

黄芪注射液通过多成分靶向 CCL2/FOS/PPARG/CXCL8 抑制宫颈癌恶性进展

马园园^{1,3}, 刘悦¹, 高宁^{1,2}, 霍宇萌¹, 陈美霓^{1,2}, 李佳文¹, 刘佳浩¹, 张满秋¹, 严冰冰¹, 许诺¹, 赵菊梅^{1,2}

¹延安大学延安医学院基础医学院, 陕西延安 716000; ²延安市陕北肿瘤防治重点实验室, 延安大学延安医学院基础医学院, 陕西延安 716000; ³延安大学附属医院妇科, 陕西延安 716000

摘要:目的 预测黄芪注射液在抗宫颈癌中的作用靶标及分子机制。方法 通过 STRING、Cytoscape 构建黄芪注射液与宫颈癌的交集靶点网络, 筛选关键靶标; DAVID 数据库完成靶点 GO 功能注释与 KEGG 通路富集分析; 分子对接分析药物活性成分与核心靶点的结合能力; 通过 CCK-8、细胞克隆、划痕、Transwell 检测黄芪注射液对人宫颈癌 SiHa 细胞增殖、迁移、侵袭影响; Western blotting 检测核心靶点 FOS、PPARG、CXCL8、CCL2、IL-17 通路核心分子 NF- κ B p65、p-p65、STAT3、p-STAT3 及细胞凋亡相关蛋白 BAX、BCL2、Caspase-3、cleaved-Caspase-3 的表达。考马斯亮蓝与鬼笔环肽染色检测细胞骨架微丝变化; JC-10 检测线粒体膜电位; AO/EB 染色检测细胞凋亡及细胞膜通透性。构建 U14 宫颈癌荷瘤小鼠模型, 8 只荷瘤小鼠随机分为对照组和黄芪注射液处理组, 4 只/组; 测量肿瘤体积生长情况; HE 染色分析肿瘤组织病理学; 免疫组织化学染色观察 CCL2、PPARG、FOS 阳性表达率。结果 确定黄芪注射液中 5 个活性成分与宫颈癌关键靶点 CCL2、CXCL8、FOS、PPARG, 且分子对接结合能均小于 -5 kJ/mol。细胞实验结果显示黄芪注射液能显著抑制宫颈癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力 ($P < 0.05$), 并引起微丝结构改变, 诱导细胞发生凋亡, 靶点蛋白 FOS、CXCL8、CCL2、PPARG、抗凋亡蛋白 BCL2 及磷酸化的 p-p65 (Ser536)、p-STAT3 (Tyr705) 蛋白表达水平下调 ($P < 0.01$), 而促凋亡蛋白 BAX、cleaved-Caspase-3 表达水平升高 ($P < 0.001$)。体内实验结果显示, 黄芪注射液可抑制宫颈癌移植瘤增殖, 引起肿瘤组织大片坏死, 使核心靶点蛋白 CCL2、PPARG、FOS 阳性表达下调 ($P < 0.001$)。结论 黄芪注射液可通过多个活性成分抑制宫颈癌细胞中多靶点蛋白表达, 引起微丝结构损伤, 导致癌细胞运动能力减弱及细胞凋亡。深入研究黄芪注射液抗宫颈癌的有效成分和作用机制, 为黄芪注射液在宫颈癌治疗领域的研究开辟新视角。

关键词: 黄芪注射液; 宫颈癌; 网络药理学; 微丝; 细胞凋亡

Multiple components in Astragalus Injection target CCL2/FOS/PPARG/CXCL8 to suppress cervical cancer progression

MA Yuanyuan^{1,3}, LIU Yue¹, GAO Ning^{1,2}, HUO Yumeng¹, CHEN Meini^{1,2}, LI Jiawen¹, LIU Jiahao¹, ZHANG Manqiu¹, YAN Bingbing¹, XU Nuo¹, ZHAO Jumei^{1,2}

¹School of Basic Medical Sciences, Yan'an Medical College, Yan'an University, Yan'an 716000, China; ²Key Laboratory of Northern Shaanxi Cancer Prevention and Treatment, School of Basic Medical Sciences, Yan'an Medical College, Yan'an University, Yan'an 716000, China;

³Department of Gynecology, Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, China

Abstract: Objective To predict the functional targets and molecular mechanisms of Astragalus Injection for suppressing cervical cancer. **Methods** The overlapping targets between Astragalus Injection and cervical cancer were used to construct a protein-protein interaction network. GO functional annotation and KEGG pathway enrichment analysis were performed, and molecular docking study was conducted to evaluate the binding capacity between drug active components and the core targets. SiHa cells were treated with Astragalus Injection and the changes in cell proliferation, migration and invasion were examined. The expressions of the core targets (FOS, PPARG, CXCL8, and CCL2), key molecules in the IL-17 pathway (NF- κ B p65, p-p65, STAT3, and p-STAT3), Bax, Bcl-2, caspase-3, and cleaved caspase-3 were detected in the treated cells. The changes in microfilament, mitochondrial membrane potential, cell apoptosis and membrane permeability were observed using Coomassie brilliant blue, phalloidin, JC-10 and AO/EB staining. In a mouse model bearing U14 cervical cancer xenograft, the effect of Astragalus Injection on tumor growth was observed, tumor histopathology was examined using HE staining, and CCL2, PPARG and FOS expressions were analyzed with immunohistochemistry. **Results** Five major active components of Astragalus Injection were found to stably bind to 4 core targets (CCL2, CXCL8, FOS, and PPARG) with docking binding energies all below -5 kJ/mol. Astragalus Injection significantly inhibited the proliferation, migration and invasion of SiHa cells,

disrupted cytoskeletal microfilament structure, and induced cell apoptosis, causing also significantly lowered protein levels of FOS, CXCL8, CCL2, PPARG, Bcl-2, p-p65 and p-STAT3 and increased expressions of Bax and cleaved caspase-3. In the tumor-bearing mice, Astragalus Injection significantly suppressed xenograft growth, induced tumor tissue necrosis, and reduced the expressions of CCL2, PPARG and FOS. **Conclusion** Astragalus Injection inhibits cervical cancer progression by downregulating multiple target proteins, damaging microfilament structure, weakening tumor cell motility and promoting apoptosis.

Keywords: Astragalus injection; cervical cancer; network pharmacology; microfilament; cell apoptosis

收稿日期: 2025-12-04

基金项目: 陕西省教育厅专项科研计划项目 (23JK0732); 陕西省科技厅科技资源开放共享平台 (2024CX-GXPT-27); 陕西省大学生创新创业计划训练项目 (S202410719094; S202510719111); 延安市科技计划项目 (2023-SFGG-098); 延安市科学技术协会青年人才托举计划项目 (2023-20-1)

作者简介: 马园园, 在读硕士研究生, 主治医师, E-mail: 304769958@qq.com; 刘悦, 在读硕士研究生, E-mail: liuyue10222001@163.com; 高宁, 博士, 讲师, 硕士生导师, E-mail: yadxaoning@163.com。马园园、刘悦、高宁共同为第一作者

通信作者: 赵菊梅, 博士, 教授, 硕士生导师, E-mail: jmz2003.stu@163.com

宫颈癌(CC)是女性最常见恶性肿瘤之一,其中高危型人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌发病的主要危险因素^[1]。HPV长期感染会导致宫颈细胞发生异常突变^[2]。宫颈癌治疗主要采用手术、放疗、化疗和靶向治疗等综合方法,但这些治疗手段可能带来中性粒细胞减少、周围神经病变、肾毒性等副作用^[3]。近些年,中药在抗肿瘤治疗的研究已从细胞水平发展到分子和遗传水平,中药在抗肿瘤治疗中具有治疗效果好、副作用小等优势,为临床治疗和用药提供了坚实的理论基础^[4]。

黄芪是豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪干燥根,发挥补气升阳、固表止汗的作用^[5]。黄芪注射液为临床常用抗肿瘤辅助类药物,源于传统中药黄芪,其药理活性依赖于注射液中富集的多种有效成分^[6]。研究表明黄芪可通过诱导肿瘤细胞凋亡、抑制增殖与上皮-间质转化(EMT)、调控肿瘤免疫微环境及逆转化疗耐药等途径发挥抗肿瘤效应^[7]。

网络药理学是揭示中药主要活性成分与药物作用的潜在靶点和机制^[8]。这种方法与中医的整体治疗观和中药调控理念相符,并在中药及其复方研究中得到广泛应用^[9]。

在宫颈癌进展中,细胞凋亡的异常逃逸赋予肿瘤细胞“生存优势”以实现无限增殖^[10],而细胞微丝骨架结构的恶性重构则为肿瘤细胞侵袭转移搭建“结构基础”^[11],二者的协同作用是推动疾病恶性演进的关键病理环节。IL-17作为介导炎症反应的关键促炎细胞因子,通过结合细胞膜表面IL-17RA/IL-17RC受体复合物启动胞内信号传导^[12],其核心信号通路包含NF- κ B与JAK-STAT3两大关键轴系^[13]:可调控NF- κ B p65(Ser536)和STAT3(Tyr705)的磷酸化活化,并进一步影响下游转录因子FOS^[14]、趋化因子CXCL8(IL-8)^[15]、CCL2(MCP-1)^[16]及代谢调控因子PPAR γ (PPARG)^[17]的表达,参与炎症反应、增殖侵袭及脂质代谢稳态调控。肿瘤微环境中的趋化因子CCL2通过影响肿瘤相关巨噬细胞极化改变,进一步促进宫颈癌进展^[18]。CXCL8通过促进血管生成、肿瘤细胞增殖、侵袭和转移,以及调节肿瘤免疫微环境来推动宫颈癌的恶性进展^[19]、FOS通过调节STAT3信号通路,促进宫颈癌细胞快速增殖^[20]。而PPARG的异常激活与宫颈癌的进展密切相关,其高表达可能通过打破脂质稳态促进肿瘤生长^[21]。上述分子共同构成的调控网络,不仅参与炎症反应的放大,还与线粒体功能、细胞凋亡^[22]及微丝骨架重塑密切相关^[23]。此外,现有针对黄芪抗宫颈癌的研究多聚焦单一活性成分,且机制探索仅局限于凋亡、侵袭等单一病理环节,尚未系统解析黄芪注射液多活性成分协同调控宫颈癌多通路、多靶点的分子机制。针对上述研究空白,本研究通过网络药理学联合细胞、动物实验,明确黄芪

注射液干预宫颈癌的核心活性成分与关键调控靶点,解析其同步调控肿瘤细胞凋亡、细胞骨架重塑及肿瘤微环境的分子调控网络,阐明中药复方“多成分-多靶点”协同干预宫颈癌核心病理进程的科学内涵,为宫颈癌靶向治疗挖掘新靶点,也为黄芪注射液临床用于宫颈癌综合治疗提供实验依据与理论支撑。

1 材料和方法

1.1 细胞与主要试剂

人宫颈癌SiHa细胞由延安大学医学研究实验中心提供;SPF级BALB/C雌性小鼠(华联科生物);10%胎牛血清(恩莫阿赛生物);RPMI 1640培养基(赛默飞世尔);黄芪注射液(珍宝岛药业);CCK-8溶液(睿思科生物);AO/EB试剂盒(雷根生物);JC-10线粒体膜电位检测试剂盒(艾科瑞生物);BCA试剂盒(白鲨生物);5 $\times$ 蛋白上样缓冲液(领科生物);Western blotting相关一抗: CXCL8、CCL2、PPARG、FOS、STAT3、STAT3(Tyr705)、NF- κ B p65(优品生物);BAX、BCL2、Caspase3/p17/p19(三鹰生物);GAPDH(塞维儿);兔抗(正能生物);鼠抗(亲科生物);1%蛋白酶抑制剂、ECL化学显影(碧云天生物);免疫组化相关一抗: CCL2、PPARG(索莱宝);DAB显色液(博士德生物);CO₂恒温细胞培养箱(艾本德);倒置显微镜(尼康);酶标分析仪(美谷分子仪器);激光共聚焦显微镜(蔡司)。

1.2 方法

1.2.1 黄芪注射液数据收集 通过中药系统药理学数据库分析平台TCMSP(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>),以“黄芪”为检索词,依据口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$,药物相似性(DL) ≥ 0.18 作为筛选标准。将筛选后的相关基因数据在UniProt数据库(<https://www.uniprot.org>)进行翻译其基因名,对无对应靶点的黄芪注射液活性成分进行剔除。

1.2.2 宫颈癌数据收集 分别在Genecards数据库(<https://www.genecards.org>)、NCBI数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)与OMIM数据库(<https://www.omim.org/>)中以“Cervical cancer”词条进行检索宫颈癌相关的作用靶点,将获得的3个相关靶点集合进行整理。

1.2.3 获取黄芪注射液-宫颈癌共同靶点 将黄芪注射液作用靶点与宫颈癌疾病作用靶点进行归纳整理,并使用微生信在线平台(<http://www.bioinformatics.com.cn>)进行绘制韦恩图,获得黄芪注射液-宫颈癌共同靶点。

1.2.4 “中药-活性成分-靶点-疾病”网络 使用Cytoscape 3.9.1软件对处理后的数据进行绘制中药、活性成分与疾病靶点网络图。通过内置插件centiscape计算度值,

度值(Degree)越大,代表在本网络中组分信息的交互关系越多,重要程度越高,根据结果筛选出关键成分。

1.2.5 蛋白质-蛋白互作网络(PPI)的构建 将筛选出的黄芪注射液-宫颈癌共同靶点导入 string 网站(<https://cn.string-db.org>)进行 PPI 相互作用网络分析,借助 Cytoscape 3.9.1 软件计算相关拓扑参数,分析 PPI 网络中的关键靶点。使用 MCODE 插件,对 PPI 网络进行聚类分析,获得主要子网络;使用 CytoHubba 插件进一步计算网络 PPI 网络排名,并选择 mcc 算法进行分析,对排名前十的靶点展示。

1.2.6 富集分析 富集分析是一种生物信息学方法,用于确定一组基因或蛋白质在特定的生物过程、代谢路径或细胞组分中是否过表示。通过 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov>)对黄芪注射液-宫颈癌共同靶点富集分析,其中物种选择为“Homo sapiens”。富集分析选项中的重点项目包括:基因本体论分类(GO)的功能注释富集分析、通路富集分析(KEGG)。使用微生信平台进行可视化,GO 以气泡图形式、KEGG 以条形图分别展示前 20 的功能和通路。

1.2.7 分子对接 通过“中药-活性成分-靶点-疾病”网络对靶点进行选择,在 PubChem 在线数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)下载黄芪注射液活性成分, RCSB PDB 数据库(<http://www.rcsb.org>)中下载核心靶点的 3D 结构。利用 Open Babel、Autodock4 对靶点受体、分子配体进行处理,如靶点去水分子、添加氢原子和计算电荷数等,分子文件后缀修改、确定其构象、优化其能量等。利用 Autodock4 进行分子对接,对接方式选择半柔性对接,对接完成后选择最优的结合方式利用 PyMOL 进行可视化。

1.2.8 细胞培养 人宫颈癌细胞 SiHa 细胞使用含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养,于 37 °C、5% CO₂ 条件下于 CO₂ 恒温细胞培养箱培养,细胞长至 80%~90% 密度进行传代,该细胞由延安大学医学研究实验中心提供。

1.2.9 CCK-8 法检测细胞增殖 将 SiHa 细胞接种于 96 孔板中,5×10³/孔。不同浓度(0、200、400、600、800 mg/mL)的黄芪注射液,分别处理 0、24、48 h。每组设 5 个复孔,加入 CCK-8 试剂 10 μL,孵育 2 h 后使用酶标分析仪测定吸光度 A_{450nm}。使用 GraphPad Prism 10 进行统计分析。

1.2.10 划痕实验检测细胞迁移能力 将 SiHa 细胞接种于 6 孔板中,无血清培养基培养 24 h 后,用无菌 200 μL 枪头在 6 孔板孔底划出两条直线,用 PBS 清洗 2 遍,分别设置对照组和实验组(400 mg/mL),划线后分别于 0、72 h 在倒置显微镜下拍照观察划痕愈合度,并分析细胞的迁移情况。

1.2.11 Transwell 实验检测细胞迁移能力 将 SiHa 细胞按照 3×10⁵ 的数量接种于 Transwell 小室中,下室加入含 10% FBS 的培养基,上室加入无血清培养基。对照组和实验组细胞处理后,用含 10% FBS 的培养基诱导细胞迁移 48 h。用棉签去除小室壁上未迁移细胞,用多聚甲醛固定 40 min 后用结晶紫进行染色 30 min 后计数 SiHa 细胞迁移情况,并用 ImageJ 软件统计各组每个视野下迁移的细胞数目。

1.2.12 Transwell 实验检测细胞侵袭能力 提前 1 d 取出 -20 °C 基质胶于 4 °C 过夜使其融化,次日,无血清培养基:基质胶的比例按照 1:9 比例进行稀释,将稀释后的基质胶按照 100 μL/孔的体积加入 transwell 小室内,放入培养箱培养 30 min,直至凝固。其他步骤同细胞迁移实验。

1.2.13 克隆形成实验 将 SiHa 细胞按照 1×10³/孔接种于 6 孔板中,放入 37 °C 培养箱培养 24 h 后,其中 3 个复孔更换不含药的完全培养基,另外 3 个复孔更换含药培养基处理后培养 10 d,用 4% 多聚甲醛固定、染色后 PBS 冲洗晾干,使用 ImageJ 软件对细胞克隆形成数目进行统计和量化。

1.2.14 考马斯亮蓝染色 取对数生长期宫颈癌 SiHa 细胞,以 1×10⁵/孔接种于含盖玻片的 6 孔板,贴壁培养 24 h 后分为对照组与实验组,均 37 °C、5% CO₂ 培养 48 h;培养结束后,PBS 洗涤细胞 3 次,4% 多聚甲醛室温固定 30 min,再次 PBS 洗涤后加考马斯亮蓝 R-250 染色液室温避光染色 20~30 min,用无水乙醇-冰乙酸混合脱色液(9:1)漂洗至背景无色,置于倒置显微镜下拍照观察。

1.2.15 细胞微丝骨架染色 细胞骨架微丝结构染色:在 6 孔板内放入无菌盖玻片,将 SiHa 细胞接种于 6 孔板内进行培养,待细胞密度达到 70% 左右,对照组更换正常培养基,实验组更换含药培养基,37 °C 培养箱培养 48 h,4% 多聚甲醛固定 30 min,PBS 洗 3 次,0.1% Triton X-100 透化 10 min,5% BSA 封闭 30 min,加入 FITC 标记的鬼笔环肽(1:200),37 °C 避光染色 1 h,用 PBS 洗 3 次去除多余染料,DAPI 染核后封片,置于激光共聚焦显微镜下观察细胞骨架微丝形态变化。

1.2.16 AO/EB 双荧光染色法检测细胞凋亡 首先将细胞培养至 6 孔板,24 h 后实验组加入含药培养基继续培养 48 h,将细胞用胰酶消化离心后,加入适量的 PBS 进行细胞重悬。配制 AO/EB 工作液,按照 1:1:8 的比例进行配制。取 25 μL 的细胞悬液加入 2.5 μL 的 AO/EB 工作液混匀,室温孵育 10 min 后取 10 μL 滴加在载玻片上,盖上爬片置于荧光显微镜下观察并拍照,通过图像分析计算凋亡细胞比例。

1.2.17 JC-10 线粒体检测细胞凋亡 配制 JC-10 染色工作液:使用细胞培养基将 JC-10 染色工作液(200 μm)稀

释成终浓度为2 $\mu\text{mol/L}$ 的染色工作液,剧烈震荡使其溶解。细胞培养同上,处理48 h后,用PBS冲洗1次,再加入1 mL JC-10染色工作液使其完全覆盖6孔板底面,放入37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱孵育30 min后,用激光共聚焦显微镜观察。

1.2.18 Western blotting 检测相关蛋白的表达 细胞培养处理48 h后,弃去培养基,用预冷PBS洗涤细胞3次。每皿加入100 μL 含1%蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液,冰上裂解5 min。用细胞刮刀收集裂解液,10 min/次震荡离心 $\times 4$ 次,4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min离心15 min,收集上清液,即为总蛋白提取物。用BCA试剂盒检测蛋白浓度,调至统一浓度,将蛋白样品与5 $\times$ 上样缓冲液按4:1比例混合,100 $^{\circ}\text{C}$ 煮沸10 min使蛋白变性。取20 μg 蛋白进行SDS-PAGE,电泳。电泳分离蛋白后转移至PVDF膜,恒流转膜结束后用5%的脱脂牛奶室温封闭1 h。分别加入CXCL8、CCL2、PPARG、FOS、STAT3、STAT3 (Tyr705)、NF- κB p65、p-p65 (Ser536)、BAX、BCL2、Caspase3/p17/p19、GAPDH对应的一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育过夜。次日加兔抗、鼠抗二抗室温孵育1.5 h后使用ECL化学显影曝光并采集图片。条带的灰度值用ImageJ软件进行分析。

1.2.19 黄芪注射液的抑瘤效应 选择SPF级BALB/C雌性小鼠,体质量(20 $\pm$ 2)g,并由我院实验室动物中心饲养。在实验前均适应性喂养1周,饲养温度22~26 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度50%~70%。本实验已获得动物实验伦理委员会审批通过(伦理批号:A-2026008)。将U14鼠源宫颈癌细胞接种至BALB/C雌性小鼠皮下构建皮下荷瘤模型,待肿瘤可触及后将8只荷瘤小鼠随机分为对照组和黄芪注射液处理组,4只/组;对照组腹腔注射等量生理盐水,黄芪注射液组腹腔注射黄芪注射液(8.0 g/kg),连续给药8 d。给药期间定期采用游标卡尺测量肿瘤长径、短径,肿瘤体积计算公式为(长径 $\times$ 短径 ^{2})/2,绘制肿瘤生长曲线;剥离的肿瘤组织经生理盐水漂洗3次后,取部分新鲜瘤组织以4%多聚甲醛固定24 h,经脱水、石蜡包埋、切片后行苏木精-伊红(HE)染色,中性树胶封片,光学显微镜下观察肿瘤细胞形态、坏死等病理学改变;剩余石蜡切片行免疫组织化学染色,依次完成脱蜡、抗原修复、封闭、一抗CCL2(1:50)、PPARG(1:50)、FOS(1:200)及二抗孵育、DAB显色、复染封片,镜下观察并统计各组CCL2、PPARG、FOS蛋白阳性表达率。

1.2.20 统计学分析 用GraphPad Prism 10.1.2软件进行统计分析,所有实验均设置3个技术重复及3次生物学重复。实验结果以均数 $\pm$ 标准差表示,使用ImageJ软件进行细胞计数/荧光强度等指标的定量分析。两组数据比较采用双尾 t 检验;多组数据比较采用单因素/双因

素ANOVA分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芪注射液抑制SiHa细胞的增殖

与空白对照组相比,不同浓度的黄芪注射液对SiHa细胞的增殖均具有抑制作用,且呈现的浓度依赖性和时间依赖性,随着黄芪注射液浓度的升高和作用时间的延长,细胞的存活率明显下降(图1A)。黄芪注射液对SiHa细胞株在24 h和48 h的 IC_{50} 值分别647.7 mg/mL和454.4 mg/mL(图1B),因此,选择药物在持续作用下对SiHa细胞具有抑制作用且最接近 IC_{50} 的400 mg/mL作为实验条件进行后续研究。平板克隆形成实验结果表明,黄芪注射液能显著抑制SiHa细胞形成细胞集落,对照组细胞可形成大量大小不一的克隆团,而药物处理组的克隆形成数目显著减少,且形成的克隆体积较小(图1C),差异具有统计学意义($P<0.001$,图1D)。

2.2 黄芪注射液抑制SiHa细胞的迁移和侵袭

划痕实验结果显示,0 h时对照组和实验组细胞之间的划痕区域基本一致,72 h后对照组的划痕区域几乎被细胞完全填充,而药物处理组中的伤口愈合速度明显减慢,这表明黄芪注射液能够有效抑制宫颈癌细胞的迁移能力(图2A),统计结果显示对照组的细胞迁移率高于药物处理组($P<0.001$,图2B)。Transwell迁移实验结果显示,药物处理组中穿过小室膜的细胞数量少于对照组(图2C),统计结果显示黄芪注射液处理组抑制了细胞的迁移能力($P<0.05$,图2D)。Transwell侵袭实验结果显示,在铺有基质胶的基底膜中,SiHa细胞穿过小室孔洞的能力整体受阻,但在药物处理组中更为显著(图2E)。统计结果显示相对于对照组,处理组的侵袭细胞数减少($P<0.001$,图2F)。

2.3 黄芪注射液与宫颈癌交集靶点

本研究通过TCMSP挖掘了20种黄芪注射液活性成分(表1),并根据黄芪注射液活性成分共获得202个潜在蛋白靶点。以“Relevance score”的2倍中位数为筛选标准,在GeneCards数据库中进行检索,收集到宫颈癌相关靶点2028个,在OMIM数据库中收集到206个相关靶点,在NCBI数据库中收集到1861个相关靶点。将3个数据库收集到的宫颈癌相关靶点进行去重,得到后续数据处理的靶点共有3190个,将各个数据集整理绘制韦恩图(图3A)。将黄芪注射液活性成分的202个靶点与宫颈癌相关的3190个靶点取交集,共得到147个黄芪注射液-宫颈癌的共同靶点(图3B)。将黄芪注射液-宫颈癌相关的147个靶点通过String平台进行分析并导入Cytoscape中,利用MCODE插件进行分析,可得出PPI网络与子网络。此网络可以帮助确定一个蛋白质与其他蛋白质相互作用的联系,这对于研究蛋白质复

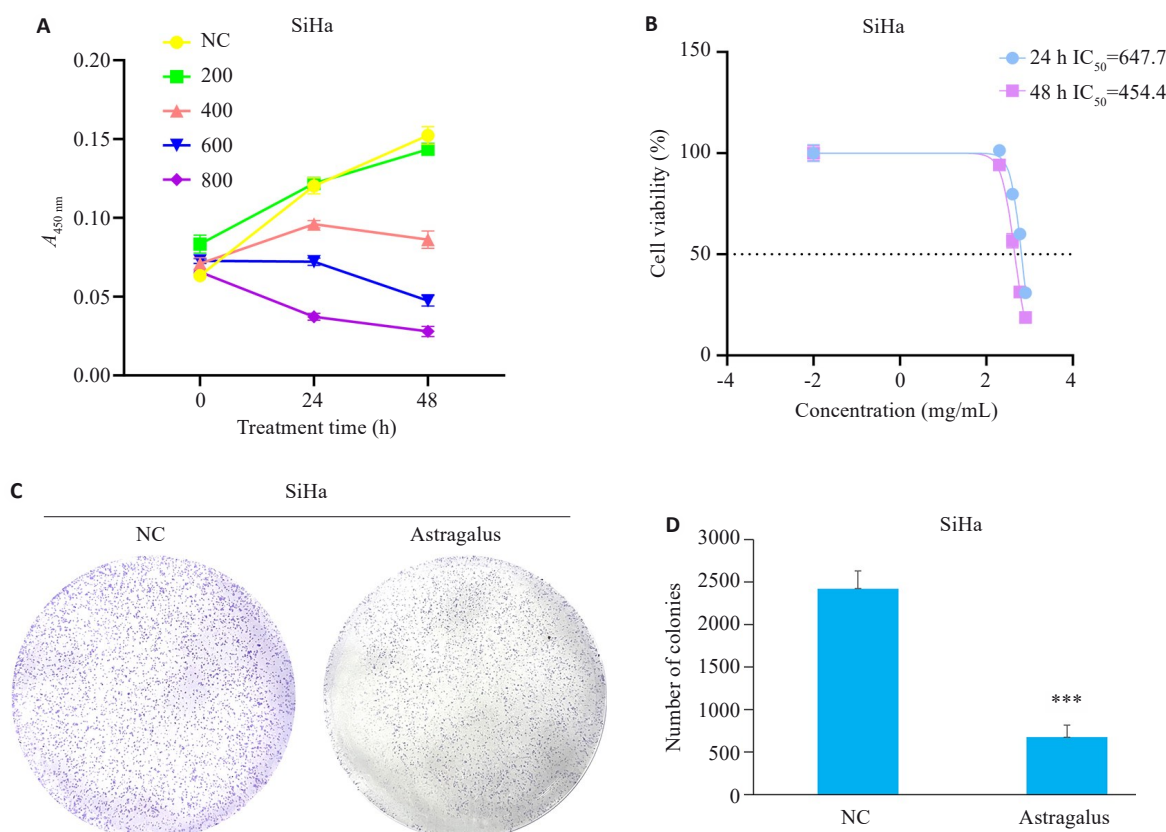


图1 黄芪注射液抑制宫颈癌细胞增殖

Fig.1 Astragalus Injection inhibits the proliferation of cervical cancer cells. A: CCK-8 assay for assessing proliferation of SiHa cells treated with Astragalus Injection for 0, 24, and 48 h. B: SiHa cell viability after intervention with different concentrations of Astragalus Injection for 24 and 48 h. C: Colony formation assay for assessing the effect of Astragalus Injection on proliferation of SiHa cells. D: Quantitative analysis of cell colony formation ($n=3$). *** $P<0.001$ vs NC.

合物的组成和功能以及药物研发都有重要意义。分析结果显示最左侧为147个靶点的PPI网络,其中节点147个,边3585条(图3C);中间为MCODE插件分析后,得分最高的子网络(图3D),得分为51.83,其中节点60个,边1529条。根据MCODE对靶点的评分进行筛选得到CCL2、CXCL8、FOS、PPARG为关键靶点(图3E)。

2.4 网络与可视化

利用得到黄芪抗宫颈癌的靶点进行反向筛选,剔除无抗宫颈癌作用的活性成分,共得到16种活性成分,将“中药-活性成分-靶点-疾病”间的联系进行可视化,网络组成成分包括:节点(Node)165个,代表组分的信息;边(Edge)480条,代表组分间的交互关系。其中,节点颜色深浅、字体大小随度值正向变化,突出显示的相关节点所代表活性成分或靶点可能在治疗过程中有重要作用(图4)。网络构建完成后,利用centiscape插件筛选出度值排名前5的活性成分(表2),为后续分子对接的活性成分筛选做准备。

2.5 富集分析结果

生物学过程(BP)显著富集条目512条,如:基因

表达的正调控、RNA聚合酶II转录的正调控、DNA模板转录的正调控等(图5A);细胞组分(CC)41条,包括含蛋白复合物、细胞外区、细胞外空间等(图5B);分子功能(MF)88条,涉及酶结合、蛋白质结合等(图5C)。KEGG富集分析是将关键靶点通过通路数据和反应式进行注释,找出在特定代谢或信号途径上显著富集的基因。KEGG富集分析结果包含153条,结果显著的前20条通路,主要包括癌症的通路、脂质和动脉粥样硬化、IL-17信号通路等通路(图5D)。

2.6 分子对接

5种成分与4个靶点之间的结合能均小于-5 kJ/mol,且靶点PPARG与药物的结合能均小于-7 kJ/mol(图6A)。结合能可以用来评估配体和受体之间的亲和力以及它们是否具有可能的生物活性,通常以结合能小于等于-5 kJ/mol作为筛选标准,这表示对接复合物稳定性较高且可能为有效的药物分子。药物与靶点蛋白之间的结合图左侧展示的为蛋白与与药物分子的结合位置,其中绿色结构为受体靶点、白色结构为分子配体,右侧放大图显示的是药物与蛋白之间形成的氢键及作用距

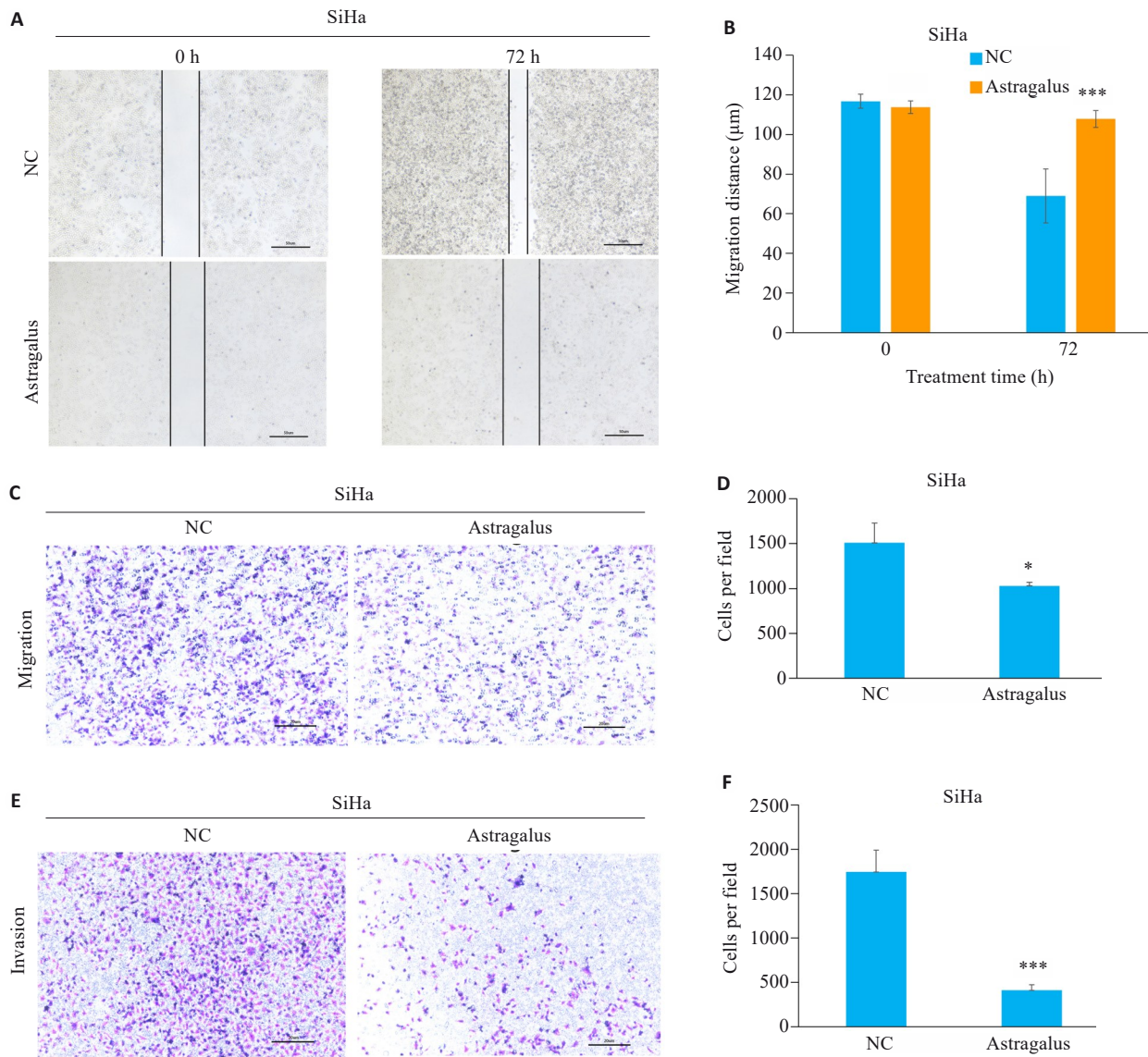


图2 黄芪注射液抑制宫颈癌细胞迁移、侵袭

Fig.2 Astragalus Injection inhibits migration and invasion of cervical cancer cells. **A, B:** Scratch assay for assessing the effect of Astragalus Injection on migration of cervical cancer cells (Scale bar=50 μm; $n=3$). **C, D:** Transwell assay for assessing migratory ability of SiHa cells (Scale bar=20 μm; $n=3$). **E, F:** Transwell assay for evaluating invasive ability of SiHa cells ($n=3$). * $P<0.05$, *** $P<0.001$ vs NC.

离(Å),绿色高亮结构为受体靶点的氨基酸残基结构,氨基酸残基与分子间黄色虚线代表氢键作用,数字代表两者间的距离(图6B~F)。

2.7 黄芪注射液对 SiHa 细胞关键通路及靶点蛋白表达的影响

蛋白印迹检测结果表明,经黄芪注射液处理后,核心靶点 FOS、PPARG、CXCL8、CCL2 蛋白的表达均受到明显抑制(图 7A),与对照组相比,加药组 FOS、CXCL8、CCL2、PPARG 蛋白的灰度值统计分析显示其表达水平降低($P<0.05$,图 7B)。IL-17 通路核心分子 p-STAT3 (Tyr705)、p-p65 (Ser536) 的磷酸化水平下调($P<0.05$),而总 STAT3、总 p65 蛋白表达无明显变化(图 7C、D)。

2.8 黄芪注射液对细胞骨架微丝结构及细胞形态的影响

通过考马斯亮蓝染色细胞形态后发现,对照组细胞贴壁生长良好,呈典型梭形,胞质经考马斯亮蓝染色后着色均匀,细胞边界清晰,细胞间连接紧密;实验组细胞贴壁能力明显下降,部分细胞脱离培养板表面,留存细胞形态显著改变,由梭形转为圆形,胞质着色不均,细胞间连接松散,提示黄芪注射液可诱导宫颈癌 SiHa 细胞形态由梭形向圆形转变,且伴随细胞贴壁能力及形态完整性下降(图 8A)。此外,用鬼笔环肽对细胞微丝进行荧光染色后发现,对照组宫颈癌细胞的微丝结构清晰、排列有序,具有典型的应力纤维和伪足结构,这与细胞活跃的运动和迁移能力相关。而黄芪注射液处理组的

表1 黄芪注射液活性成分信息
Tab.1 Information of active components of Astragalus Injection

Mol ID	Molecule name	OB (%)	DL
MOL000211	Mairin	55.38	0.78
MOL000239	Jaranol	50.83	0.29
MOL000296	hederagenin	36.91	0.75
MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.23	0.78
MOL000354	isorhamnetin	49.6	0.31
MOL000371	3,9-di-O-methylnissolin	53.74	0.48
MOL000374	5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside	41.72	0.69
MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.3
MOL000379	9,10-dimethoxypterocarpan-3-O-β-D-glucoside	36.74	0.92
MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42
MOL000387	Bifendate	31.1	0.67
MOL000392	formononetin	69.67	0.21
MOL000398	isoflavanone	109.99	0.3
MOL000417	Calycosin	47.75	0.24
MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
MOL000433	FA	68.96	0.71
MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26
MOL000439	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole	49.28	0.62
MOL000442	1,7-Dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	39.05	0.48
MOL000098	quercetin	46.43	0.28

OB: Oral Bioavailability; DL: Drug-likeness.

细胞,其微丝结构发生明显紊乱,应力纤维减少、断裂甚至消失,细胞伪足收缩,细胞形态趋于圆缩(图8B)。

2.9 黄芪注射液对SiHa细胞中线粒体膜电位的影响

JC-10荧光探针检测线粒体膜电位变化,结果显示黄芪处理SiHa细胞后,导致线粒体膜电位显著下降,红绿荧光比值降低(图9)。

2.10 黄芪注射液促进SiHa细胞的凋亡

药物处理组中具有凋亡特征的细胞数目增多,包括早期凋亡细胞的亮绿色凝缩染色质和晚期凋亡细胞的橘红色碎片状核(图10A、B)。Western blotting检测结果显示,与对照组相比,药物处理组中促凋亡蛋白BAX和Cleaved-Caspase3的表达水平显著升高($P<0.001$),而抗凋亡蛋白BCL2的表达水平明显降低($P<0.001$);总Caspase3蛋白表达无显著变化,但其活化形式Cleaved-Caspase3的相对表达量上调(图10C、D)。

2.11 黄芪注射液抑制宫颈瘤的成瘤能力

将U14鼠源宫颈癌细胞接种于6周龄BALB/C雌性小鼠皮下构建皮下荷瘤模型(图11A),造模成功后随机分为对照组与黄芪注射液处理组,对照组腹腔注射等

量生理盐水,黄芪注射液组腹腔给予8.0 g/kg黄芪注射液,连续给药8 d。肿瘤生长曲线结果显示,相较于对照组,黄芪注射液处理组肿瘤增殖速度显著放缓,各时间点肿瘤体积明显降低($P<0.01$,图11B)。实验终点处完整剥离各组小鼠心、肝、脾、肺、肾脏器并观察对比,两组小鼠脏器形态、大小无明显异常差异,未见明显充血、肿大、坏死等毒性损伤表现,提示黄芪注射液无明显体内毒副作用(图11C)。给药终点剥离瘤体,并进行测量,结果显示:相较于对照组,给药组瘤体减小(图11D)。HE染色观察肿瘤组织病理形态,镜下可见各组剥离标本均呈现肿瘤组织的组织学特征,即移植瘤模型荷瘤成功,且对照组肿瘤细胞排列致密拥挤,细胞核深染粗大、异型性显著,核分裂象丰富,肿瘤细胞增殖活性旺盛;黄芪注射液处理组肿瘤细胞密度降低,视野内可见淡染坏死灶,细胞出现核固缩、核碎裂等凋亡与坏死特征性病理损伤,提示黄芪注射液可抑制肿瘤组织恶性增殖(图11E)。免疫组化结果显示,与对照组相比,黄芪注射液处理组肿瘤组织CCL2、PPARG、FOS蛋白阳性表达率均低于对照组($P<0.001$)。提示黄芪注射液在体内可有

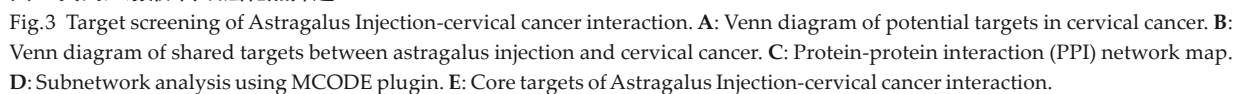


表2 黄芪注射液度值前5的活性成分
Tab.2 Top 5 active components of Astragalus Injection by degree value

Mol ID	Molecule name	Degree value
MOL000098	quercetin	125
MOL000422	kaempferol	44
MOL000392	formononetin	27
MOL000354	isorhamnetin	25
MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	25

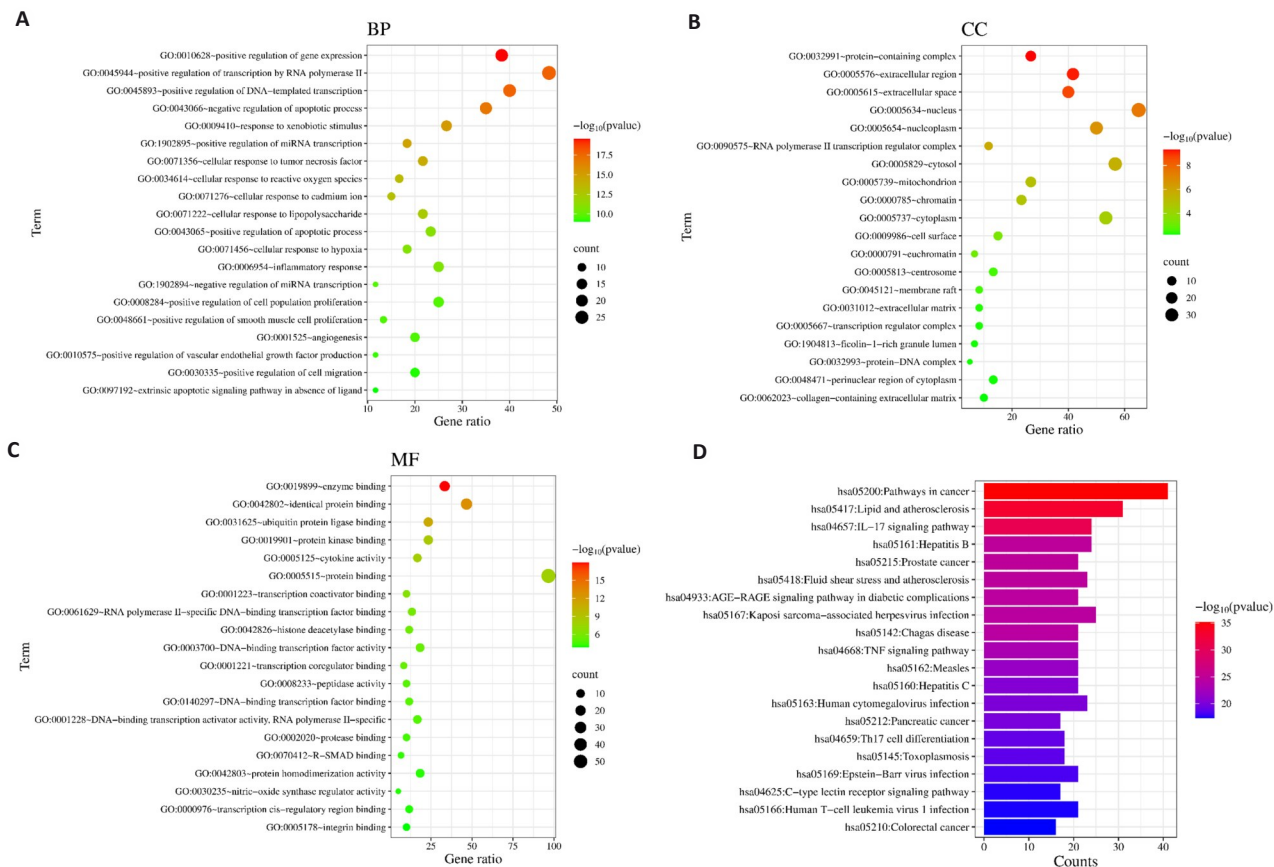


图5 富集分析
Fig. 5 Enrichment analysis of biological process (A), cellular component (B), molecular function (C) and KEGG enrichment analysis (D).

效抑制 U14 宫颈瘤皮下移植瘤增殖,诱导肿瘤组织细胞发生病理损伤,并下调 CCL2、PPARG、FOS 蛋白表达,进而发挥体内抗宫颈癌作用(图 11F)。

3 讨论

宫颈癌是全球女性癌症死亡的第 4 大原因。尽管在筛查、预防和治疗方面取得了进展,但宫颈癌仍然是一个重要的全球健康问题,尤其是在中等收入国家^[24]。由于宫颈癌的高发病率和死亡率,对有效的诊断、治疗和预防药物的需求未得到满足。目前,晚期转移性宫颈癌的首选治疗策略包括手术、放疗和化疗。然而,宫颈

癌逐渐对化疗产生耐药性,从而降低其疗效^[25, 26]。随着中医的发展,中医药在抗癌方面的作用而受到关注,中药类植物不仅可以有效缓解耐药问题^[27],还具有抗氧化、抗炎和抗癌细胞增殖潜力^[28]。

黄芪是一种豆科植物,含有黄芪甲苷、黄芪多糖、黄酮类化合物、胆碱、各种氨基酸等成分。本研究通过网络药理学、分子对接等手段,收集到黄芪注射液活性成分 20 种,得到黄芪注射液-宫颈癌共同靶点 147 个。其中,关键靶点的 GO、KEGG 富集分析发现黄芪注射液在多条信号通路中共同发挥抗宫颈癌作用,如 IL-17 信号通路、癌症相关通路,同时通过调控基因表达的正调控、

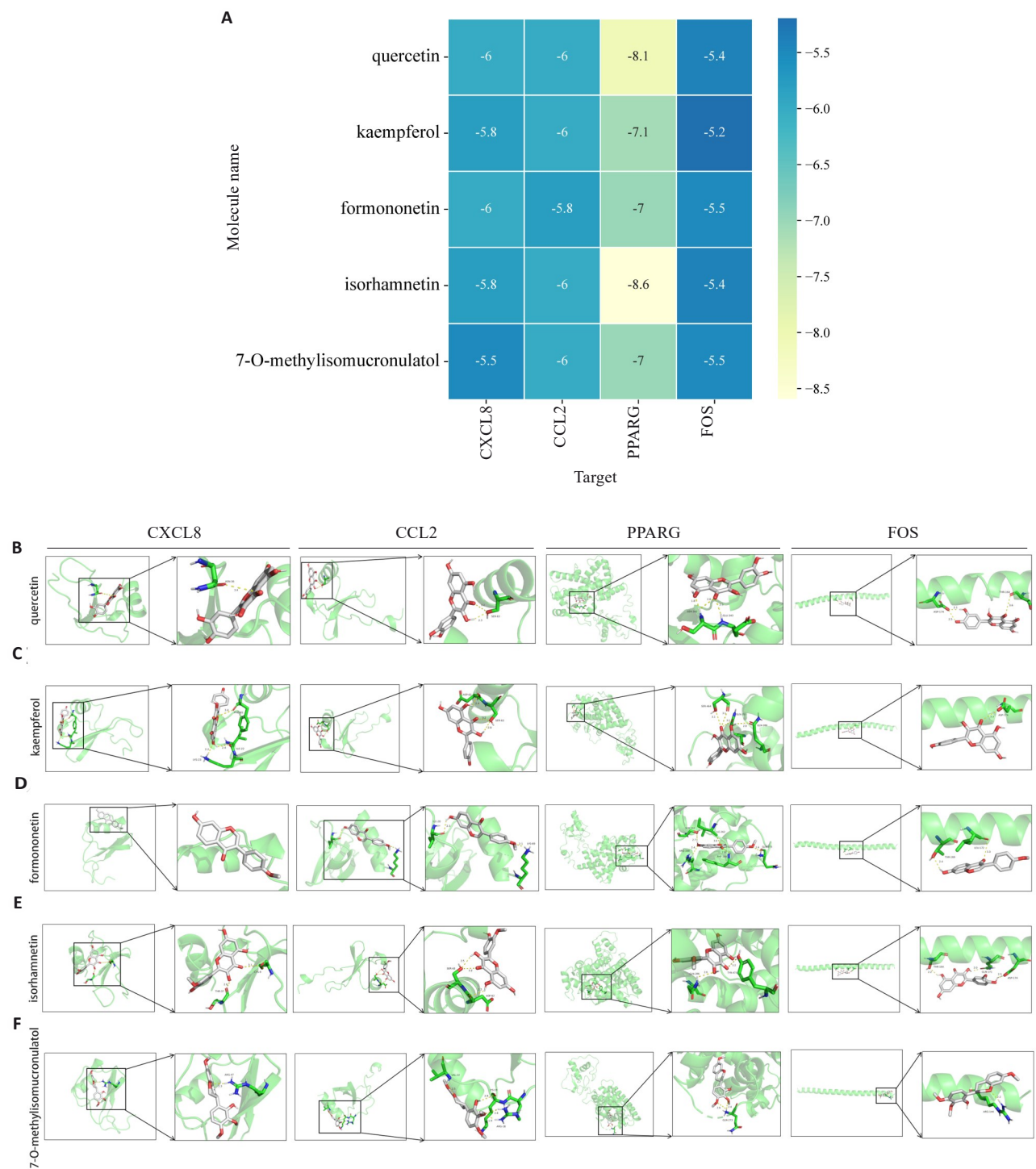


图6 活性成分与靶点蛋白的分子对接

Fig. 6 Molecular docking of active components with target proteins. A: Molecular docking binding energy results. B-F: Molecular docking interactions between the active components and CXCL8, CCL2, PPARG, and FOS, respectively.

RNA 聚合酶 II 转录的正调控等生物学过程,以及酶结合、蛋白质结合等分子功能,协同抑制宫颈癌细胞的增殖、侵袭等恶性表型。通过“中药-活性成分-靶点-疾病”网络筛选出黄芪注射液排名前五的活性成分分别为槲皮素、山奈酚、芒柄花素、异鼠李素和7-O-甲基异牡荆醇,而PPI网络分析筛选出黄芪注射液作用于宫颈癌核心靶点为:CCL2、CXCL8、FOS、PPARG。本研究将度

值排名前5的活性成分与4个核心靶点蛋白进行分子对接,结果显示,活性成分与核心靶点蛋白间均具有很好的结合能力。已有研究显示,山奈酚通过抑制血管内皮生长因子,减少肿瘤血管的形成,进而抑制肿瘤生长^[29]。芒柄花素能调节多条与癌症相关的信号通路,如PI3K/Akt、MAPK/ERK等,进一步抑制肿瘤细胞生长、分化和存活^[30]。伪足结构对细胞的运动、迁移和侵袭起重要作

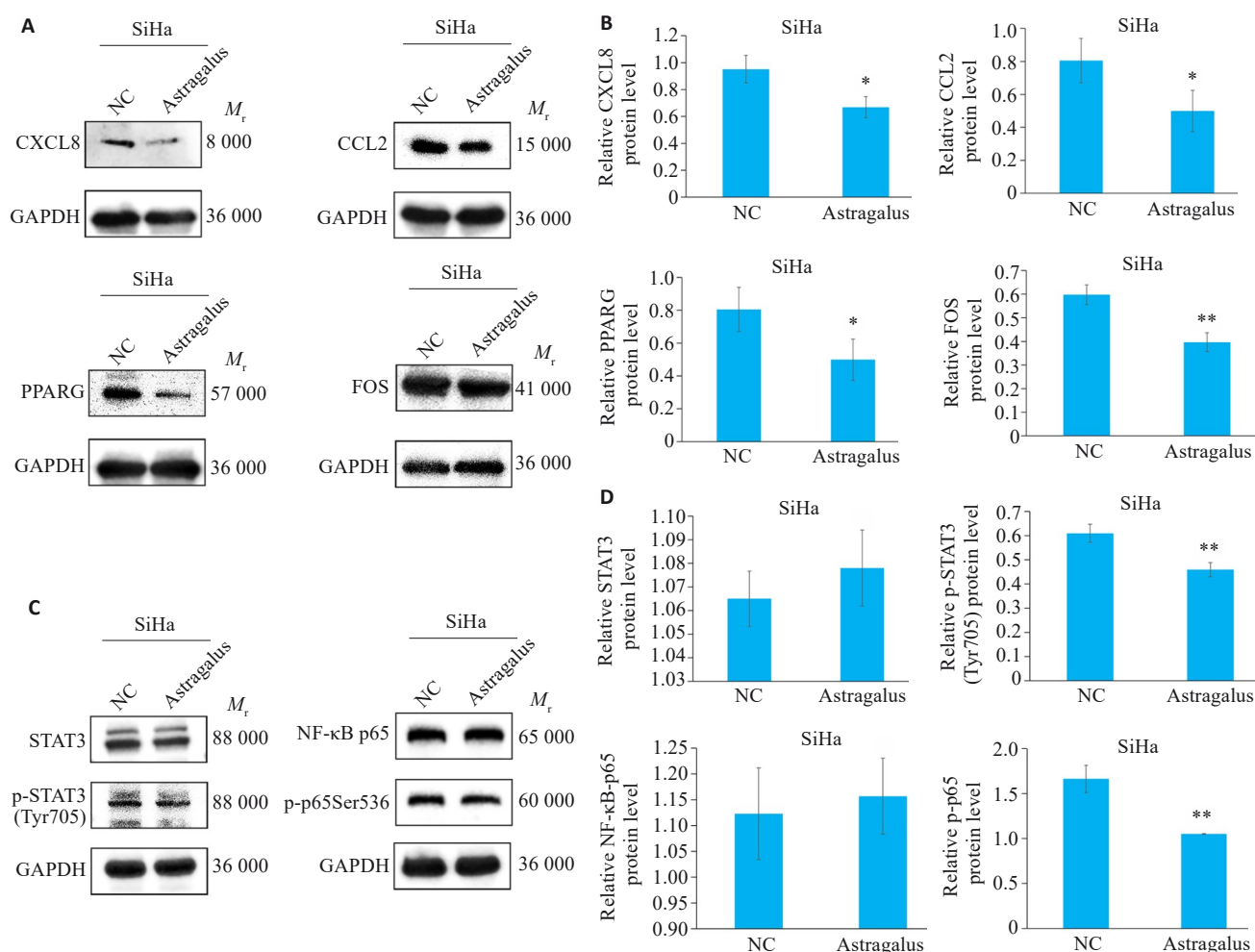


图7 黄芪注射液对 SiHa 细胞中关键通路及靶点蛋白表达的影响

Fig.7 Effect of Astragalus Injection on key pathways and target protein expression in SiHa cells. A, C: Western blotting for assessing alterations in the expression levels of key pathway and target proteins across the experimental groups, with GAPDH serving as the internal reference protein. B, D: Quantitative grayscale analysis of protein expression levels ($n=3$). * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs NC.

用^[31],研究显示,PI3K/Akt信号通路能够直接激活细胞伪足调控蛋白Rac1和Cdc42^[32],而细胞骨架结构是癌细胞伪足结构的重要组成部分,这为本研究中黄芪注射液可显著改善SiHa细胞骨架F-actin的恶性表型结果提供了分子机制的解析。此外,PI3K/Akt激活后可启动侵袭相关蛋白MMP2及MMP9,而槲皮素对PI3K/AKT通路的抑制可能会导致MMP2和MMP9下调^[33-35],这与本研究中黄芪注射液抑制了癌细胞的侵袭转移结果相符合^[36]。本研究中,CCK-8及克隆形成实验证实,黄芪注射液可剂量依赖性抑制SiHa细胞增殖,而AO/EB及JC-1染色结果显示其能显著提升细胞凋亡率,这与异鼠李素能够调控p53等多条信号通路,发挥诱导癌细胞G2/M期阻滞及凋亡的作用特征一致,且在癌相关成纤维细胞的研究中发现,异鼠李素可导致膜电位降低,并伴随耗氧率和ATP生成的下降,这表明异鼠李素可能通过抑制线粒体呼吸链来实现促进细胞凋亡^[37]。

本研究筛选的4个核心靶点形成的调控网络,是黄

芪注射液协同干预宫颈癌核心病理环节的关键。从靶点功能协同性分析:PPARG作为核受体,其在宫颈癌中的低表达可通过打破脂质稳态促进肿瘤生长^[38],而本研究分子对接显示槲皮素与PPARG结合能值低,提示槲皮素可能通过激活PPARG,一方面下调抗凋亡蛋白表达阈值以恢复细胞凋亡敏感性,另一方面调控细胞微丝相关蛋白(如肌动蛋白结合蛋白)的表达以抑制细胞伪足重构^[39,40];而FOS作为AP-1家族成员,是细胞周期与凋亡通路的关键调控因子,研究显示,山奈酚和异鼠李素能够激活p53通路诱导宫颈癌细胞凋亡^[41,42],提示黄芪注射液可能通过靶向调控PPARG、FOS,进而发挥类似的“抑增殖-促凋亡”效应。CXCL8与CCL2作为肿瘤微环境中关键的趋化因子,其高表达通常与癌细胞的迁移、侵袭能力正相关^[43,44],本研究中黄芪注射液显著抑制SiHa细胞划痕愈合、迁移及侵袭能力的实验结果,恰好对应了山奈酚、异鼠李素可通过抑制PI3K/Akt通路下调MMP2、MMP9以阻遏侵袭^[45,46],CXCL8、

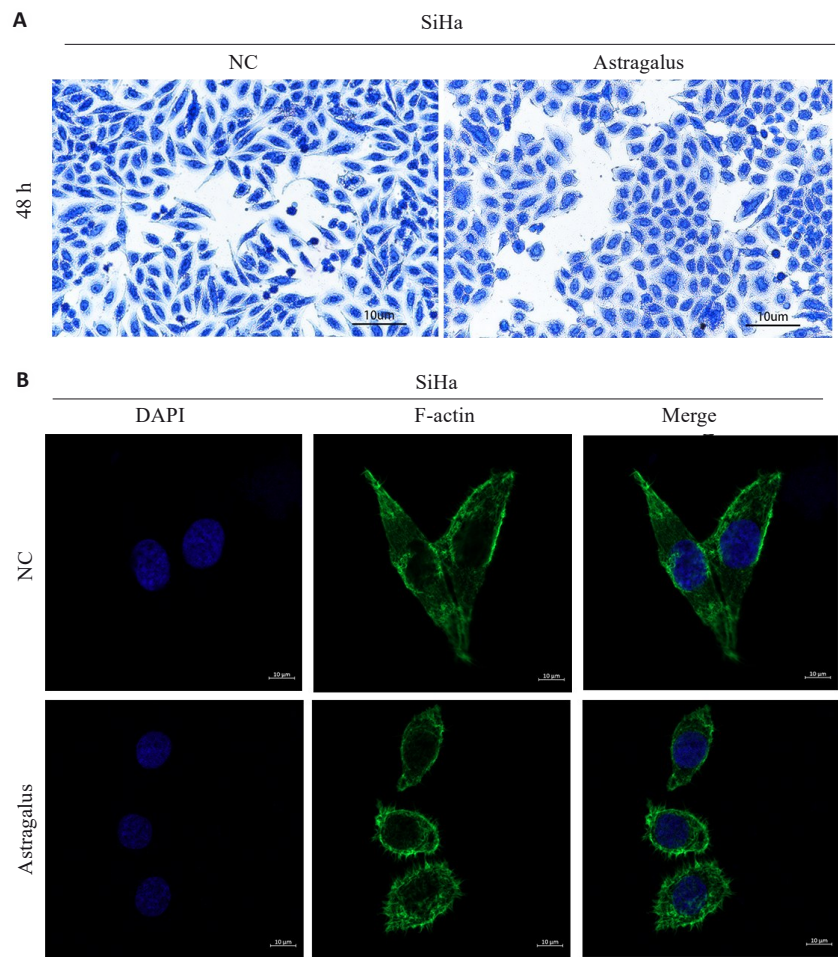


图8 黄芪注射液破坏细胞微丝结构
Fig.8 Astragalus Injection disrupts microfilament structure of SiHa cells. **A:** Morphology of cervical cancer SiHa cells after Astragalus Injection intervention (Coomassie Brilliant Blue staining, Scale bar=10 μm); **B:** Phalloidin staining of cervical cancer SiHa cells before and after treatment with Astragalus injection (Scale bar=10 μm).

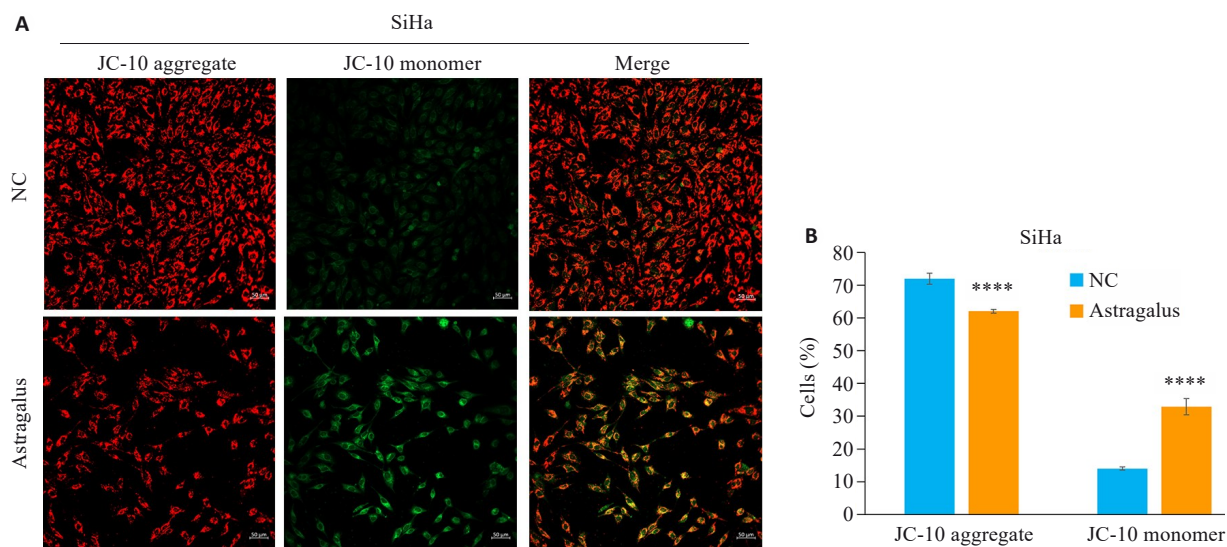


图9 黄芪注射液对SiHa细胞线粒体膜电位的影响
Fig.9 Effect of Astragalus Injection on mitochondrial membrane potential in SiHa Cells. **A:** JC-10 staining showing normal mitochondrial membrane potential in the control group, exhibiting red fluorescence. In contrast, the Astragalus Injection treatment group showed decreased mitochondrial membrane potential with enhanced green fluorescence (Scale bar=50 μm). **B:** JC-10 quantitative statistical analysis (n=3). ****P<0.0001 vs NC.

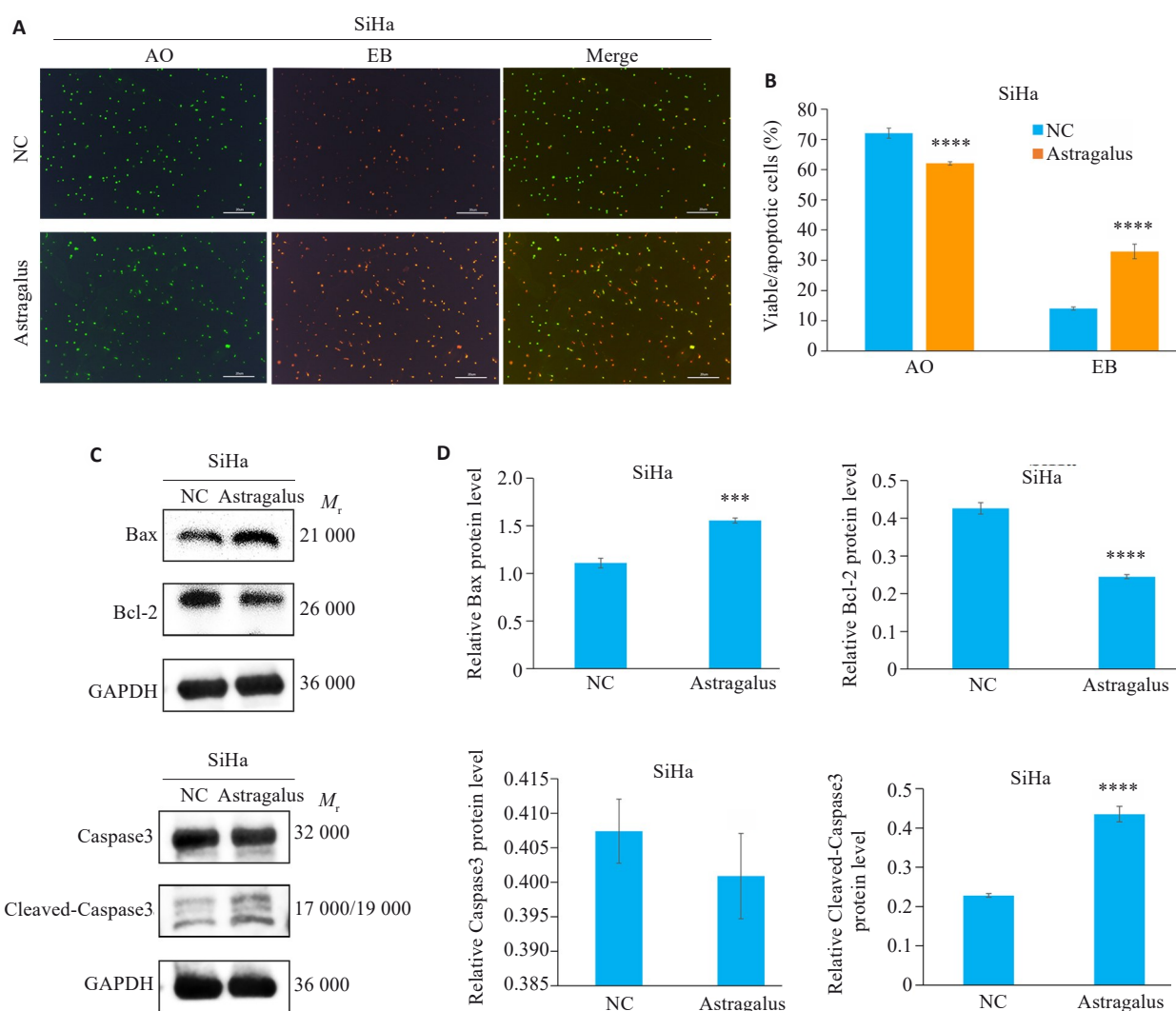


图10 黄芪注射液促进 SiHa 细胞的凋亡

Fig. 10 Astragalus Injection promotes apoptosis in SiHa cells. **A:** Astragalus Injection induces apoptosis *via* the mitochondrial pathway, as assessed by AO/EB staining. The nuclei in the control group exhibited uniform green fluorescence; The treated cells displayed characteristic apoptotic features, including chromatin condensation (bright green) and nuclear fragmentation (orange-red) (Scale bar=20 μ m). **B:** AO/EB quantitative statistical analysis ($n=3$). **** $P<0.0001$ vs NC; **C:** Western blotting of expression levels of apoptosis-related protein BAX, BCL2, caspase-3, and cleaved caspase-3, with GAPDH serving as the internal control protein. **D:** Quantitative grayscale analysis of protein expression levels ($n=3$). *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ vs NC.

CCL2 正是 PI3K/Akt 通路的上游调控因子之一,其表达降低不仅会减弱对 MMPs 的激活,还能减少对细胞伪足调控蛋白 Rac1、Cdc42 的刺激^[47, 48];而鬼笔环肽染色中 F-actin 骨架恶性表型的改善,也与这一信号的减弱直接相关,二者可通过招募肿瘤相关巨噬细胞构建免疫抑制微环境,并激活整合素通路引发骨架重排^[49, 50],这与细胞实验中“肿瘤细胞侵袭能力降低”的结果直接相关。

本研究通过网络药理学及细胞实验,探究了黄芪注射液抑制宫颈癌细胞的作用机制,并确定了黄芪注射液中主要的活性成分及针对宫颈癌细胞的作用靶

点,这弥补了传统中医理论在微观分子层面解释的不足,更为临床医生在宫颈癌综合治疗方案中合理使用黄芪注射液提供了系统理论支撑,也有助于为黄芪注射液在宫颈癌中的应用推广提供理论依据及指导意义。尽管本研究结合体外 SiHa 细胞实验与 U14 宫颈癌皮下荷瘤动物模型,初步阐明了黄芪注射液抗宫颈癌的作用及相关分子机制,但仍存在一定局限性:本研究尚未开展临床样本验证,且未对注射液进行成分分析以及抗癌机制进行深入探索,其临床转化潜力仍需后续研究进一步佐证。

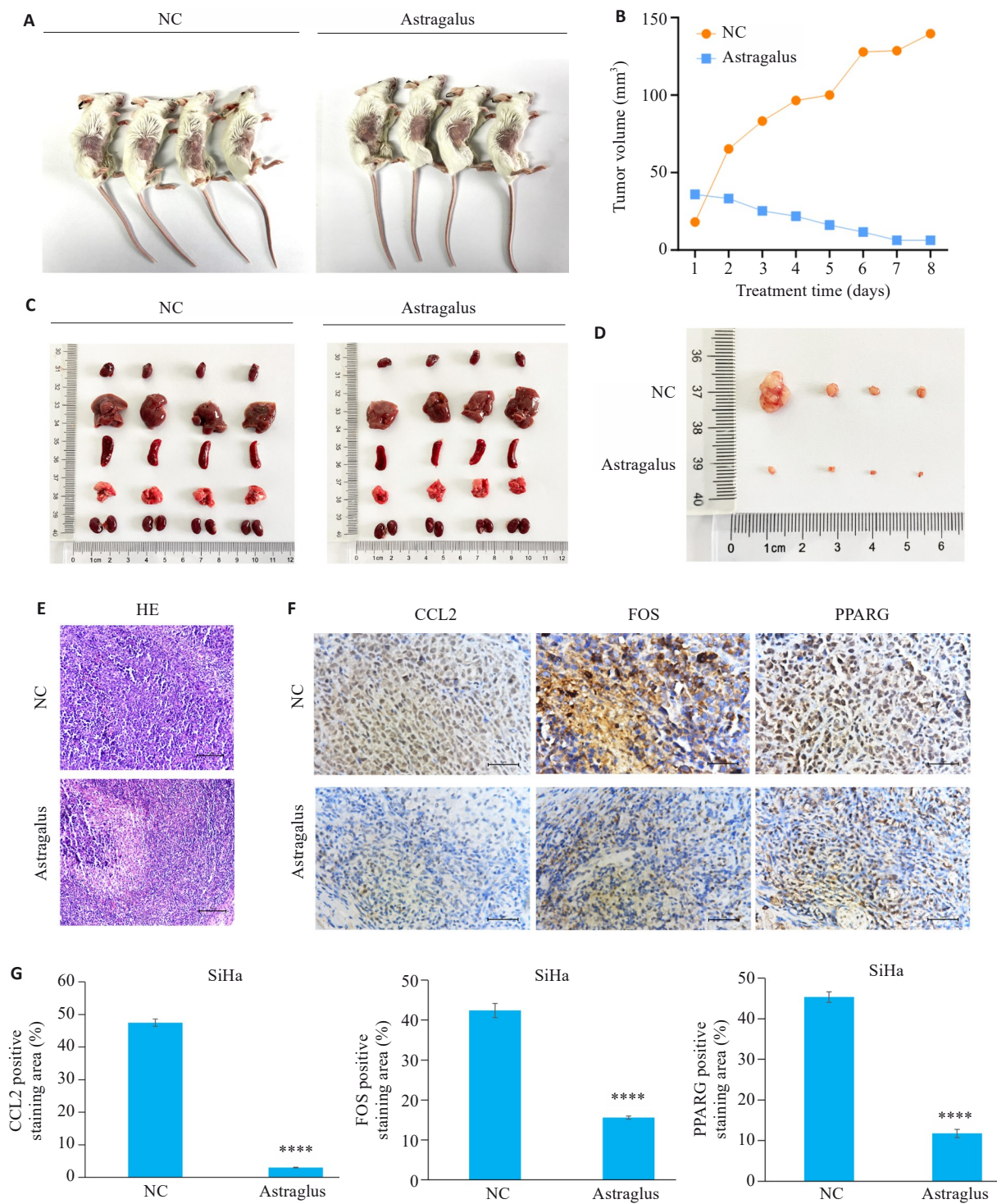


图 11 黄芪注射液对宫颈癌体内成瘤能力的抑制作用

Fig.11 Inhibitory effect of Astragalus injection on cervical cancer xenograft growth in mice. **A**: Macroscopic observation of subcutaneous tumor-bearing mice in the control group and the Astragalus injection treatment group. **B**: Tumor volume growth curve ($n=4$). $**P<0.01$ vs NC. **C**: Organ observation of mice in the control group and the Astragalus injection group. From top to bottom: heart, liver, spleen, lung, kidney. **D**: Dissected tumors at the end of treatment. **E**: Tumor tissue HE staining (Scale bar=10 μ m). **F**: Tumor tissue immunohistochemical staining for CCL2, FOS, and PPARG (Scale bar=5 μ m). **G**: Quantitative analysis of immunohistochemistry results. $****P<0.0001$ vs NC.

Declaration of interests: The authors declare no competing interests.

参考文献:

[1] Revathidevi S, Murugan AK, Nakaoka H, et al. APOBEC: a molecular driver in cervical cancer pathogenesis[J]. Cancer Lett, 2021, 496: 104-16.

[2] Duska LR, Podwika SE, Randall LM. Top advances of the year: Cervical cancer[J]. Cancer, 2024, 130(15): 2571-6.

[3] Gopu P, Antony F, Cyriac S, et al. Updates on systemic therapy for cervical cancer[J]. Indian J Med Res, 2021, 154(2): 293-302.

[4] Liu YL, Fang C, Luo JJ, et al. Traditional Chinese medicine for

- cancer treatment[J]. Am J Chin Med, 2024, 52(3): 583-604.
- [5] 李倩, 王璇, 尹东锋. 人宫颈癌紫杉醇耐药细胞株Hela/PTX的建立及其生物特性研究[J]. 中国药师, 2018(5): 787-91.
- [6] 张梅僊, 刘海龙, 王瑞琼, 等. 黄芪化学成分和药理作用及Q-marker预测分析[J]. 中国新药杂志, 2023, 32(4): 410-9.
- [7] Sheng FY, Yang SY, Li M, et al. Research progress on the anti-cancer effects of *Astragalus membranaceus* saponins and their mechanisms of action[J]. Molecules, 2024, 29(14): 3388.
- [8] Zhao L, Zhang H, Li N, et al. Network pharmacology, a promising approach to reveal the pharmacology mechanism of Chinese medicine formula[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 309: 116306.
- [9] Li X, Liu ZQ, Liao J, et al. Network pharmacology approaches for research of Traditional Chinese Medicines[J]. Chin J Nat Med, 2023, 21(5): 323-32.
- [10] Gutiérrez-Hoya A, Ortiz-Garrido I, Salazar-Valencia I, et al. Cervical cancer cells use the CD95 and IL-2 pathways to promote their proliferation and survival[J]. Biomolecules, 2024, 14(12): 1543.
- [11] Maiques O, Sallan MC, Laddach R, et al. Matrix mechano-sensing at the invasive front induces a cytoskeletal and transcriptional memory supporting metastasis[J]. Nat Commun, 2025, 16(1): 1394.
- [12] McGeachy MJ, Cua DJ, Gaffen SL. The IL-17 family of cytokines in health and disease[J]. Immunity, 2019, 50(4): 892-906.
- [13] Bai YF, Li HT, Lv R. Interleukin-17 activates JAK2/STAT3, PI3K/Akt and nuclear factor- κ B signaling pathway to promote the tumorigenesis of cervical cancer[J]. Exp Ther Med, 2021, 22(5): 1291.
- [14] Moon YM, Lee SY, Kwok SK, et al. The fos-related antigen 1-JUNB/activator protein 1 transcription complex, a downstream target of signal transducer and activator of transcription 3, induces T helper 17 differentiation and promotes experimental autoimmune arthritis[J]. Front Immunol, 2017, 8: 1793.
- [15] Rahman MS, Yang J, Shan LY, et al. IL-17R activation of human airway smooth muscle cells induces CXCL-8 production via a transcriptional-dependent mechanism[J]. Clin Immunol, 2005, 115(3): 268-76.
- [16] Shahrara S, Pickens SR, Mandelin AM, et al. IL-17-mediated monocyte migration occurs partially through CC chemokine ligand 2/monocyte chemoattractant protein-1 induction[J]. J Immunol, 2010, 184(8): 4479-87.
- [17] Liu YH, Tsai YS, Lin SC, et al. Quantitative PPAR γ expression affects the balance between tolerance and immunity[J]. Sci Rep, 2016, 6: 26646.
- [18] Zhang JJ, Liu W, Xing GZ, et al. Role of CC-chemokine ligand 2 in gynecological cancer[J]. Cancer Cell Int, 2022, 22(1): 361.
- [19] 陆贵伟, 吴华. CXCL8及其受体在肿瘤细胞中的作用研究进展[J]. 中外医学研究, 2023, 21(26): 177-81.
- [20] Thakur K, Janjua D, Aggarwal N, et al. Physical interaction between STAT3 and AP1 in cervical carcinogenesis: Implications in HPV transcription control[J]. Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis, 2023, 1869(8): 166817.
- [21] Liu X, Zhu YQ, Huang S, et al. Multiomics analysis of metabolic heterogeneity in cervical cancer cell lines with or without HPV[J]. Front Oncol, 2023, 13: 1194462.
- [22] Kim EK, Kwon JE, Lee SY, et al. IL-17-mediated mitochondrial dysfunction impairs apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through activation of autophagy[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(1): e2565.
- [23] Das S, Srinivasan S, Srivastava A, et al. Differential influence of IL-9 and IL-17 on actin cytoskeleton regulates the migration potential of human keratinocytes[J]. J Immunol, 2019, 202(7): 1949-61.
- [24] Dicu-Andrescu IG, Marincaș AM, Ungureanu VG, et al. Current therapeutic approaches in cervical cancer based on the stage of the disease: is there room for improvement? [J]. Medicina, 2023, 59(7): 1229.
- [25] Shoaib S, Islam N, Yusuf N. Phytocompounds from the medicinal and dietary plants: multi-target agents for cervical cancer prevention and therapy[J]. Curr Med Chem, 2022, 29(26): 4481-506.
- [26] Xu WB, Xie SD, Chen X, et al. Effects of quercetin on the efficacy of various chemotherapeutic drugs in cervical cancer cells[J]. Drug Des Dev Ther, 2021, 15: 577-88.
- [27] Liao XZ, Gao Y, Zhao HW, et al. Cordycepin reverses cisplatin resistance in non-small cell lung cancer by activating AMPK and inhibiting AKT signaling pathway[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 8: 609285.
- [28] Yadav N, Parveen S, Banerjee M. Potential of nano-phytochemicals in cervical cancer therapy[J]. Clin Chim Acta, 2020, 505: 60-72.
- [29] 杨倩宇, 王茜, 赵森, 等. 黄芪-莪术影响HIF-1 α /VEGF抑制肺癌血管生成相关信号通路的网络药理学研究[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(1): 425-30.
- [30] Almatroodi SA, Almatroudi A, Ali Khan A, et al. Potential therapeutic targets of formononetin, a type of methoxylated isoflavone, and its role in cancer therapy through the modulation of signal transduction pathways[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(11): 9719.
- [31] Rajan S, Yoon J, Wu H, et al. Disassembly of bundled F-actin and cellular remodeling via an interplay of Mical, cofilin, and F-actin crosslinkers[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2023, 120(39): e2309955120.
- [32] Deng S, Leong HC, Datta A, et al. PI3K/AKT signaling tips the balance of cytoskeletal forces for cancer progression[J]. Cancers, 2022, 14(7): 1652.
- [33] Ispanovic E, Haas TL. JNK and PI3K differentially regulate MMP-2 and MT1-MMP mRNA and protein in response to actin cytoskeleton reorganization in endothelial cells[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2006, 291(4): C579-88.
- [34] Mao YJ, Su C, Yang HL, et al. PI3K/AKT/mTORC1 signalling pathway regulates MMP9 gene activation via transcription factor NF- κ B in mammary epithelial cells of dairy cows[J]. Anim Biotechnol, 2024, 35(1): 2314100.
- [35] Yu M, Jiang WJ, Yu M, et al. The upregulation of IL-1 β induced by cisplatin triggers PI3K/AKT/MMP9 pathway in pericytes mediating the leakage of the blood labyrinth barrier[J]. J Inflamm Res, 2025, 18: 1191-205.
- [36] 池周, 张豪, 蔡玉节, 等. 槲皮素通过PI3K/AKT信号通路抑制奥沙利铂耐药胃癌细胞迁移[J]. 实用药物与临床, 2024, 27(2): 81-5.
- [37] Ganbold M, Louphrasitthiphol P, Miyamoto T, et al. Isorhamnetin exerts anti-proliferative effect on cancer-associated fibroblasts by inducing cell cycle arrest[J]. Biomed Pharmacother, 2025, 185: 117954.
- [38] Muzio G, Barrera G, Pizzimenti S. Peroxisome proliferator-

- activated receptors (PPARs) and oxidative stress in physiological conditions and in cancer[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(11): 1734.
- [39] Cui SN, Wu QQ, Wang J, et al. Quercetin inhibits LPS-induced macrophage migration by suppressing the iNOS/FAK/paxillin pathway and modulating the cytoskeleton[J]. *Cell Adhes Migr*, 2019, 13(1): 1-12.
- [40] Tsai YC, Tsai SH, Chang EY, et al. Cytoskeletal protein vimentin interacts with and regulates peroxisome proliferator-activated receptor gamma *via* a proteasomal degradation process[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(7): 1559-67.
- [41] Huang WW, Chiu YJ, Fan MJ, et al. Kaempferol induced apoptosis *via* endoplasmic reticulum stress and mitochondria-dependent pathway in human osteosarcoma U-2 OS cells[J]. *Molecular Nutrition Food Res*, 2010, 54(11): 1585-95.
- [42] 朱栋良, 尹小平, 王芳元. 异鼠李素对胃癌细胞增殖及凋亡的影响[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2018, 25(3): 350-3.
- [43] Xu MS, Wang Y, Xia RL, et al. Role of the CCL2-CCR2 signalling axis in cancer: Mechanisms and therapeutic targeting[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(10): e13115.
- [44] Fernandez-Avila L, Castro-Amaya AM, Molina-Pineda A, et al. The value of CXCL1, CXCL2, CXCL3, and CXCL8 as potential prognosis markers in cervical cancer: evidence of E6/E7 from HPV16 and 18 in chemokines regulation[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(10): 2655.
- [45] Ju PC, Ho YC, Chen PN, et al. Kaempferol inhibits the cell migration of human hepatocellular carcinoma cells by suppressing MMP-9 and Akt signaling[J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(10): 1981-9.
- [46] Liu AY, Hao XX, Zhu Y. Progress in the antitumor molecular mechanisms of Isorhamnetin[J]. *Discov Oncol*, 2025, 17(1): 137.
- [47] Petrosiute A, Musvicaitė J, Petroška D, et al. CCL2-CCR2 axis inhibition in osteosarcoma cell model: the impact of oxygen level on cell phenotype[J]. *J Cell Physiol*, 2025, 240(1): e31489.
- [48] Yan ZP, Liu JX, Xie LS, et al. Role of heparan sulfate in mediating CXCL8-induced endothelial cell migration[J]. *PeerJ*, 2016, 4: e1669.
- [49] Antonosante A, Brandolini L, D'Angelo M, et al. Autocrine CXCL8-dependent invasiveness triggers modulation of actin cytoskeletal network and cell dynamics[J]. *Aging*, 2020, 12(2): 1928-51.
- [50] 李 昂, 张 芳, 唐爱琼, 等. CXCL10/CCL2 信号通路介导肿瘤微环境中宫颈癌的发展[J]. *重庆医科大学学报*, 2023, 48(10): 1221-8.
- (编辑: 经 媛)