

基于网络药理学及体外实验探讨人参皂苷 Rg₁ 调控铁死亡治疗慢性髓系白血病的作用机制

吴 淳¹, 王 瑞², 张成桂^{2,3}, 刘 衡^{2,3}, 周 玥^{1*}, 陈先鹏¹, 白志圆¹, 田 露¹³

1. 大理大学 医学部, 云南 大理 671000

2. 大理大学 云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 云南 大理 671000

3. 大理大学 药用特种昆虫开发国家地方联合工程研究中心, 云南 大理 671000

摘要: 目的 基于网络药理学及体外实验探讨人参皂苷 Rg₁ 调控铁死亡抑制慢性髓系白血病的作用机制。方法 运用 CTD、GeneCards、HERB 数据库筛选人参皂苷 Rg₁ 和慢性髓系白血病靶点; 采用 FerrDb V2 数据库获取铁死亡驱动与抑制靶点; 通过 Venn 图获得交集靶点; 使用 STRING 数据库和 Cytoscape 构建蛋白质相互作用 (PPI) 网络; 利用 DAVID 数据库对交集靶点进行基因本体 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析; 通过微信在线作图平台进行可视化, 并针对预测结果进行体外实验验证。采用 CCK-8 法和集落形成实验检测人参皂苷 Rg₁ 作用后 K562 细胞增殖和分化能力影响; 流式细胞术分析细胞周期分布; FerroOrange 荧光探针检测细胞内 Fe²⁺ 水平; BODIPY 581/591 C11 荧光探针检测细胞脂质过氧化水平; 透射电镜观察细胞线粒体形态变化。采用蛋白免疫印迹法和荧光定量 PCR 检测肿瘤蛋白 p53(p53)、亚精胺/精胺 N1-乙酰转移酶 1 (SAT1) 和花生四烯酸 15-脂氧合酶 (ALOX15) 蛋白和 mRNA 的表达水平。**结果** 网络药理学结果表明, 与铁死亡相关的人参皂苷 Rg₁、慢性髓系白血病共同作用靶点 26 个, 靶基因显著富集于癌症途径和 p53 信号通路等。实验结果表明, 与对照组比较, 人参皂苷 Rg₁ 显著升高 K562 细胞增殖抑制率 ($P<0.05$)。人参皂苷 Rg₁ 20 μmol/L 作用 48 h 后, 线粒体体积缩小、膜密度增加、线粒体嵴密度降低、融合甚至消失; K562 细胞集落形成数减少 ($P<0.01$); G₀/G₁ 期比例显著升高, S 期比例降低 ($P<0.001$), G₂/M 期比例升高 ($P<0.01$); K562 细胞内 Fe²⁺、脂质 ROS 含量显著增高 ($P<0.01$ 、 0.001); K562 细胞 p53、SAT1、ALOX15 蛋白和 mRNA 的表达显著上调 ($P<0.01$ 、 0.001)。**结论** 人参皂苷 Rg₁ 抑制慢性髓系白血病细胞增殖可能与调控 p53/SAT1/ALOX15 信号通路诱导铁死亡有关。

关键词: 人参皂苷 Rg₁; 慢性髓系白血病; 铁死亡; 肿瘤蛋白 53; 亚精胺/精胺 N1-乙酰转移酶 1; 花生四烯酸 15-脂氧合酶

中图分类号: R286.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2026)01 - 0019 - 10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.01.003

Mechanism of ginsenoside Rg₁ in treatment of chronic myeloid leukemia by regulating ferroptosis based on network pharmacology and *in vitro* experiments

WU Ting¹, WANG Rui², ZHANG Chengui^{2, 3}, LIU Heng^{2, 3}, ZHOU Yue¹, CHEN Xianpeng¹, BAI Zhiyuan¹, TIAN Lu¹

1. Faculty of Medicine, Dali University, Dali 671000, China

2. Yunnan Provincial Key Laboratory of Insect Biopharmaceutical R&D, Dali University, Dali 671000, China

3. National-Local Joint Engineering Research Center for Exploitation and Utilization of Medicinal Insects, Dali University, Dali 671000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism by which ginsenoside Rg₁ regulates ferroptosis to inhibit chronic myeloid leukemia based on network pharmacology and *in vitro* experiments. **Methods** CTD, GeneCards and HERB databases were used to screen the targets of ginsenoside Rg₁ and chronic myeloid leukemia. FerrDb V2 database was adopted to obtain the genes driving and inhibiting ferroptosis. The intersection targets were obtained through Venn diagram. STRING database and Cytoscape were used to construct the PPI network. DAVID database was utilized to conduct GO functional and KEGG pathway enrichment analysis on the intersection

收稿日期: 2025-10-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81860038)

作者简介: 吴 淳, 硕士研究生, 从事肿瘤细胞生物学研究。E-mail: 1835860263@qq.com

*通信作者: 周 瑥, 教授, 博士生导师, 从事中药药理学研究。E-mail: zhouyue_120@sina.com

targets. Visualization was performed through the online drawing platform of Microbiomics, and *in vitro* experiments were conducted to verify the prediction results. CCK-8 assay and colony formation assay were used to detect the effects of ginsenoside Rg₁ on the proliferation and differentiation ability of K562 cells. Flow cytometry was used to analyze the cell cycle distribution. FerroOrange fluorescent probe was used to detect the intracellular Fe²⁺ level. BODIPY 581/591 C11 fluorescent probe was used to detect the level of lipid peroxidation in cells. Transmission electron microscopy was used to observe the morphological changes of mitochondria. Western blotting and qPCR were used to detect the expression levels of p53, SAT1, and ALOX15 proteins and mRNAs. **Results** Results of network pharmacology indicate that there are 26 common target sites for the iron death-related ginsenoside Rg₁ and chronic myeloid leukemia, and the target genes are significantly enriched in cancer pathways and p53 signaling pathways, etc. The experimental results showed that compared with the control group, ginsenoside Rg₁ significantly increased the proliferation inhibition rate of K562 cells ($P < 0.05$). After 48 hours of treatment with ginsenoside Rg₁ 20 μmol/L, the mitochondrial volume decreased, the membrane density increased, the density of mitochondrial cristae decreased, fusion even disappeared; the number of K562 cell colonies decreased ($P < 0.01$); the proportion of G₀/G₁ phase significantly increased, the proportion of S phase decreased ($P < 0.001$), and the proportion of G₂/M phase increased ($P < 0.01$); the content of Fe²⁺ and lipid ROS in K562 cells significantly increased ($P < 0.01, 0.001$), the expression of p53, SAT1, ALOX15 protein and mRNA in K562 cells was significantly upregulated ($P < 0.01, 0.001$). **Conclusion** Ginsenoside Rg₁ inhibits the proliferation of leukemia K562 cells, which may be related to the induction of ferroptosis via regulation of the p53/SAT1/AOX15 signaling pathway.

Key words: ginsenoside Rg₁; chronic myeloid leukemia; ferroptosis; p53; SAT1; ALOX15

慢性髓系白血病是一种以费城染色体为特征的血液系统恶性肿瘤，其特征为髓系细胞异常增生^[1]。慢性髓系白血病起病隐匿，恶性程度高，预后不良。目前，慢性髓系白血病临床治疗主要包括放化疗、干细胞移植及免疫治疗等，其中以放化疗为主^[2]。由于化疗药物在杀伤白血病细胞的同时也杀伤人体正常细胞，且白血病细胞对化疗药物易产生耐药性是白血病治疗所面临的重大难题^[3]。因此，探索慢性髓系白血病的发病机制，寻找新型安全有效的白血病治疗药物具有重要的临床意义。

铁死亡是一种铁依赖性的程序性细胞死亡形式，其发生机制与细胞内脂质过氧化物及致死性活性氧（ROS）的生成与降解平衡失调密切相关^[4-5]。白血病细胞对铁的需求显著高于正常细胞，对铁死亡具有更高的易感性^[6]。研究表明，诱导急性髓系白血病细胞发生铁死亡可有效抑制白血病的恶性进展^[7]。肿瘤蛋白 53 (p53) / 亚精胺/精胺 N1-乙酰转移酶 1 (SAT1) / 花生四烯酸 15-脂氧合酶 (ALOX15) 是调节铁死亡的关键通路，p53 激活后与 SAT1 基因启动子结合，促进其转录表达，SAT1 通过乙酰化多胺代谢产物激活脂质过氧化关键酶 ALOX15，调控铁死亡发生^[8]。

人参皂苷 Rg₁ 是人参的重要活性成分之一，对造血系统和免疫系统功能有明确促进作用，在抗氧化、抗肿瘤、抗辐射损伤等方面也显示良好的功效^[9-10]。本课题组前期研究发现，人参皂苷 Rg₁

对人慢性髓系白血病细胞 (K562) 具有较好的增殖抑制作用，人参皂苷 Rg₁ 通过激活 ATR/Chk1 信号通路抑制 K562 细胞增殖^[11]。本研究结合网络药理学，以 K562 细胞为实验对象，分析人参皂苷 Rg₁ 通过调控铁死亡抑制 K562 细胞增殖的可能作用机制，旨在为临床白血病药物研究提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞

K562 细胞系由齐氏生物科技有限公司提供。

1.2 试剂

人参皂苷 Rg₁ (质量分数 $\geq 98\%$ ，批号 PRF22040803) 购自成都普瑞法科技开发有限公司；RPMI1640 培养基 (批号 C0039) 购自美仑生物公司。胎牛血清 (批号 2025067) 购自 Vivacell 公司。磷酸盐缓冲液 (批号 P1003) 购自北京索莱宝科技公司。CCK8 试剂盒 (批号 MA0218) 购自大连美仑生物科技有限公司。细胞周期检测试剂盒 (批号 KGA512) 购自 KeyGEN BioTECH 公司。Lipid Peroxidation Probe -BDP 581/591 C11 试剂 (批号 L267) 购自 DOJINDO 公司。p53 兔来源抗体 (批号 10442-1-AP) 购自 Proteintech 公司。SAT1 兔来源抗体 (批号 ab105220) 购自 Abcam 公司。ALOX15 兔来源抗体 (批号 ab244205) 购自 Abcam 公司。羊抗兔抗体购自上海碧云天生物技术股份有限公司。Hifair® III 1st Strand cDNA Synthesis Kit(gDNA digester plus) (批号 11139ES10) 购自 YEASEN 公

司。Hieff UNICON® Universal Blue Qpcr SYBR Green Master Mix (批号 11184ES03) 购自 YEASEN 公司。

1.3 仪器

YXQ-50S1 立式压力蒸汽灭菌锅(上海博迅医疗生物仪器公司), BSC-1301IIA2 生物安全柜(苏州安泰空气技术有限公司), MCO-18AIC CO₂ 培养箱(Sanyo 公司), AE-H8547 细胞计数板(上海善然生物科技有限公司), AE31 倒置显微镜(Motic 公司), CytoFLEX 流式细胞仪(Beckman 公司), JEM1400 透射电镜(日本电子公司), iMARK 多功能酶标仪、垂直板电泳转移装置、Trans-Blot 转膜装置电泳仪(Bio-Rad 公司)。Tanon-4200 凝胶成像系(上海天能科技有限公司)。

2 网络药理学研究方法

2.1 人参皂苷 Rg₁、慢性髓系白血病及铁死亡基因靶点筛选

使用比较毒理基因组学数据库(CTD, <http://ctd.mdibl.org>)、基因信息数据库(GeneCards, <https://www.genecards.org/>)、本草图鉴(HERB, <http://herb.ac.cn>)检索人参皂苷 Rg₁ 的潜在作用靶点。利用 GeneCards 数据库以“chronic myeloid leukemia”作为疾病关键词进行检测,由于数据过于庞大,取 3 次“相关分数”的中位数进行筛选,生成慢性髓系白血病靶点数据集。从 FerrDb V2 数据库(<http://www.zhounan.org/ferrdb/current/>)下载铁死亡驱动与抑制基因。将三者的靶点导入在线 Venn 工具(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>), 获取交集靶点。

2.2 蛋白质相互作用(PPI) 网络构建

取交集靶点导入 STRING 数据库(<https://string-db.org>), 设定物种参数“homo sapiens”, 互作置信度 0.400 进行 PPI 分析, 运用 Cytoscape 绘制可视化网络。

2.3 基因本体(GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG) 通路分析

采用 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>) 对交集靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析, 生物种类设定为“homo sapiens”, 标识符选择为“official gene symbol”, 设置 $P<0.05$, 并将 P 值按从小到大的顺序排列, 富集结果通过微生信在线作图平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 生成可视化图表。

3 细胞实验研究方法

3.1 细胞培养

用含 10% FBS 和 1% 青链霉素的 RPMI1640 培养基, 将 K562 细胞置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养。每 2~3 天培养传代及冻存, 取对数生长期细胞。

3.2 CCK-8 法检测细胞增殖情况

将 K562 细胞以 1×10^5 个/mL 的密度接种于 96 孔板中, 对照组为常规培养的 K562 细胞, 加入与人参皂苷 Rg₁ 等量的 PBS, 人参皂苷 Rg₁ 组分别加入 5、10、20、40、80 μmol/L 人参皂苷 Rg₁, 每组设 5 个复孔, 另设不含细胞的空白组, 共同置于培养箱中过夜, 培养 24、48、72 h 后加入 CCK-8 试剂, 于培养箱孵育 2 h, 酶标仪 450 nm 波长处检测吸光度(A)值, 计算细胞增殖抑制率。

$$\text{细胞增殖抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{人参皂苷 Rg1}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

3.3 集落形成实验检测细胞集落形成率

取对数生长期细胞, 以 500 个/孔的密度接种于 24 孔板内, 置于培养箱中孵育 7 d。细胞分为对照组(PBS) 和人参皂苷 Rg₁ 20 μmol/L 组培养 48 h, 在倒置显微镜下观察各组细胞数量, 细胞数 >50 个为 1 个集落, 计算细胞集落形成率。

$$\text{细胞集落形成率} = \text{细胞平均集落数} / \text{每孔加入的细胞数}$$

3.4 流式细胞术分析细胞周期

细胞分组及处理同 3.3 项下, 沉淀固定后用预冷的 PBS 洗涤, 弃上清, 碘化丙啶染色液重悬细胞沉淀, 37 °C 避光温浴 30 min, 随后 4 °C 或冰浴避光保存, 运用流式细胞仪检测激发波长 488 nm 处的红色荧光及光散射情况。

3.5 流式细胞术检测 Fe²⁺水平

取对数生长期 K562 细胞以 500 个/孔的密度接种于 6 孔板, 分组及细胞处理同 3.3 项下。无血清培养基洗涤细胞 3 次, 加入 300 μL 1 μmol/L FerroOrange 工作液, 培养箱中孵育 15~30 min, 进行荧光亚铁离子流式检测, 使用 532 nm 绿色激光激发 FerroOrange。

3.6 流式细胞术检测脂质 ROS 水平

分组及细胞处理同 3.3 项下, 添加 BDP 581/591 C11 工作液, 培养箱内培养 30 min, 去除工作液, PBS 清洗 2 次后, 加入 200 μL PBS 溶液。

3.7 透射电镜观察线粒体形态变化

分组及细胞处理同 3.3 项下, K562 细胞离心弃上清, PBS 洗涤后加入 2.5% 戊二醛室温避光固定 30 min, 再用 1% 铬酸固定 2 h。梯度乙醇脱水, 环

氧丙烷与环氧树脂 1:1 浸透，纯环氧树脂包埋、切片，电子染色（铅染色）。电镜观察线粒体形态并拍摄保存。

3.8 Western blotting 检测 p53、SAT1、ALOX15 蛋白表达的情况

分组及细胞处理同 3.3 项下，裂解液裂解细胞，提取并测定蛋白浓度，进行 SDS-PAGE 电泳、转膜后封闭，一抗（1:1 000）4 ℃孵育过夜，TBST 洗涤 3 次（每次 5 min），二抗（1:1 000）室温孵育 1 h，重复 TBST 清洗 3 次（每次 5 min），加入 ECL 曝光液反应，应用凝胶成像系统进行显影处理，Image J 软件分析蛋白条带灰度值。

3.9 荧光定量 PCR 检测 p53、SAT1、ALOX15 mRNA 表达的情况

分组及细胞处理同 3.3 项下，K562 细胞提取 RNA，采用超微量分光光度计测定 RNA 的质量和浓度，将 RNA 逆转录成 cDNA，进行 qPCR 反应，反应条件设置为 95 ℃预变性 2 min, 95 ℃变性 10 s, 60 ℃退火 30 s, 40 个循环收集荧光信号，利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算 mRNA 相对表达量，引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因名称	引物序列（5'-3'）	扩增长度/bp
<i>p53</i>	正向: TGTGACTTGCACGTACTCCC	199
	反向: ACCATCGCTATCTGAGCAGC	
<i>SAT1</i>	正向: AGTGACATACTCGGGCTGAT	176
	反向: CCAACAAATGCTGTGTCCTTCC	
<i>ALOX15</i>	正向: CAACCACCAAGGATGCAACG	124
	反向: CCCACAGGCCACCATAACGG	
<i>GAPDH</i>	正向: AGATCCCTCCAAAATCAAGTGG	130
	反向: GGCAGAGATGATGACCCTTTT	

3.10 统计学分析

运用 SPSS 20.0 和 GraphPad Prism 9.0 完成数据分析和绘图，多组间采用单因素方差分析，组间比较通过独立样本 *t* 检验，结果以 $\bar{x} \pm s$ 呈现。

4 结果

4.1 网络药理学分析结果

通过多数据库联合分析，共获得人参皂苷 Rg₁ 靶点 155 个，慢性髓系白血病靶点 1 757 个，铁死亡靶点 395 个。Venn 分析筛选出人参皂苷 Rg₁ 与慢性髓系白血病、铁死亡共同作用靶点 26 个，见图 1，包括核因子 E2 相关因子 2 (NFE2L2)、转化生

长因子-β1 (TGF-β1)、糖原合成酶激酶 3β (GSK3B)、血红素氧化酶 1 (HMOX1)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、微 RNA-214 (MIR214)、cAMP 反应元件结合蛋白 1 (CREB1)、丝裂原活化蛋白激酶 8 (MAPK8)、肿瘤蛋白 p53 (TP53)、丝氨酸/苏氨酸激酶 11 (STK11)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A (CDKN1A)、沉默信息调节因子 1 (SIRT1)、ATP 结合盒转运蛋白 C1 (ABCC1)、白细胞介素-1β (IL-1B)、磷酸酶和张力蛋白同源物 (PTEN)、雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)、共济失调毛细血管扩张突变蛋白 (ATM)、白细胞介素-6 (IL-6)、醌氧化还原酶 1 (NQO1)、磷脂酰肌醇 3-激酶催化亚基 α (PIK3CA)、钙粘蛋白 E (CDH1)、干扰素 γ (IFNG)、热休克蛋白 A5 (HSPA5)、窖蛋白-1 (CAV1)、丝裂原活化蛋白激酶 3 (MAPK3)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2A (CDKN2A)。将交集靶点输入 STRING 数据库构建 PPI 网络，见图 2。将网络信息导入 Cytoscape 进行可视化，见图 3，网络图中 TP53 degree 值最高，靶点紧密中心性、介数中心性、degree 值见表 2。利用 DAVID 数据库进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析，结果经微生信平台可视化。GO 分析显示，靶点主要富集于生物过程的基因表达的正向调控等、细胞组分的细胞质等以及分子功能的酶结合等，见图 4。KEGG 分析表明，靶点显著富集于癌症途径、p53 信号通路等，见图 5。基于上述多组学证据，推测人参皂苷 Rg₁ 可能通过调控 p53 信号通路介导铁死亡，发挥抗慢性髓系白血病的作用。

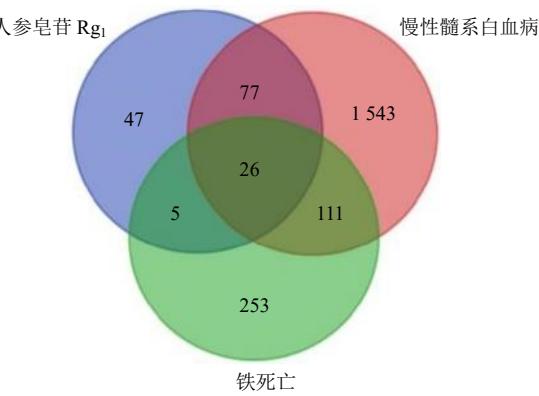


图 1 人参皂苷 Rg₁、慢性髓系白血病、铁死亡交集靶点的韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of the intersection target of ginsenoside Rg₁, chronic myeloid leukemia and ferroptosis

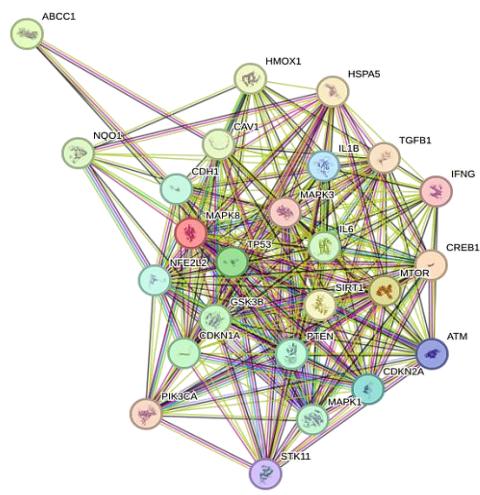


图2 交集靶点 PPI
Fig. 2 Intersection Target PPI

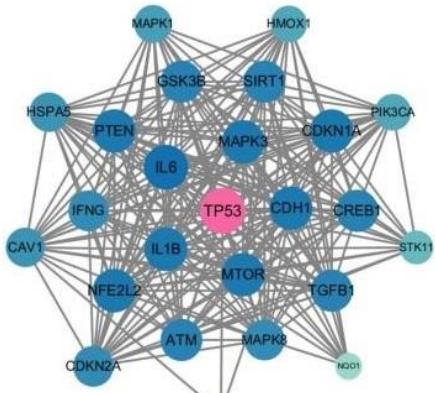


图3 可视化 PPI 网络图
Fig. 3 Visualized PPI network diagram

4.2 细胞实验结果

4.2.1 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞增殖抑制能力的影响 不同浓度人参皂苷 Rg₁ 处理 K562 细胞 24、48、72 h 后, 与对照组相比, 细胞增殖抑制率明显升高 ($P<0.05$), 以 20 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rg₁ 作用 48 h 时, 抑制效果最显著, 因此选择该作用浓度和时间进行后续实验, 见表 3。

4.2.2 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞集落形成能力的影响 与对照组相比, 人参皂苷 Rg₁ 组 K562 细胞集落形成数减少 ($P<0.01$), 提示人参皂苷 Rg₁ 能够降低 K562 细胞集落形成能力, 见图 6、表 4。

4.2.3 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞周期分布的影响 与对照组比较, 人参皂苷 Rg₁ 组细胞 G₀/G₁ 期比例显著升高, S 期比例降低 ($P<0.001$), G₂/M 期比例升高 ($P<0.01$), 提示人参皂苷 Rg₁ 阻滞 K562 细

表2 核心靶点分析
Table 2 Core target analysis

靶点	紧密中心性	介数中心性	degree 值
TP53	1.000 000	0.042 118	24
IL-6	0.960 000	0.011 321	23
PTEN	0.923 077	0.005 757	22
CDKN1A	0.923 077	0.009 951	22
NFE2L2	0.923 077	0.005 757	22
mTOR	0.923 077	0.010 958	22
IL-1B	0.923 077	0.009 490	22
MAPK3	0.923 077	0.005 757	22
CDH1	0.923 077	0.029 535	22
CREB1	0.888 889	0.007 028	21
GSK3B	0.888 889	0.008 476	21
TGF-β1	0.888 889	0.010 296	21
SIRT1	0.888 889	0.004 839	21
ATM	0.888 889	0.004 172	21
CDKN2A	0.857 143	0.003 448	20
MAPK8	0.857 143	0.002 585	20
IFNG	0.857 143	0.003 195	20
HSPA5	0.827 586	0.004 904	19
CAV1	0.827 586	0.022 910	19
MAPK1	0.800 000	0.001 432	18
HMOX1	0.774 194	0.002 012	17
PIK3CA	0.774 194	0.003 646	17
STK11	0.727 272	0.000 386	15
NQO1	0.631 579	0.000 173	10
ABCC1	0.533 333	0.000 000	3

胞于 G₀/G₁ 期, 细胞增殖能力下降, 见图 7。

4.2.4 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞 Fe²⁺ 的影响 结果显示, 与对照组比较, 人参皂苷 Rg₁ 组相对 Fe²⁺ 含量升高 ($P<0.001$), 提示人参皂苷 Rg₁ 作用后, 细胞内 Fe²⁺ 含量积累, 见图 8。

4.2.5 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞脂质 ROS 的影响 与对照组比较, 人参皂苷 Rg₁ 组 K562 细胞绿红荧光比值升高, 脂质 ROS 相对含量增加 ($P<0.01$), 提示人参皂苷 Rg₁ 能够增加 K562 细胞脂质过氧化水平, 见图 9。

4.2.6 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞线粒体形态的影响 超微结构显示, 与对照组比较, 人参皂苷 Rg₁ 组 K562 细胞内线粒体体积缩小, 膜密度增加, 线粒体嵴密度降低、融合甚至消失, 提示人参皂苷 Rg₁ 作用后, 细胞内出现了铁死亡形态学变化, 见图 10。

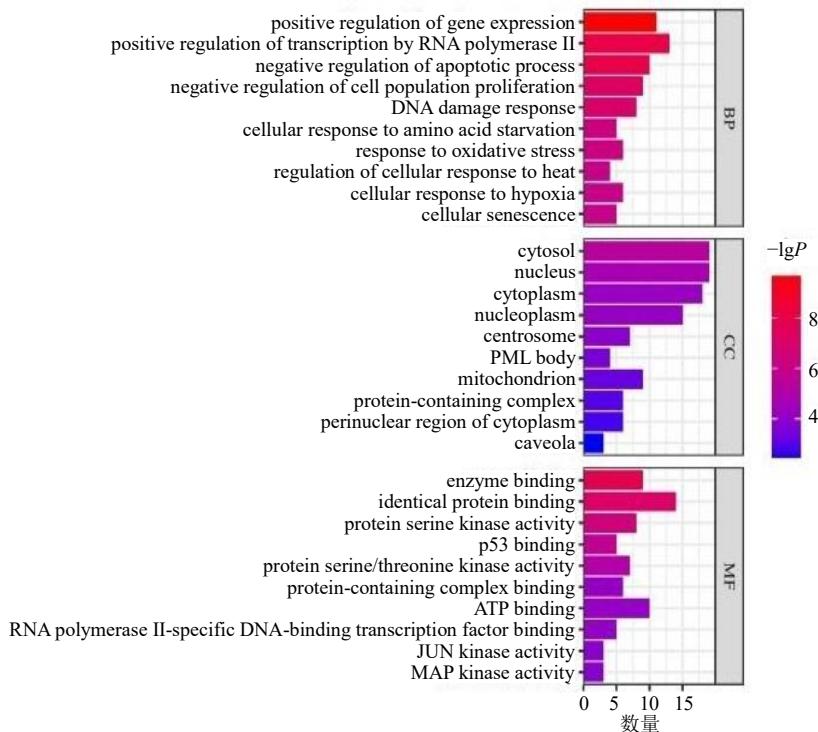


图 4 GO 功能富集分析

Fig. 4 GO function enrichment analysis

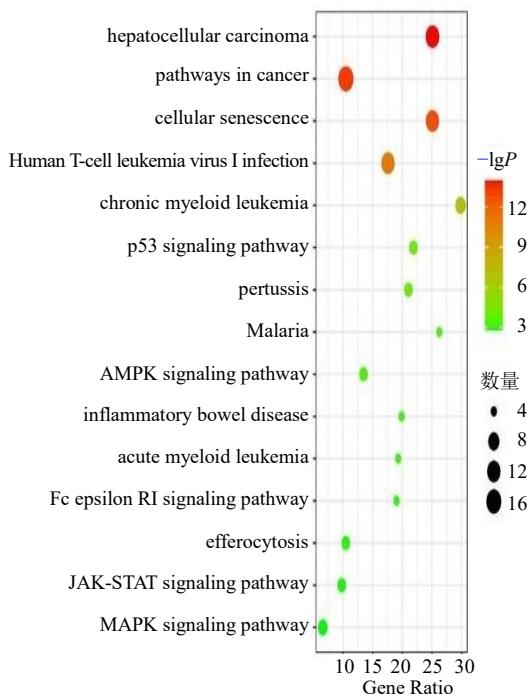


图 5 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 KEGG enrichment pathways analysis

4.2.7 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞 p53、SAT1、ALOX15 蛋白表达的影响 与对照组比较，人参皂苷 Rg₁ 组 K562 细胞 p53、SAT1、ALOX15 蛋白表达水平均显著上调 ($P<0.01$ 、 0.001)，见图 11。

表 3 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞增殖抑制率的影响
($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 3 Effects of ginsenoside Rg₁ on the cell proliferation inhibition rate of K562 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	细胞增殖抑制率/%		
		24 h	48 h	72 h
对照	—	—	—	—
人参皂苷 Rg ₁	5	6.04±0.29*	8.15±0.31*	13.55±0.39*
	10	9.24±0.26*	14.48±0.49*	19.59±0.39*
	20	22.06±0.21*	29.63±0.44*	24.41±0.32*
	40	5.96±0.23*	6.70±0.39*	9.94±0.28*
	80	5.55±0.40*	6.02±0.20*	5.64±0.17*

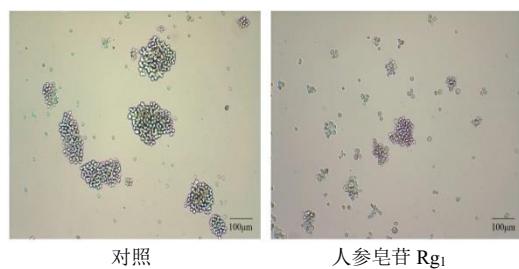
与对照组比较: * $P<0.05$ 。 $*P<0.05$ vs control group.图 6 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞集落的影响 (×200)Fig. 6 Effects of ginsenoside Rg₁ on the colony formation of K562 cells (×200)

表4 人参皂苷 Rg₁对K562 细胞集落形成能力的影响
($\bar{x} \pm s$, n=3)

Table 4 Effects of ginsenoside Rg₁ on the colony formation capacity of K562 cells ($\bar{x} \pm s$, n=3)

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	集落形成率/%
对照	—	90.80±4.81
人参皂苷 Rg ₁	20	73.00±2.69**

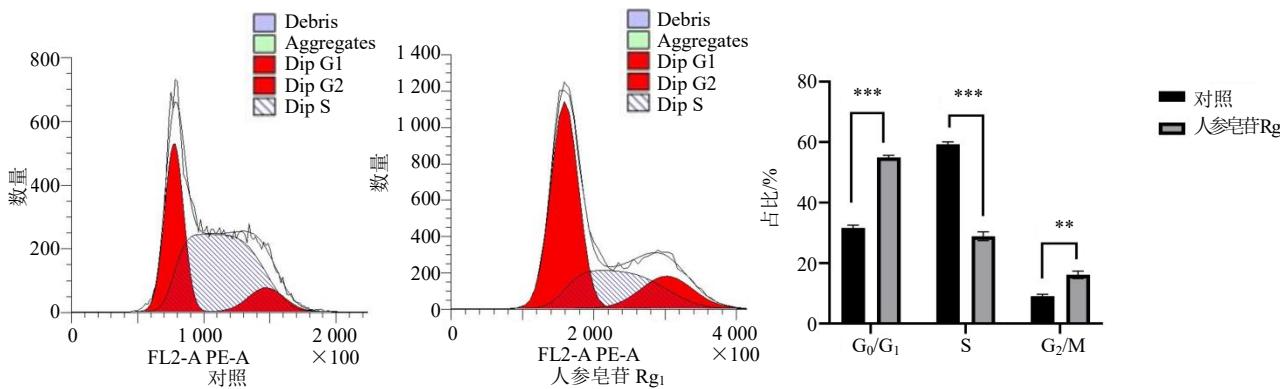
与对照组比较: **P<0.01。

**P<0.01 vs control group.

4.2.8 人参皂苷 Rg₁对K562 细胞 p53、SAT1、ALOX15 mRNA 表达的影响 与对照组比较, 人参皂苷 Rg₁组 p53、SAT1、ALOX15 mRNA 表达水平明显上调 ($P<0.001$), 见图 12。

5 讨论

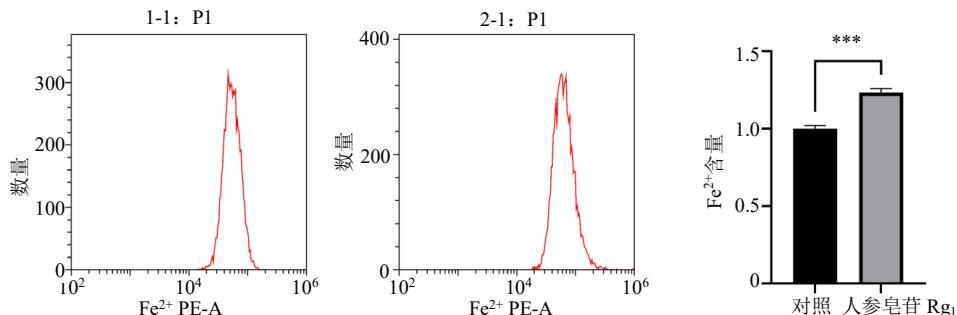
慢性髓系白血病是一种造血干细胞恶性增殖肿瘤, 在各类白血病发病率中位于第3位^[12]。酪氨酸激酶抑制剂(TKI)作为慢性髓系白血病的一线治疗药物显著改善了患者生存预后^[13]。然而, TKI 治



与对照组比较: **P<0.01 ***P<0.001。

P<0.01 *P<0.001 vs control group.

图7 人参皂苷 Rg₁对K562 细胞周期分布的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=3)
Fig. 7 Effects of ginsenoside Rg₁ on the cell cycle of K562 cells ($\bar{x} \pm s$, n=3)



与对照组比较: ***P<0.001。

***P<0.001 vs control group.

图8 人参皂苷 Rg₁对K562 细胞 Fe²⁺含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=3)
Fig. 8 Effects of ginsenoside Rg₁ on Fe²⁺ content in K562 cells ($\bar{x} \pm s$, n=3)

疗在清除白血病细胞的同时还会损伤机体正常细胞, 且耐药复发率高, 临床预后不良。因此寻找安全有效、不良反应小的药物是慢性髓系白血病药物研究的关键问题。人参皂苷 Rg₁是从中药人参的根茎中分离提取的化合物, 已被证实具有抗肿瘤活性, 其作用机制涵盖诱导肿瘤细胞凋亡、逆转肿瘤

细胞耐药性、清除氧自由基以及有效抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭能力。研究发现人参皂苷 Rg₁可通过触发急性髓系白血病干细胞发生 G₁ 期细胞周期阻滞, 从而抑制其增殖^[14-15]。

网络药理学广泛应用于解析中草药活性成分与疾病的作用机制。本研究基于此方法筛选出 26 个

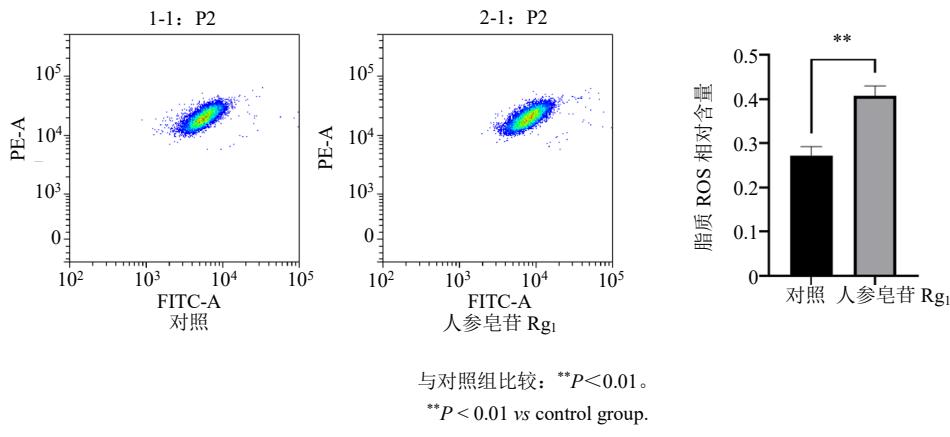


图 9 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞脂质 ROS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 9 Effects of ginsenoside Rg₁ on lipid ROS in K562 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

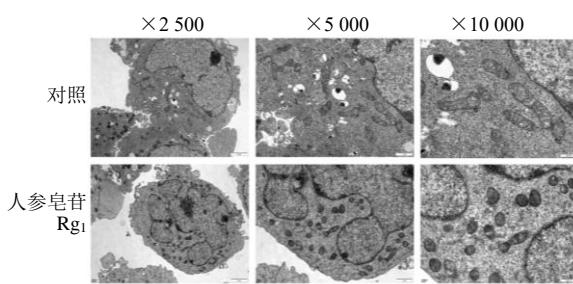


图 10 人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞线粒体形态的影响
Fig. 10 Effects of ginsenoside Rg₁ on the mitochondrial morphology of K562 cells

与铁死亡相关的人参皂苷 Rg₁ - 慢性髓系白血病交集靶点。其中，拓扑分析显示 TP53 节点连接度最高，KEGG 通路富集分析提示人参皂苷 Rg₁ 可能通过 p53 信号通路介导铁死亡。p53 信号通路主要富集 p53 等靶点，p53 是维持基因组稳定性的抑癌基因，也是铁死亡的关键调节因子^[16-17]。p53 可通过抑制胱氨酸/谷氨酸逆向转运蛋白 SLC7A11 表达，增强细胞对铁死亡的敏感性^[18]；激活下游靶标 SAT1 和 ALOX15 诱导脂质过氧化，促使细胞在 ROS 应激下发生铁死亡并抑制肿瘤生长^[19-20]。Ren 等^[21]发现降低 Fe²⁺ 和 ROS 水平，抑制 p53 介导的

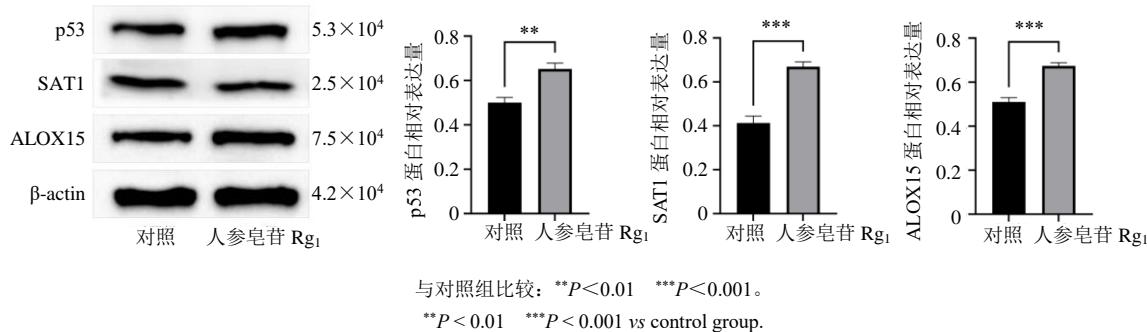


图 11 人参皂苷 Rg₁ 对 p53、SAT1、ALOX15 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 11 Effects of ginsenoside Rg₁ on the protein expression of p53, SAT1, and ALOX15 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

SAT1/ALOX15 铁死亡信号通路可改善阿尔茨海默病小鼠认知障碍。Zhou 等^[22]发现激活 p53/SAT1/ALOX15 通路可增加 MDA 水平，上调铁死亡蛋白 ACSL4 和 Ptgs2 的表达，诱导原代大鼠皮质神经元铁死亡。因此，p53 介导的 SAT1/ALOX15 信号通路在肿瘤抑制及铁死亡调控中发挥核心作用。

基于上述网络药理学预测结果，采用 CCK-8 法检测不同浓度人参皂苷 Rg₁ 对 K562 细胞增殖抑制

效果。结果显示，人参皂苷 Rg₁ 作用浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 、作用时间为 48 h 时，对 K562 细胞增殖的抑制效果最为显著。细胞周期的精密调控对维持遗传物质稳定至关重要，癌细胞通过失控的细胞周期介导异常增殖，其集落形成能力是肿瘤生长与扩散的基础^[23]。研究发现，诱导宫颈癌细胞 G₀/G₁ 期细胞周期阻滞可有效抑制其过度增殖^[24]。因此，癌细胞分裂与增殖机制是抗肿瘤药物研究的重要方向。

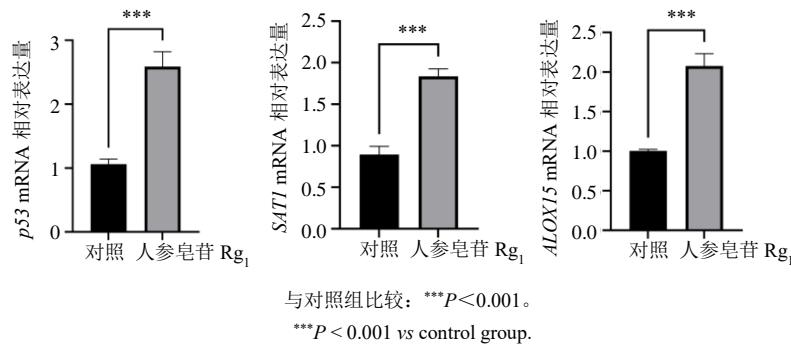


图 12 人参皂苷 Rg₁对 p53、SAT1、ALOX15 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 12 Effects of ginsenoside Rg₁ on the mRNA expression of p53, SAT1, and ALOX15 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

本研究发现,与对照组相比,人参皂苷 Rg₁作用后K562 细胞 G₀/G₁ 期细胞比例增高、S 期细胞比例减少,K562 细胞集落形成能力下降,提示人参皂苷 Rg₁能有效抑制 K562 细胞的增殖。

铁死亡表现为 Fe²⁺依赖性膜定位的脂质过氧化物的致死性积累,与其他细胞死亡形式不同,其形态学特征为线粒体体积缩小、膜密度增加、嵴减少或融合消失^[25]。铁过载可诱导脂质过氧化物积累并破坏铁稳态:过量 Fe²⁺通过 Fenton 反应产生脂质 ROS,调控脂质过氧化及氧稳态,促进铁死亡^[26]。与正常组织相比,癌细胞通常对脂质 ROS 积累的耐受性更强^[27]。脂质 ROS 用于评估细胞内脂质过氧化水平。此外,ROS 水平升高在使慢性髓系白血病耐药细胞更容易发生铁死亡方面发挥着关键作用,高水平的 ROS 会诱导慢性髓系白血病耐药细胞内线粒体 DNA 的氧化损伤,导致线粒体功能障碍,破坏氧化呼吸链,从而进一步增加耐药细胞内 ROS 的产生^[28]。铁死亡诱导策略通过调控铁代谢及脂质过氧化,有效克服肿瘤耐药性、转移及免疫抑制。研究表明,在急性髓系白血病中,诱导铁蛋白自噬降解及其介导的铁死亡具有抗白血病效应^[7];抑制抗氧化因子 Nrf2 表达可诱导铁死亡逆转白血病细胞耐药^[29]。本研究发现,人参皂苷 Rg₁显著升高 K562 细胞内 Fe²⁺、脂质 ROS 水平,加剧氧化损伤;电镜下观察到细胞出现特征性的线粒体变化,提示人参皂苷 Rg₁诱导 K562 细胞发生铁死亡。进一步验证其具体分子机制,显示人参皂苷 Rg₁作用后 p53、SAT1、ALOX15 蛋白和 mRNA 表达水平均明显上调。

综上所述,本研究基于网络药理学预测分析人参皂苷 Rg₁对慢性髓系白血病可能的作用靶点与通路,并结合体外细胞实验验证人参皂苷 Rg₁对 K562

细胞具有明显的增殖抑制作用,其机制可能与调控 p53/SAT1/ALOX15 信号通路诱导 K562 细胞铁死亡有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- Copland M. Treatment of blast phase chronic myeloid leukaemia: A rare and challenging entity [J]. *Br J Haematol*, 2022, 199(5): 665-678.
- Wang Y, Liang Z J, Gale R P, et al. Chronic myeloid leukaemia: Biology and therapy [J]. *Blood Rev*, 2024, 65: 101196.
- Iezza M, Cortesi S, Ottaviani E, et al. Prognosis in chronic myeloid leukemia: Baseline factors, dynamic risk assessment and novel insights [J]. *Cells*, 2023, 12(13): 1703.
- Zhang J S, Liu Y X, Li Q, et al. Ferroptosis in hematological malignancies and its potential network with abnormal tumor metabolism [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 148: 112747.
- Zhang Y Y, Su F Z, Zhu E L, et al. A systematical review on traditional Chinese medicine treating chronic diseases via regulating ferroptosis from the perspective of experimental evidence and clinical application [J]. *Chin Med Herb*, 2025, 17(2): 246-260.
- Zhou Q, Meng Y, Li D S, et al. Ferroptosis in cancer: From molecular mechanisms to therapeutic strategies [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 55.
- Grignano E, Cantero-Aguilar L, Tuerd Z, et al. Dihydroartemisinin-induced ferroptosis in acute myeloid leukemia: Links to iron metabolism and metallothionein [J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 97.
- Li D Y, Wang L, Zhang J S, et al. Expression and clinical significance of the p53/SAT1/ALOX15 ferroptosis-associated proteins in sinonasal inverted papilloma [J].

- World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2024, 11(2): 281-289.
- [9] You L, Cha S, Kim M Y, et al. Ginsenosides are active ingredients in *Panax ginseng* with immunomodulatory properties from cellular to organismal levels [J]. *J Ginseng Res*, 2022, 46(6): 711-721.
- [10] 李铭莹, 林霖, 王岩, 等. 人参皂苷抗肿瘤机制及其纳米药物递送系统的研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(2): 688-696.
- [11] 韩艳军, 周玥. 人参皂苷 Rg₁ 诱导白血病 K562 细胞老化的研究 [J]. 医学研究生学报, 2020, 33(1): 32-37.
- [12] Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: A review [J]. *Jama*, 2025, 333(18): 1618-1629.
- [13] Held N, Atallah E L. Real-world management of CML: Outcomes and treatment patterns [J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2023, 18(5): 167-175.
- [14] 唐艳隆, 周玥, 张成桂, 等. 人参皂苷 Rg₁ 通过 SIRT1-TSC2 信号通路诱导白血病干细胞衰老的作用 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(11): 2348-2352.
- [15] 李渊, 顾守美, 刘小虎, 等. 人参皂苷 Rg₁ 对移植性白血病模型小鼠的作用 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(12): 2571-2577.
- [16] Bieging K T, Mello S S, Attardi L D. Unravelling mechanisms of p53-mediated tumour suppression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(5): 359-370.
- [17] Xu R, Wang W N, Zhang W L. Ferroptosis and the bidirectional regulatory factor p53 [J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 197.
- [18] Jiang L, Kon N, Li T Y, et al. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression [J]. *Nature*, 2015, 520(7545): 57-62.
- [19] Pegg A E. Spermidine/spermine-N(1)-acetyltransferase: A key metabolic regulator [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 294(6): E995-E1010.
- [20] Seiler A, Schneider M, Förster H, et al. Glutathione peroxidase 4 senses and translates oxidative stress into 12/15-lipoxygenase dependent- and AIF-mediated cell death [J]. *Cell Metab*, 2008, 8(3): 237-248.
- [21] Ren X, Wen Y, Yuan M, et al. Cerebroprotein hydrolysate-I ameliorates cognitive dysfunction in APP/PS1 mice by inhibiting ferroptosis via the p53/SAT1/ALOX15 signalling pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 979: 176820.
- [22] Zhou C L, Xu Z M, Ding S H, et al. Benzo(a)pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide (BPDE) induces ferroptosis in rat cortical neurons via p53-SLC7A11-ALOX12/p53-SAT1-ALOX15 pathways [J]. *J Appl Toxicol*, 2025, 45(8): 1637-1648.
- [23] Patra D, Bhavya K, Ramprasad P, et al. Anti-cancer drug molecules targeting cancer cell cycle and proliferation [J]. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2023, 135: 343-395.
- [24] Dang E, Yang S Y, Song C J, et al. BAP31, a newly defined cancer/testis antigen, regulates proliferation, migration, and invasion to promote cervical cancer progression [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(8): 791.
- [25] Singh M, Arora H L, Naik R, et al. Ferroptosis in cancer: Mechanism and therapeutic potential [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(8): 3852.
- [26] Jiang X J, Stockwell B R, Conrad M. Ferroptosis: Mechanisms, biology and role in disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266-282.
- [27] Zeng C W, Nie D R, Wang X F, et al. Combined targeting of GPX4 and BCR-ABL tyrosine kinase selectively compromises BCR-ABL+ leukemia stem cells [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 240.
- [28] Zhong F M, Zhang X R, Wang Z H, et al. The therapeutic and biomarker significance of ferroptosis in chronic myeloid leukemia [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1402669.
- [29] Wu X, Chen S Q, Huang K C, et al. Triptolide promotes ferroptosis by suppressing Nrf2 to overcome leukemia cell resistance to doxorubicin [J]. *Mol Med Rep*, 2023, 27(1): 17.

[责任编辑 高源]