

## 基于转录组测序和分子对接探讨槲皮素诱导胃癌细胞铁死亡的机制

祁明浩, 沈照峰, 张 一, 田 芳\*

南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029

**摘要:** 目的 探讨槲皮素对人胃癌 AGS 细胞的抑制作用, 分析其调控胃癌增殖的分子机制。方法 采用 CCK-8 法和平板克隆形成实验检测槲皮素对 AGS 细胞活力与增殖能力的影响; 构建 AGS 细胞斑马鱼异种移植模型, 观察槲皮素的体内抑瘤效果; 通过转录组测序, 筛选差异表达基因并进行基因本体论 (GO) 功能注释与京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析; 利用透射电镜观察细胞形态变化, 共聚焦荧光显微镜检测细胞内脂质活性氧水平; 采用分子对接模拟槲皮素与关键蛋白亚精胺/精胺 N1-乙酰转移酶 1 (SAT1) 的结合, 并通过 Western blotting 验证 SAT1 及下游花生四烯酸 15-脂氧合酶 (ALOX15) 蛋白的表达。结果 槲皮素能显著抑制 AGS 细胞活力与克隆形成 ( $P < 0.01$ )。在斑马鱼异种移植模型中, 槲皮素同样有效抑制了肿瘤细胞的增殖 ( $P < 0.001$ )。转录组测序分析提示, 铁死亡是槲皮素作用的核心通路之一 ( $P < 0.05$ )。形态学与生化检测证实, 槲皮素处理可诱发线粒体皱缩、嵴减少等铁死亡典型超微结构改变, 并引起脂质活性氧的显著堆积。分子对接显示槲皮素与 SAT1 蛋白的 C1 口袋具有高亲和力 (Vina score = -8.7 kcal/mol)。Western blotting 验证表明, 槲皮素可上调 SAT1 及下游 ALOX15 蛋白表达 ( $P < 0.05$ 、 $0.001$ )。结论 槲皮素可诱导胃癌 AGS 细胞发生铁死亡, 可能与上调 SAT1/ALOX15 通路有关。

**关键词:** 槲皮素; 胃癌; 铁死亡; 转录组测序; 斑马鱼异种移植模型; 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: R286.5

文献标志码: A

文章编号: 1674 - 5515(2026)05 - 1253 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.05.007

## Mechanism of quercetin-induced ferroptosis in gastric cancer cells through transcriptome sequencing and molecular docking

QI Minghao, SHEN Zhaofeng, ZHANG Yi, TIAN Fang

Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

**Abstract: Objective** To investigate the inhibitory effect of quercetin on human gastric cancer AGS cells, and analyze its molecular mechanism of regulating the proliferation of gastric cancer. **Methods** The CCK-8 assay and plate colony formation assay were used to detect the effects of quercetin on the viability and proliferation capacity of AGS cells. A zebrafish xenotransplantation model of AGS cells was constructed to observe the antitumor effect of quercetin *in vivo*. Transcriptome sequencing was performed to screen differentially expressed genes, followed by GO functional annotation and KEGG pathway enrichment analysis. The morphological changes of cells were observed by transmission electron microscope, and the level of lipid reactive oxygen species in cells was detected by confocal fluorescence microscope. Molecular docking was used to simulate the binding of quercetin to the key protein SAT1, and the expression of SAT1 and ALOX15 proteins were validated by Western blotting. **Results** Quercetin significantly inhibited AGS cell viability and clone formation ( $P < 0.01$ ). Quercetin also effectively inhibited the proliferation of tumor cells in zebrafish xenotransplantation model ( $P < 0.001$ ). Transcriptome sequencing analysis suggested that ferroptosis was one of the core pathways of quercetin ( $P < 0.05$ ). Morphological and biochemical tests confirmed that quercetin could induce the typical ultrastructural changes of ferroptosis, such as mitochondrial shrinkage and crista reduction, and caused significant accumulation of lipid ROS. Molecular docking showed that quercetin had a high affinity with C1 pocket of SAT1 protein (Vina score = -8.7 kcal/mol). Western blotting analysis verified

收稿日期: 2026-01-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82374410); 国家中管局中医脾胃病学高水平重点学科建设项目 (zyzdsk-202375); 江苏省中医药管理局科技项目 (JD2022SZ02); 江苏省中医院科技项目 (Y2020CX68)

作者简介: 祁明浩, 助理研究员, 主要从事中医药抗肿瘤研究。E-mail: 604168956@qq.com

\*通信作者: 田 芳, 研究员, 主要从事肿瘤生物学与药理研究。E-mail: tfgyzxh@163.com

that quercetin could upregulate the protein expression of both SAT1 and its downstream protein ALOX15 ( $P < 0.05, 0.001$ ). **Conclusion** Quercetin could induce ferroptosis in gastric cancer AGS cells, which might be associated with the upregulating SAT1/ALOX15 pathway.

**Key words:** quercetin; gastric cancer; ferroptosis; transcriptome sequencing; zebrafish xenotransplantation model; SAT1; ALOX15

胃癌是我国高发恶性肿瘤之一，统计数据显示，2022 年其发病率居恶性肿瘤第 5 位，死亡率居第 3 位<sup>[1]</sup>。晚期胃癌患者 5 年生存率仅为 13%<sup>[2]</sup>，现有治疗手段有限，亟需挖掘来源广泛、安全高效的天然抗肿瘤活性成分。本研究团队前期通过网络药理学分析发现，槲皮素是中药复方治疗胃癌的核心活性成分<sup>[3]</sup>。槲皮素为天然黄酮类化合物，在蔬菜、水果和各种草药中广泛分布，具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理作用<sup>[4]</sup>。研究表明，槲皮素能通过多种机制抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭，包括调控细胞周期、诱导凋亡、抑制迁移侵袭及阻断血管生成<sup>[5-7]</sup>。因此，本研究综合运用细胞实验、斑马鱼异种移植模型、转录组测序及分子对接等技术，旨在系统研究槲皮素抗胃癌的作用，并探讨其潜在的分子机制。

## 1 材料

### 1.1 细胞与动物

人胃癌 AGS 细胞株（上海富衡公司，货号 FH0261）。转基因品系 Tg (flk: EGFP) 斑马鱼胚胎 [杭州环特公司，实验动物生产许可证号 SCXK(浙)2022-0003]。本实验由南京中医药大学附属医院实验动物伦理委员会批准（批件号 2023DW-031-01）。

### 1.2 药物与试剂

槲皮素（质量分数 97%，上海麦克林公司，货号 Q817162），二甲基亚砜（DMSO，Sigma 公司，货号 D2650），RPMI-1640 培养基、胎牛血清（FBS）、青霉素 - 链霉素双抗（Gibco 公司，货号分别为 11875093、10099-141、15140122），CCK-8 试剂盒、结晶紫染色液、CM-DiI 染料、RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒（碧云天公司，货号 C0037、C0121、Y236937、P0013B、P0012），BODIPY™581/591 C11（Invitrogen，货号 D3861），SAT1 抗体、 $\beta$ -actin 抗体（Cell Signaling Technology，货号 61586s、4967s），ALOX15 抗体（上海艾博抗公司，货号 ab244205），HRP 标记兔二抗（LI-COR 公司，货号 C50317-02）。

### 1.3 仪器

生物安全柜（Thermo），CO<sub>2</sub>培养箱（Thermo），ELX-800 酶标仪（BioTek），5810R 高速冷冻离心机

（Eppendorf），Illumina NovaSeq 6000 测序仪（Illumina），LSM-710 激光共聚焦显微镜（ZEISS），DS-Qi2 正置荧光显微镜（NIKON），SMZ18 体式荧光显微镜（NIKON），H-7650 透射电镜（Hitachi），斑马鱼养殖系统（海圣），SYS-PV820 显微注射系统（WPI），Mini-PROTEAN 蛋白电泳仪（Bio-Rad），ChemiDoc XRS+化学发光凝胶成像仪（Bio-Rad）。

## 2 方法

### 2.1 药物配制

将槲皮素溶解于 DMSO，配制成浓度为 100 mmol/L 的母液，于 -20 °C 冻存备用，实验前使用培养基将其稀释至所需浓度。

### 2.2 细胞培养

AGS 细胞的培养体系为含 10% FBS 和 1% 双抗的 RPMI-1640 培养基，并于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。

### 2.3 CCK-8 法检测细胞活力

取对数生长期 AGS 细胞，经消化、离心收集后，用含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基重悬并调整至  $6 \times 10^3$  个/孔，接种于 96 孔板（100  $\mu$ L/孔）。于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 24 h 贴壁后，更换为含有不同浓度 [0 (对照)、20、40、80、160、320  $\mu$ mol/L] 槲皮素的新鲜培养基，另设空白组仅加入等量培养基，每个浓度设 6 个复孔，分别培养 24、48、72 h。培养结束后，每孔加 10  $\mu$ L CCK-8 试剂孵育 2 h，酶标仪检测 490 nm 处吸光度，计算细胞活力。

$$\text{细胞活力} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

### 2.4 平板克隆形成实验

设置槲皮素 0 (对照)、80、160  $\mu$ mol/L 组，每组 3 复孔。对数期 AGS 细胞消化重悬后，500 个细胞/孔接种 6 孔板，37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养 24 h 贴壁；换对应含药培养基培养 48 h，再换无药培养基续培养 7~10 d 至克隆形成。弃去培养基，PBS 洗 2 次，4% 多聚甲醛固定细胞 1 h，结晶紫染色 2 min。冲洗晾干后拍照计数，计算克隆形成率。

### 2.5 斑马鱼胃癌异种移植模型构建与药效评估

AGS 细胞经消化、重悬后，加 CM-DiI 染料（终质量浓度 2  $\mu$ g/mL）37 °C 染色 1 h，PBS 洗 3 次，

调整密度为  $1 \times 10^4$  个/ $\mu\text{L}$ ；取 48 hpf Tg (flk:EGFP) 斑马鱼胚胎，显微注射 200 个染色细胞至卵黄囊， $28.5^\circ\text{C}$  培养 24 h (1 dpi)。筛选肿瘤大小均一的胚胎，随机分为槲皮素 0 (对照)、40、80  $\mu\text{mol/L}$  组，每组 20 个，浸泡给药 4 d (4 dpt)。分别于 1 dpi (给药前) 和 4 dpt (给药后)，荧光显微镜观察肿瘤细胞 (红色荧光) 和斑马鱼胚胎 (血管为绿色荧光) 的生长状态，消化胚胎计数肿瘤细胞，计算增殖倍数 (4 dpt 细胞数/1 dpi 细胞数)。

## 2.6 转录组测序与生物信息学分析

取 80  $\mu\text{mol/L}$  槲皮素处理 48 h 的 AGS 细胞 (实验组) 及等量 DMSO 处理细胞 (对照组，每组 3 个生物学重复)，交由派森诺生物科技有限公司，提取总 RNA，通过 Illumina NovaSeq 6000 平台进行 mRNA 测序。原始数据经质控过滤后比对至人类基因组 (GRCh38)，筛选差异表达基因 ( $|\log_2\text{fold change}| > 1$  且  $P < 0.05$ )，进行相关分析。

## 2.7 透射电镜观察细胞形态

80  $\mu\text{mol/L}$  槲皮素处理 AGS 细胞 48 h 后，胰酶消化收集细胞，经 2.5% 戊二醛固定 24 h、1% 锇酸固定 1 h，梯度脱水 (乙醇+丙酮) 后环氧树脂包埋，制备 50 nm 超薄切片并经醋酸铀-柠檬酸铅染色，透射电镜下 ( $\times 12000$  倍) 观察细胞和线粒体形态并拍照记录。

## 2.8 共聚焦显微镜检测脂质活性氧

80  $\mu\text{mol/L}$  槲皮素处理 AGS 细胞 48 h 后，弃培养基并加入含 7  $\mu\text{mol/L}$  BODIPY 581/591 C11 的无血清培养基， $37^\circ\text{C}$  孵育 30 min；PBS 洗 3 次后，共聚焦显微镜下观察荧光信号 (激发波长 581 nm，发射波长 591 nm 为未氧化红色、510 nm 为氧化绿色)，Image J 软件定量绿光强度。

## 2.9 分子对接模拟验证

从 PubChem 数据库中获取槲皮素的 3D 结构文件，从 PDB 数据库中获取 SAT1 的标准 PDB 文件，在 CB-DOCK2 网站 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/index.php>) [8-9] 中，上传这两个文件，对接采用默认参数设置，在结果中选出最优结合口袋，使用 LigPlot 和 PyMOL 软件生成二维相互作用图与三维结合模式图。

## 2.10 Western blotting 检测

细胞处理和分组同 2.4 项下。将 AGS 细胞分为槲皮素 0 (对照)、40、80、160  $\mu\text{mol/L}$  组，各组于  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养 48 h 后收集细胞。RIPA

裂解液提总蛋白，BCA 法定量后每孔上样 30  $\mu\text{g}$ 。10% SDS-PAGE 电泳，转 PVDF 膜，5% 脱脂牛奶封闭 1.5 h；加 SAT1 (1:1000)、ALOX15 (1:1000)、 $\beta$ -actin (1:5000) 一抗  $4^\circ\text{C}$  孵育过夜，次日加 HRP 标记二抗 (1:5000) 室温孵育 1 h。ECL 显影，Image J 定量条带灰度值，以目标蛋白/ $\beta$ -actin 计算相对表达量。

## 2.11 统计学分析

使用 GraphPad Prism 9.0 软件，计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示，两组比较用独立样本  $t$  检验，多组比较用单因素方差分析 (ANOVA)。

## 3 结果

### 3.1 槲皮素对 AGS 细胞活力的抑制效应

根据 CCK-8 实验结果，随着槲皮素浓度增加或作用时间延长，AGS 细胞活力均显著降低 ( $P < 0.001$ )，见图 1。其中 80  $\mu\text{mol/L}$  浓度处理 48 h 可使细胞活力降至  $(51.2 \pm 3.8)\%$ ，故后续实验将 80  $\mu\text{mol/L}$  确定为浓度。

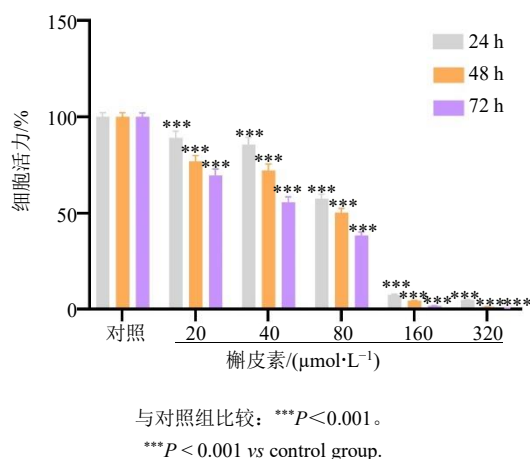


图 1 槲皮素对 AGS 细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 1 Effect of quercetin on AGS cell viability ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

### 3.2 槲皮素对 AGS 细胞克隆形成能力的抑制作用

槲皮素 80、160  $\mu\text{mol/L}$  组的克隆形成率由对照组的  $(78.8 \pm 5.1)\%$  分别下降至  $(43.6 \pm 4.9)\%$  和  $(25.2 \pm 2.7)\%$ ，且克隆体积缩小、数量减少，见图 2。提示槲皮素可显著抑制 AGS 细胞长期增殖能力。

### 3.3 槲皮素在斑马鱼模型中抑制胃癌细胞增殖

1 dpi 时各组肿瘤细胞数量无差异；至 4 dpt 时，槲皮素 40、80  $\mu\text{mol/L}$  组增殖倍数由对照组  $(3.3 \pm 0.2)$  倍分别降至  $(2.18 \pm 0.15)$  倍和  $(1.26 \pm 0.09)$  倍 ( $P < 0.001$ )，见图 3A；荧光显微镜观察可见，槲皮素组红色肿瘤荧光 (CM-DiI) 强度弱于对照组，

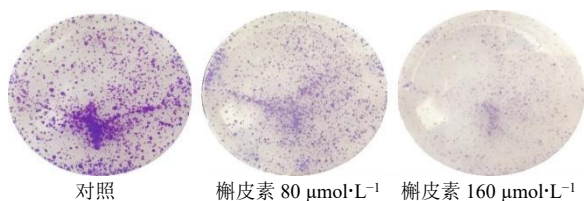
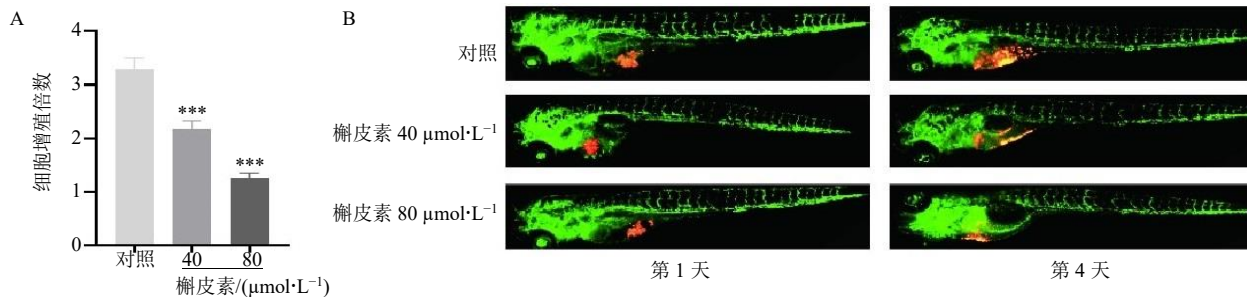


图 2 槲皮素对 AGS 细胞克隆形成能力的影响

Fig. 2 Effect of quercetin on the clonal formation ability of AGS cells



A-肿瘤细胞增殖倍数统计; B-荧光显微镜图 (红色: 肿瘤细胞, 绿色: 斑马鱼血管); 与对照组比较: \*\*\* $P < 0.001$ 。

A-statistics of tumor cell proliferation multiple; B-fluorescence micrograph (red: tumor cells, green: zebrafish blood vessels); \*\*\* $P < 0.001$  vs control group.

图 3 槲皮素对 AGS 细胞斑马鱼异种移植模型的药效影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )

Fig. 3 Effect of quercetin on the zebrafish xenotransplantation model of AGS cell ( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )

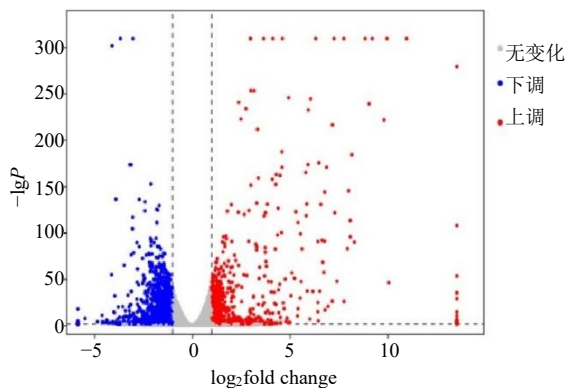


图 4 槲皮素组和对照组差异表达基因火山图

Fig. 4 Volcano map of differentially expressed genes between quercetin group and control group

3.4.2 GO 与 KEGG 富集分析 GO 功能富集分析如图 5 所示, 这些基因在生物过程层面主要涉及核糖体生物合成、基因表达调控、RNA 代谢及病毒相关过程; 在细胞组分层面富集于核糖体及内质网蛋白靶向相关组分; 分子功能主要与核酸结合相关。

进一步的 KEGG 通路富集分析结果如图 6 所示, 差异基因显著富集的通路包括核糖体、蛋白酶体、信号传导与细胞过程以及人类疾病相关通路 (如自身免疫病、癌症等)。尤为关键的是, 在细胞死亡相关通路中, 铁死亡通路 (hsa04216,  $P = 0.029$ )

且血管 (绿色 EGFP) 与肿瘤的关联减弱, 见图 3B; 实验中未观察到斑马鱼胚胎畸形或死亡。表明槲皮素在体内模型中具有显著的抗胃癌增殖作用, 且安全性良好。

### 3.4 转录组测序揭示槲皮素调控的核心通路

3.4.1 差异表达基因筛选 通过转录组测序数据分析, 筛选出 2 286 个差异表达基因 (DEGs), 其中 860 个上调, 1 426 个下调, 见图 4。

被显著富集。基于上述分析结果, 本研究将铁死亡作为后续研究方向。

### 3.5 槲皮素诱导 AGS 细胞呈铁死亡形态特征

如图 7 所示, 对照组 AGS 细胞线粒体形态规则, 双层膜完整, 嵴清晰; 槲皮素 80  $\mu\text{mol/L}$  组细胞线粒体体积显著缩小, 内膜皱缩, 嵴减少, 符合铁死亡的典型形态学特征。

### 3.6 槲皮素促进 AGS 细胞内脂质活性氧积累

如图 8 所示, 对照组细胞主要呈红色荧光 (未氧化探针), 绿光强度低; 槲皮素 80  $\mu\text{mol/L}$  组细胞绿光强度显著增强, Image J 定量绿光强度为对照组的 ( $3.9 \pm 0.5$ ) 倍, 提示槲皮素可诱导 AGS 细胞内脂质活性氧大量积累。

### 3.7 分子对接验证槲皮素与 SAT1 蛋白的结合能力

基于转录组测序分析, SAT1 为铁死亡通路中差异表达最显著的调控基因 ( $\log_2 \text{fold change} = 4.6$ ,  $P = 4.91 \times 10^{-171}$ ), 因此将其作为关键靶点进行深入研究。为进一步阐明槲皮素的作用机制, 明确其是否通过直接结合 SAT1 蛋白发挥调控效应, 采用分子对接模拟二者的相互作用。如表 1 所示, 槲皮素能够与 SAT1 蛋白多个口袋结合, 其中与 C1 口袋结合力最强 (Vina score =  $-8.7 \text{ kcal/mol}$ ,  $1 \text{ cal} = 4.2 \text{ J}$ ) [10]。该口袋体积较大 ( $7772 \text{ \AA}^3$ ,  $1 \text{ \AA} = 0.1 \text{ nm}$ ),

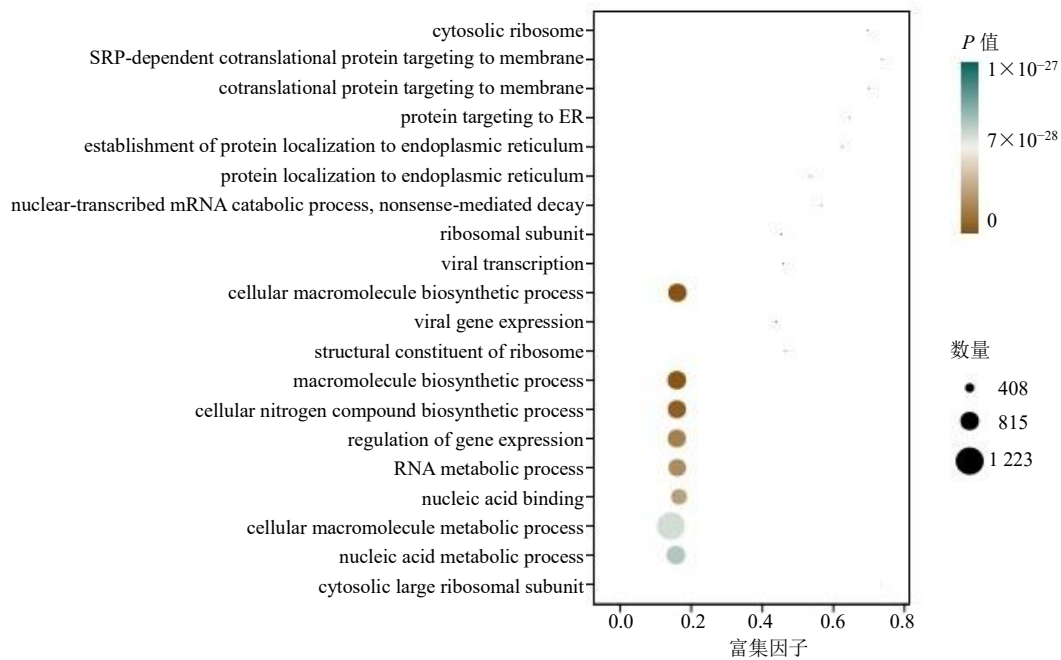


图 5 差异表达基因 GO 功能富集分析

Fig. 5 Enrichment analysis of GO function of differentially expressed genes

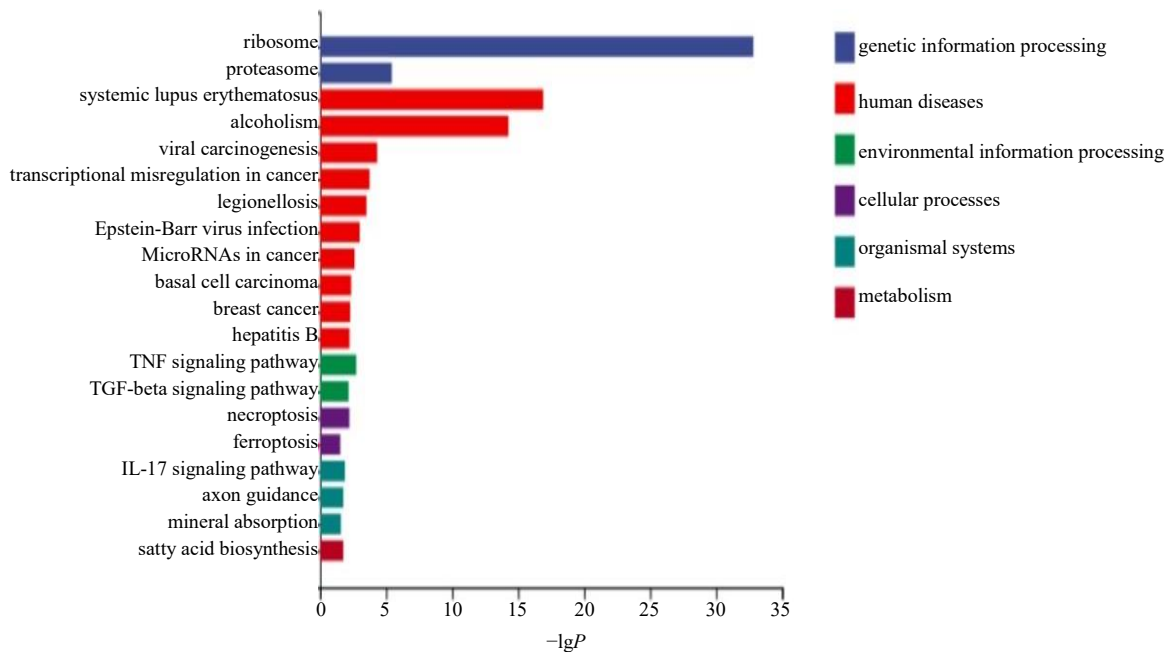


图 6 差异表达基因 KEGG 通路富集分析

Fig. 6 Enrichment analysis of KEGG pathway of differentially expressed genes

为槲皮素的结合提供了空间条件。结合模式深入分析如图 9 所示, 槲皮素分子通过与 C1 口袋内的 Glu92、Asp82 等残基形成氢键 (键长 2.7~3.2 Å), 并与 Asp93、Trp84 等残基产生疏水作用, 进一步稳定结合构象。上述结果提示, 槲皮素与 SAT1 蛋白之间具有良好的直接结合潜力, 可能是其调控 SAT1

功能的结构基础。

### 3.8 槲皮素对 AGS 细胞 SAT1/ALOX15 蛋白表达的影响

如图 10 所示: 与对照组比较, 槲皮素 40、80、160 μmol/L 组 AGS 细胞中 SAT1 蛋白表达量显著上调 ( $P < 0.001$ ), 槲皮素 80、160 μmol/L 组 ALOX15

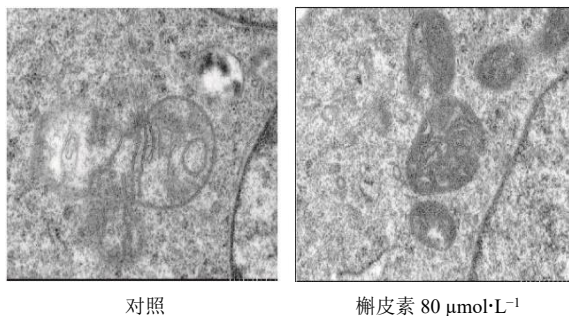


图 7 透射电镜下 AGS 细胞形态变化 (×12 000)  
Fig. 7 Morphological changes of AGS cells under transmission electron microscope (× 12 000)

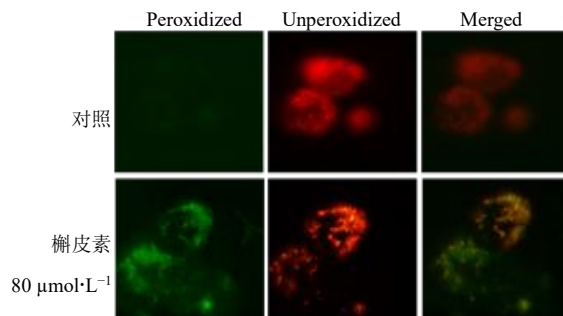


图 8 槲皮素对 AGS 细胞内活性氧的影响 (×63)  
Fig. 8 Effect of quercetin on lipid reactive oxygen species in AGS cells (×63)

表 1 槲皮素与 SAT1 蛋白的分子对接结果

Table 1 Molecular docking results of quercetin with SAT1 protein

结合口袋 ID	Vina score (kcal·mol <sup>-1</sup> )	口袋体积/Å <sup>3</sup>	口袋中心坐标 (x, y, z)	对接网格大小 (x, y, z)
C1	-8.7	7 772	44, 12, -8	35, 35, 27
C2	-8.2	745	23, 23, -11	21, 21, 21
C4	-7.2	201	52, -2, 0	21, 21, 21
C5	-7.1	297	33, 13, 5	21, 21, 21
C3	-6.7	298	44, 11, 12	21, 21, 21

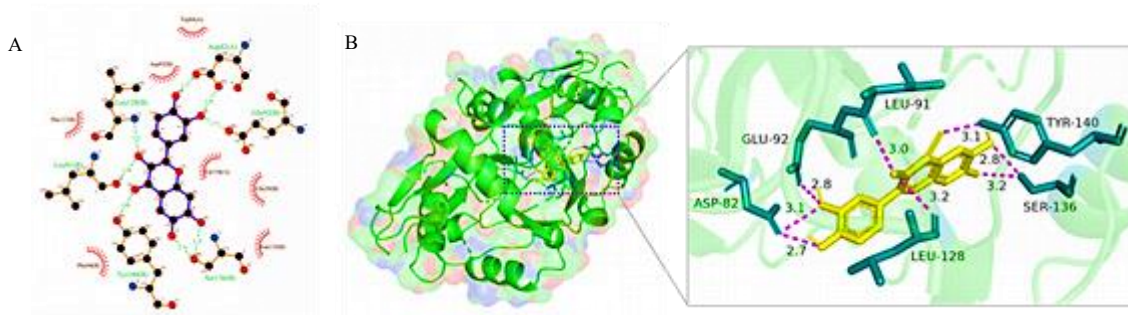
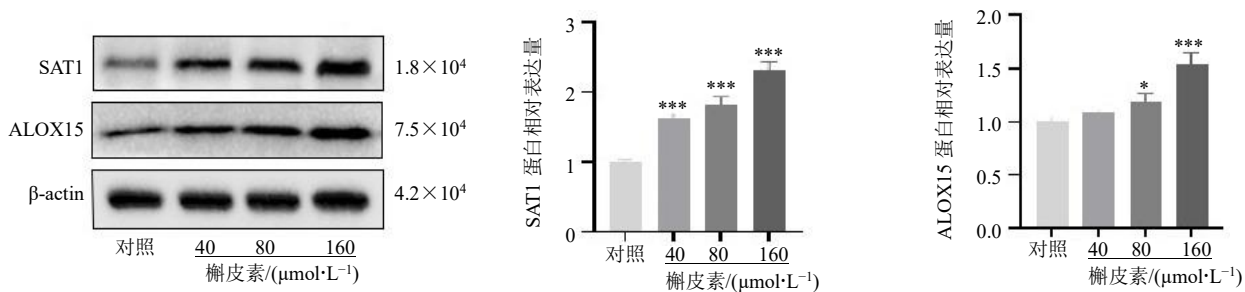


图 9 槲皮素与 SAT1 蛋白 C1 口袋结合模式可视化二维相互作用图 (A)、三维结合模式图 (B)  
Fig. 9 Visualization of the binding mode of two-dimensional interaction diagram(A), and three-dimensional binding pattern diagram (B) of quercetin and SAT1 protein in C1 pocket



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

图 10 槲皮素对 AGS 细胞 SAT1 和 ALOX15 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Fig. 10 Effect of quercetin on the expression of SAT1 and ALOX15 in AGS cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

蛋白表达量显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.001$ )。

#### 4 讨论

本研究通过整合斑马鱼在体模型、转录组学与分子药理学技术,阐释了槲皮素抑制胃癌增殖的作用,并可能通过上调 SAT1/ALOX15 通路诱导胃癌铁死亡。斑马鱼作为模式脊椎动物,与人类基因同源性达 85%,且胚胎透明性便于实时观察肿瘤生长,其异种移植模型成为肿瘤研究与药物筛选的理想工具<sup>[11]</sup>。相较于传统肿瘤模型,斑马鱼模型兼具周期短、成本低、贴近体内微环境、可视化程度高的核心优势,为实时观测活体肿瘤增殖及血管生成等过程提供了独特窗口。本研究利用该模型验证槲皮素体内抗胃癌活性与安全性,也为后续中药活性成分的高效药效筛选建立了可靠的技术平台。

在机制层面,转录组测序及 KEGG 富集分析表明“铁死亡”是槲皮素作用的核心通路之一。铁死亡是一种在机制上区别于凋亡、坏死与自噬的调节性细胞死亡方式,其发生依赖于铁离子并由脂质过氧化驱动<sup>[12-14]</sup>。本研究证实,槲皮素能够成功诱导胃癌细胞发生这一过程:透射电镜观察到了铁死亡典型的超微结构改变,同时 BODIPY™ 581/591 C11 探针检测提示细胞内脂质活性氧水平显著升高,这从形态与生化层面提供了双重证据。值得关注的是,已有研究揭示经典靶向药物索拉非尼、Erastin、柳氮磺胺吡啶可通过靶向系统 Xc-等通路诱导铁死亡<sup>[15-17]</sup>。本研究将槲皮素的抗胃癌效应与铁死亡相关联,为阐释其作用机制提供了新视角。

为解析槲皮素诱导铁死亡的上游分子事件,本研究聚焦于转录组测序中差异表达最显著的铁死亡调控基因 SAT1。分子对接结果表明,槲皮素能够以高亲和力 (Vina score = -8.7 kcal/mol) 嵌入 SAT1 蛋白的 C1 活性口袋,并与 Glu92、Asp82 等关键残基形成稳定的氢键与疏水相互作用,提示 SAT1 很可能是槲皮素的直接作用靶点<sup>[18-19]</sup>。SAT1 是多胺代谢通路中的限速酶,近年来研究表明,SAT1 的激活是连接多种应激信号与铁死亡的核心桥梁<sup>[20]</sup>。本研究通过 Western blotting 实验表明,槲皮素能够浓度依赖性上调 AGS 细胞中 SAT1 的蛋白表达水平。SAT1 一旦被激活,一方面会催化多胺乙酰化,加剧细胞的氧化应激状态,更为关键的是,它能直接转录上调 ALOX15 (花生四烯酸 15-脂氧合酶) 的表达<sup>[20]</sup>。本研究中槲皮素处理后 ALOX15 的表达同步升高,与此机制相吻合。ALOX15 是执行脂质过氧

化的“终末效应器”,它能特异性地识别并催化细胞膜上的多不饱和脂肪酸生成脂质活性氧,从而绕过 GPX4 等经典细胞防御系统,最终驱动铁死亡的发生<sup>[21]</sup>。值得注意的是,SAT1 通过上调 ALOX15 驱动铁死亡的机制,在肝癌<sup>[22]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[23]</sup>中亦有重要报道,提示 SAT1/ALOX15 通路可能是诱导肿瘤细胞铁死亡的一种保守机制。

综上所述,本研究通过体内外实验证实槲皮素抑制胃癌增殖,并对转录组测序发现的铁死亡及相关蛋白初步验证,提示可能与上调 SAT1/ALOX15 通路有关,为槲皮素的抗胃癌机制提供了新视角。后续研究可在更多胃癌模型中验证该通路的普适性,并结合临床样本分析该通路与学生预后及药物敏感性的关系,从而为其临床转化应用提供更充分的依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 郑荣寿,陈茹,韩冰峰,等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2024, 46(3): 221-231.
- [2] Chen Y, Jia K, Xie Y, et al. The current landscape of gastric cancer and gastroesophageal junction cancer diagnosis and treatment in China: A comprehensive nationwide cohort analysis [J]. *J Hematol Oncol*, 2025, 18(1): 42.
- [3] 祁明浩,吴坚,张一,等. 基于网络药理学探讨健脾养正消癥方治疗胃癌的作用机制 [J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31(24): 3430-3435.
- [4] 李阳杰,曹瑞梅,毛雅君,等. 槲皮素的结构修饰及生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1636-1653.
- [5] Qiu Z Q, Qu C L, Wu X Y. Quercetin inhibits gastric cancer progression via suppression of HOTAIR/miR 217/GPC5 axis [J]. *Iran J Pharm Res*, 2025, 24(1): e165480.
- [6] Deng H Y, Xiao Q, Xu X D, et al. Quercetin inhibits gastric cancer progression via FAM198B/MAPK pathway modulation [J]. *Pharmacogenomics Pers Med*, 2025, 18: 115-141.
- [7] Qi X J, Gao C, Yin C J, et al. Development of quercetin loaded PVCL-PVA-PEG micelles and application in inhibiting tumor angiogenesis through the PI3K/Akt/VEGF pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2022, 437: 115889.
- [8] Liu Y, Yang X C, Gan J H, et al. CB-Dock2: Improved protein-ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(W1): W159-W164.
- [9] Yang X C, Liu Y, Gan J H, et al. FitDock: Protein-ligand docking by template fitting [J]. *Brief Bioinform*, 2022,

- 23(3): bbac087.
- [10] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2): 455-461.
- [11] Parng C, Seng W L, Semino C, *et al.* Zebrafish: A preclinical model for drug screening [J]. *Assay Drug Dev Technol*, 2002, 1(1 Pt 1): 41-48.
- [12] Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, *et al.* Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [13] Stockwell B R, Friedmann Angeli J P, Bayir H, *et al.* Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285.
- [14] 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 Herb Med*, 2025, 17(2): 246-260.
- [15] Dixon S J, Patel D N, Welsch M, *et al.* Pharmacological inhibition of cystine glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis [J]. *Elife*, 2014, 3: e02523.
- [16] Shibata Y, Yasui H, Higashikawa K, *et al.* Erastin, a ferroptosis-inducing agent, sensitizes cancer cells to X-ray irradiation via glutathione starvation *in vitro* and *in vivo* [J]. *PLoS One*, 2019, 14(12): e0225931.
- [17] Subramanian C, McNamara K, Croslow S W, *et al.* Novel repurposing of sulfasalazine for the treatment of adrenocortical carcinomas, probably through the SLC7A11/xCT hsa miR 92a 3p OIP5 AS1 network pathway [J]. *Surgery*, 2025, 177: 108832.
- [18] Hassam M, Khan K, Jalal K, *et al.* Lead identification against *Mycobacterium tuberculosis* using highly enriched active molecules against pantothenate synthetase [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2024, 42(20): 11080-11097.
- [19] Zha X R, Ji R, Li Y, *et al.* Network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulation analysis reveal the molecular mechanism of halociline against gastric cancer [J]. *Mol Divers*, 2025, 29(5): 4693-4703.
- [20] Ou Y, Wang S J, Li D W, *et al.* Activation of SAT1 engages polyamine metabolism with p53-mediated ferroptotic responses [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(44): E6806-E6812.
- [21] Shen N Z, Li M Y, Fang B B, *et al.* ALOX15-driven ferroptosis: The key target in dihydrotanshinone I's epigenetic battle in hepatic stellate cells against liver fibrosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 146: 113827.
- [22] Yang T F, Zhang S Y, Nie K, *et al.* WWOX-mediated p53/SAT1 and NRF2/FPN1 axis contribute to toosendanin-induced ferroptosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Biochem Pharmacol*, 2025, 233: 116790.
- [23] Ma X, Gan Y F, Mai Z C, *et al.* Silencing HEATR1 rescues cisplatin resistance of non-small cell lung cancer by inducing ferroptosis via the p53/SAT1/ALOX15 axis [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2025, 25(4): 345-356.

[责任编辑 高源]