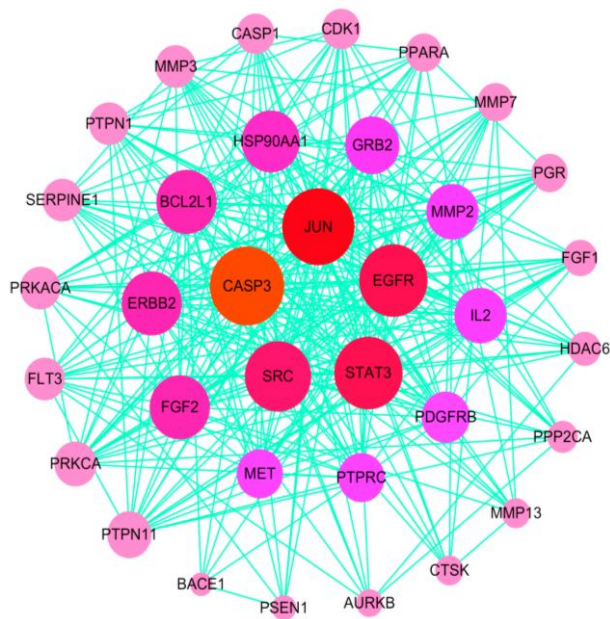


图 3 核心作用靶点 PPI 图

Fig. 3 Core targets of PPI map

2.4 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

GO 功能富集分析显示共富集到 289 个条目，包括 200 项生物过程 (BP)、40 项细胞组分 (CC) 和 49 项分子功能 (MF)。根据 P 值大小和富集基因数目筛选 BP、CC、MF 排名前 10 位的生物学过程，结果显示重楼皂苷 I 对宫颈癌的作用主要涉及

磷酸化、ERK1 和 ERK2 级联的正向调节、细胞迁移的正向调节等 BP，MAP 激酶活性的正向调节、细胞表面受体蛋白酪氨酸激酶信号通路；核、等离子体膜、核质、胞质、线粒体等 CC；蛋白质结合、酶结合、蛋白激酶结合、锌离子结合、蛋白激酶活化等 MF，见图 4。

KEGG 通路富集分析结果显示富集到 99 条信号通路，根据 P 值大小和富集基因数目筛选出前 20 条，主要包括癌症通路、磷酸肌醇-3-激酶 (PI3K) / 蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路、Ras 信号通路、癌症中的蛋白聚糖、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药性等，将上述信号通路进行数据可视化处理得到富集气泡图，见图 5。对其中富集程度及基因数较多的信号通路 (MAPK 信号通路) 进行分析，见图 6。

2.5 分子对接

对 KEGG 富集靶点信号通路 MAPK 的相关靶点蛋白进行分子对接验证。分子对接结果显示重楼皂苷 I 与 ERK、JNK、p38 的结合能分别为 -13.72、-12.74、-16.31 kcal/mol，结合能数据均小于 -5 kcal/mol，表明重楼皂苷 I 与靶点的结合能力较好，见图 7。

2.6 重楼皂苷 I 对 SiHa 细胞活力的影响

CCK-8 检测结果显示，SiHa 细胞的存活率随重楼皂苷 I 浓度的升高而降低 ($P < 0.001$)，表明重楼皂苷 I 以浓度相关地方式抑制宫颈癌细胞增殖，见图 8。本研究选择 2、3、4 $\mu\text{mol/L}$ 重楼皂苷 I 进行后续实验。

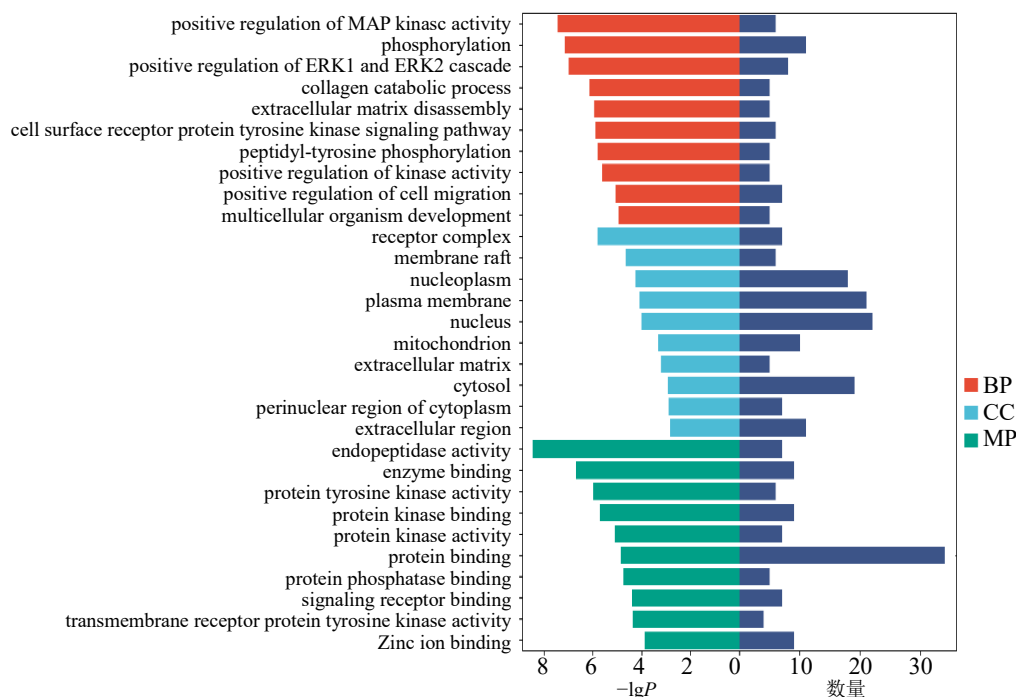


图 4 重楼皂苷 I 抗宫颈癌作用的 GO 富集分析
Fig. 4 GO analysis of the anti-cervical cancer effect of polyphyllin I

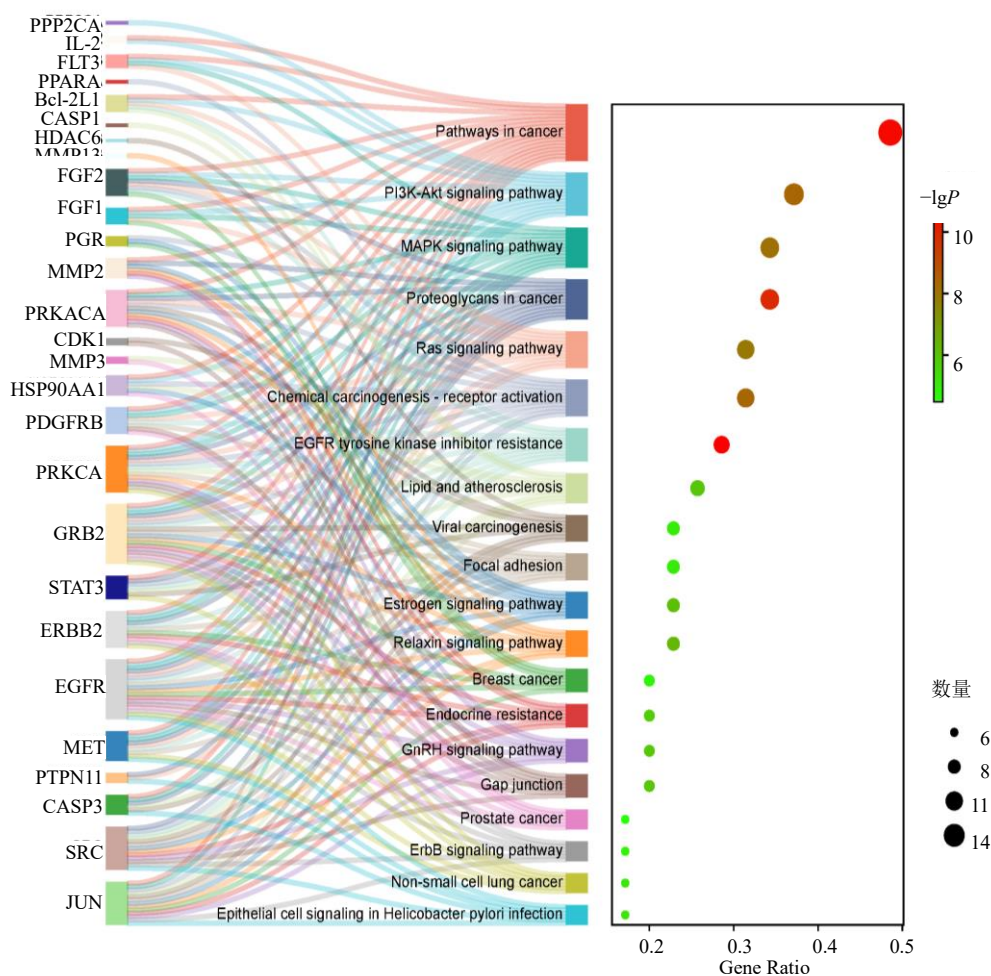


图 5 重楼皂苷 I 抗宫颈癌作用的 KEGG 富集分析
Fig. 5 KEGG enrichment analysis of the anti-cervical cancer effect of polyphyllin I

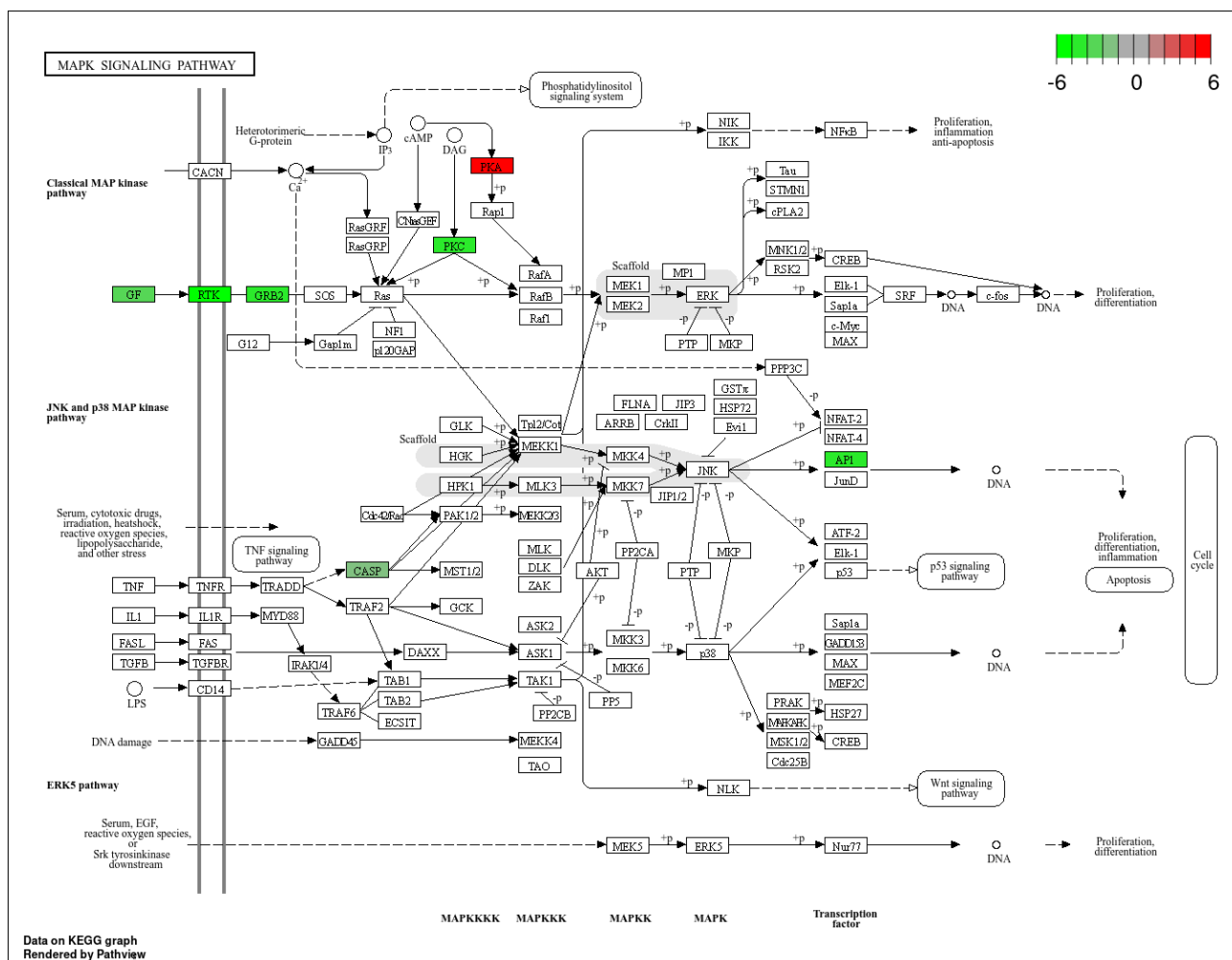


图 6 重楼皂苷 I 抗宫颈癌作用的 MAPK 信号通路

Fig. 6 MAPK signaling pathway of the cervical cancer effect of polyphyllin I

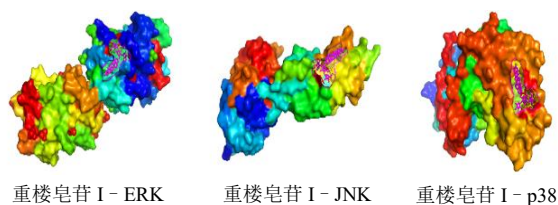
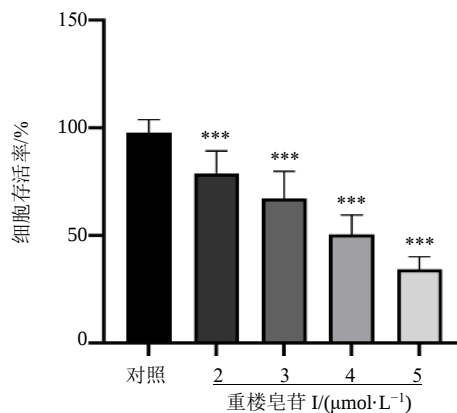


图 7 重楼皂苷 I 与靶点的分子对接图

Fig. 7 Molecular docking diagram between polyphyllin I and targets

2.7 重楼皂苷 I 对 SiHa 细胞形态的影响

对照组 SiHa 细胞大多数呈椭圆形或梭形，外形规则，贴壁生长，细胞间紧密连接。不同质量浓度重楼皂苷 I 处理 24 h 后，SiHa 细胞的生长受到抑制，细胞形态发生改变，其外形逐渐不规则，细胞之间的间隙增大，以及不能贴壁生长并漂浮的细胞增多，见图 9。

与对照组比较: *** $P < 0.001$ 。*** $P < 0.001$ vs control group.图 8 重楼皂苷 I 对 SiHa 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Fig. 8 Effect of polyphyllin I on SiHa cell viability ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

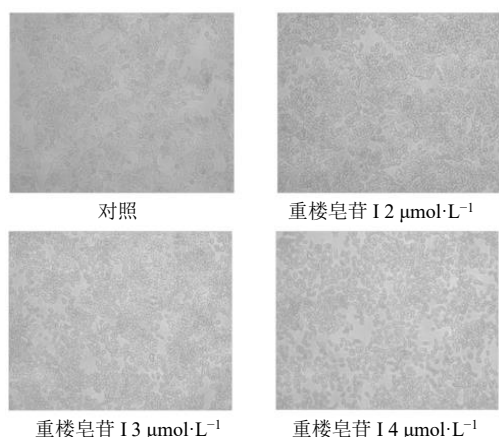


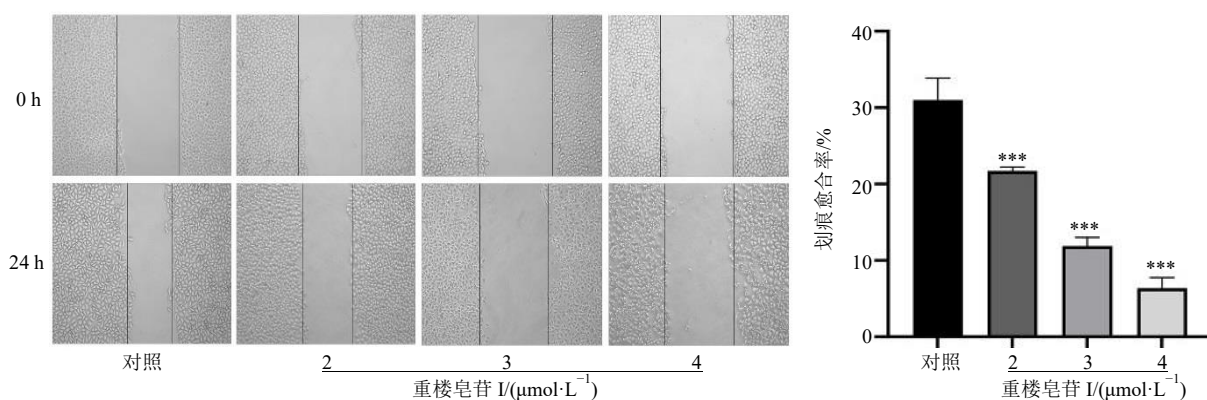
图 9 重楼皂苷 I 对 SiHa 细胞形态的影响 (×100)
Fig. 9 Effect of polyphyllin I on SiHa cell morphology (×100)

2.8 重楼皂苷 I 对 SiHa 细胞划痕愈合的影响

细胞划痕实验结果显示,与对照组相比,使用重楼皂苷 I 干预 SiHa 细胞 24 h 后,随着重楼皂苷 I 浓度的增加,细胞划痕面积的愈合速度逐渐减慢 ($P < 0.001$),重楼皂苷 I 以浓度相关的方式抑制 SiHa 细胞迁移,见图 10。

2.9 重楼皂苷 I 对 SiHa 细胞 MAPK 信号通路蛋白表达的影响

蛋白质印迹法结果显示,与对照组相比,重楼皂苷 3、4 $\mu\text{mol/L}$ 组 p-ERK 和 p-p38 相对蛋白表达水平显著上升 ($P < 0.05$ 、 0.001),重楼皂苷 4 $\mu\text{mol/L}$ 组 p-JNK 相对蛋白表达水平显著上升 ($P < 0.001$)。结果表明重楼皂苷 I 可调节 SiHa 细胞 MAPK 信号通路,见图 11。

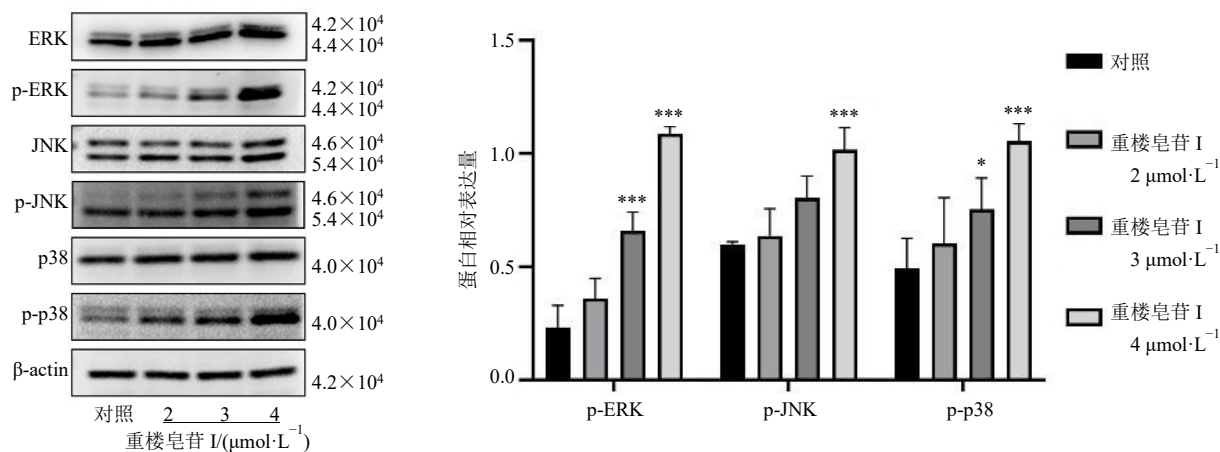


与对照组比较: *** $P < 0.001$ 。

*** $P < 0.001$ vs control group.

图 10 重楼皂苷 I 对 SiHa 细胞划痕愈合的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 10 Effect of polyphyllin I on wound healing of SiHa cell ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



与对照组比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 11 重楼皂苷 I 对 SiHa 细胞蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 11 Effect of polyphyllin I on MAPK signaling pathway protein expression in SiHa cell ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3 讨论

近年来,由于宫颈细胞学的广泛发展,居民生活方式的改变,如戒烟、HPV 疫苗接种、宫颈癌筛查和治疗方式的改进,许多国家宫颈癌的发病率已大幅降低,但中国地区的宫颈癌发病率和死亡率仍呈现上升趋势^[11-12]。因此寻找宫颈癌治疗的新靶点新方法具有重要的现实意义。研究发现,中药单体能通过多靶点、多途径提高机体免疫力、抑制宫颈癌细胞增殖、影响癌细胞周期进程,影响相关细胞因子和转录蛋白以诱导细胞凋亡^[13]。本研究通过网络药理学、分子对接以及结合细胞试验,探究了重楼皂苷 I 对宫颈癌的抑制作用及可能的作用机制。

通过对 PPI 进行网络分析,得到 35 个核心靶点,包括 STAT3、CASP3、JUN、SRC 等。STAT3 信号级联在大约 70% 的肿瘤中处于过度激活状态,活化的 STAT3 可以促进肿瘤细胞增殖、存活、侵袭和转移^[14]。此外,在靶向治疗反应中 STAT3 的反馈激活会导致治疗耐药性^[15]。STAT3 激活途径在 HPV 阳性宫颈疾病中起着至关重要的作用,研究表明 STAT3 可促进 HPV E6/E7 致癌基因表达,促进宫颈癌细胞增殖并抑制其凋亡^[16-17]。因此,阻断 STAT3 功能是一种很有前景的宫颈癌治疗策略。Caspase-3 蛋白由 CASP3 基因编码,是凋亡途径中的关键酶,在肿瘤发生和癌症进展中起着重要作用,从植物提取的药物分子可通过激活 Caspase-3 诱导宫颈癌细胞凋亡^[18-19]。JUN 是 AP-1 转录因子家族成员,负责编码 c-Jun、JunB 和 JunD 蛋白,调节细胞周期和下游促凋亡因子的转录,在宫颈癌中发挥促凋亡作用^[20-21]。

GO 分析结果显示重楼皂苷 I 参与抗宫颈癌的生物过程包括磷酸化、ERK1 和 ERK2 级联的正向调节、MAP 激酶活性的正向调节、细胞迁移的正向调节、蛋白激酶结合和蛋白激酶活化等。KEGG 通路富集分析显示重楼皂苷 I 可能通过 PI3K/Akt 信号通路、MAPK 信号通路等发挥抗宫颈癌作用。HPV 阳性宫颈癌中病毒的 E6/E7 蛋白直接激活 Akt,进一步激活 PI3K 基因扩增和突变,从而促进宫颈癌进展,因此 PI3K/Akt 途径是宫颈癌有前景的治疗靶标^[22]。此外,已经报道了许多研究 PI3K 抑制剂、Akt 抑制剂和 mTOR 抑制剂作为其他类型癌症的潜在药物的研究^[23]。因此,发现和开发抑制 PI3K/Akt 过度活化的新型药物可能有助于提高宫颈癌的治疗效率。丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 是介导细

胞反应的重要信号系统,调节参与环境和发育信号转导触发的一系列细胞反应,包括细胞存活、增殖、分化、炎症、凋亡和耐药等过程^[24]。许多研究表明药物通过介导 MAPK 信号通路抑制宫颈癌细胞的迁移和侵袭,诱导宫颈癌细胞凋亡以及增强宫颈癌化疗疗效^[25-27]。

分子对接结果显示重楼皂苷 I 与 p38、JNK 和 ERK 靶蛋白均有较好结合活性。CCK-8 和细胞划痕实验结果显示重楼皂苷 I 以浓度相关方式抑制宫颈癌细胞的增殖和迁移。Western blotting 结果显示,重楼皂苷 I 处理后 p-JNK、p-p38 和 p-ERK 蛋白表达水平随重楼皂苷 I 处理浓度的升高而逐渐显著上升。综上所述,重楼皂苷 I 可能通过作用于 MAPK 信号通路中的多个靶点发挥抗宫颈癌作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Kombe A J K, Zoa-Assoumou S, Bounda G A, *et al.* Advances in etiopathological role and control of HPV in cervical cancer oncogenesis [J]. *Front Biosci*, 2023, 28(10): 245.
- [3] Tewari, Krishnansu S. Cervical cancer [J]. *New Engl J Med*, 2025, 392(1): 56-71.
- [4] Monk B J, Enomoto T, Kast W M, *et al.* Integration of immunotherapy into treatment of cervical cancer: Recent data and ongoing trials [J]. *Cancer Treat Rev*, 2022, 106: 102385.
- [5] Lontos M, Kyriazoglou A, Dimitriadis I, *et al.* Systemic therapy in cervical cancer: 30 Years in review [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2019, 137: 9-17.
- [6] 王嘉乐, 杨青淑, 江媛, 等. 重楼道地性研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(8): 2572-2581.
- [7] 王璇, 陈林珍, 林瑞超, 等. 重楼皂苷 I 对斑马鱼发育毒性、抗血管新生活性及其机制研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(14): 4548-4555.
- [8] 程卉, 苏婧婧, 候会洁, 等. 重楼皂苷 I 抗宫颈癌 HeLa 细胞作用及机制研究 [J]. *中药材*, 2013, 36(11): 1815-1819.
- [9] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的应用与挑战 [J]. *中草药*, 2024, 55(12): 4204-4213.
- [10] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.

- [11] Yan H J, Wang Q K, Qiao Y L. Cervical cancer prevention in China: Where are we now, and what's next? [J]. *Cancer Biol Med*, 2024, 21(3): 213-217.
- [12] Buskwofie A, David-West G, Clare C A. A Review of cervical cancer: Incidence and disparities [J]. *J Natl Med Assoc*, 2020, 112(2): 229-232.
- [13] 吴露冰. 中药及其单体治疗宫颈人乳头瘤病毒感染宫颈癌的研究进展 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2020, 29(14): 1593-1596.
- [14] Johnson D E, O'Keefe R A, Grandis J R. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(4): 234-248.
- [15] Strobel T D, Weber M, Heber N, *et al*. Revisiting the role of endogenous STAT3 in HPV-positive cervical cancer cells [J]. *J Med Virol*, 2023, 95(11): e29230.
- [16] Wu L, Shen B W, Li J P, *et al*. STAT3 exerts pro-tumor and anti-autophagy roles in cervical cancer [J]. *Diagn Pathol*, 2022, 17(1): 13.
- [17] Morgan E L, Macdonald A. Manipulation of JAK/STAT signalling by high-risk HPVs: Potential therapeutic targets for HPV-associated malignancies [J]. *Viruses*, 2020, 12(9): 977.
- [18] Shoaib S, Tufail S, Sherwani M A, *et al*. Phenethyl isothiocyanate induces apoptosis through ROS generation and Caspase-3 activation in cervical cancer cells [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 673103.
- [19] Zhou Z, Xu S Y, Jiang L H, *et al*. A systematic pan-cancer analysis of CASP3 as a potential target for immunotherapy [J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 9: 776808.
- [20] Zeng J Q, Zheng Y L, Dong S, *et al*. Andrographolide inhibits Burkitt's lymphoma by binding JUN and CASP3 proteins [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2024, 93(4): 381-391.
- [21] Lu Z, Chen H, Zheng X-M, *et al*. Experimental study on the apoptosis of cervical cancer HeLa cells induced by juglone through c-Jun N-terminal kinase/c-Jun pathway [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2017, 10(6): 572-575.
- [22] Tan B, Wikan N, Lin S, *et al*. Inhibitory actions of oxyresveratrol on the PI3K/AKT signaling cascade in cervical cancer cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 170: 115982.
- [23] Peng Y, Wang Y Y, Zhou C, *et al*. PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: Are we making headway? [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 819128.
- [24] Guo Y J, Pan W W, Liu S B, *et al*. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3): 1997-2007.
- [25] Lee C Y, Chen P N, Kao S H, *et al*. Deoxyshikonin triggers apoptosis in cervical cancer cells through p38 MAPK - mediated caspase activation [J]. *Environ Toxicol*, 2024, 39(9): 4308-4317.
- [26] Hu Y, Hu C. Enhancement of chemotherapy efficacy in cervical cancer via MAPK pathway inhibition by osimertinib [J]. *Cancer Invest*, 2024, 42(5): 425-434.
- [27] Chen C L, Wang Y X, Chen S, *et al*. Genistein inhibits migration and invasion of cervical cancer HeLa cells by regulating FAK-paxillin and MAPK signaling pathways [J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2020, 59(3): 403-408.

[责任编辑 高源]