

本文引文格式:邹瑛,张伟健,陈宇,等.基于网络药理学与分子对接探讨虫草素治疗舌鳞状细胞癌的作用机制[J].右江民族医学院学报,2025,47(4):583-590,599.

【论著与临床报道】

## 基于网络药理学与分子对接探讨虫草素治疗舌鳞状细胞癌的作用机制

邹瑛<sup>1</sup>,张伟健<sup>2</sup>,陈宇<sup>1</sup>,魏娣<sup>2</sup>,张浩然<sup>1</sup>,郑庆委<sup>1</sup>

(1. 蚌埠医科大学感染与免疫安徽省重点实验室,安徽 蚌埠 233000;  
2. 安徽省蚌埠市第一人民医院,安徽 蚌埠 233000)

**摘要:**目的 基于网络药理学方法和分子对接技术探讨蛹虫草代谢产物虫草素(Cordycepin)治疗舌鳞状细胞癌(TSCC)的作用机制。方法 利用 PubChem、PharmMapper、CTD 和 GeneCards 数据库得到虫草素和人类 TSCC 相关靶点、通过在线 Venn 网站得到虫草素-TSCC 交集靶点。使用 STRING 数据库构建蛋白互作网络(PPI),运用 Cytoscape 3.10.1 软件进行虫草素治疗 TSCC 的核心靶点筛选。在此基础上使用 DAVID 数据库进行基因本体论(GO)功能富集与京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,利用 Cytoscape 软件构建虫草素治疗 TSCC 的“成分-靶点-通路”网络图。运用 AutoDock 软件对虫草素和核心作用靶点进行分子对接验证。最后采用 Western Blot 和 RT-PCR 技术检测虫草素处理 Tca-8113 细胞的核心靶点表达情况。结果 分析获取虫草素作用靶点 535 个,TSCC 疾病相关靶点 1 183 个,虫草素治疗 TSCC 的靶点 210 个。筛选出虫草素治疗 TSCC 的核心关键靶点为 TP53、STAT3、AKT1。GO 生物学过程富集分析显示,虫草素治疗 TSCC 主要涉及对激素的反应、细胞迁移、运动的正向调节、miRNA 代谢过程的调控、miRNA 转录调控、成纤维细胞增殖的调节、凋亡过程负向调控等多个生物过程。KEGG 通路富集分析表明,涉及的通路主要为癌症通路、人巨细胞病毒感染、脂质和动脉粥样硬化通路、化学致癌作用-受体活化通路、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路以及 c 型凝集素受体信号通路等。分子对接结果显示,核心靶点蛋白与虫草素具有较好的结合能力。Western Blot 和 RT-PCR 结果表明虫草素可抑制舌癌细胞中 TP53、STAT3 和 AKT1 的表达( $P < 0.01$ ),且随虫草素浓度的增加,其抑制作用逐步增加。结论 虫草素可能通过 TP53、STAT3 和 AKT1 等靶点调节 AGE-RAGE、PI3K/Akt 等信号通路发挥抗 TSCC 的作用,为其临床应用及其治疗 TSCC 的机制深入研究提供了理论依据。

**关键词:**虫草素;舌鳞状细胞癌;网络药理学;分子对接

中图分类号:R739.86 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2025)04-0583-09  
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.04.006

### Investigating the mechanism of cordycepin in the treatment of tongue squamous cell carcinoma (TSCC) based on network pharmacology and molecular docking

ZOU Zhuoyue<sup>1</sup>, ZHANG Weijian<sup>2</sup>, CHEN Yu<sup>1</sup>, WEI Di<sup>2</sup>,  
ZHANG Haoran<sup>1</sup>, ZHENG Qingwei<sup>1</sup>

(1. Anhui Provincial Key Laboratory of Infection and Immunity,  
Bengbu Medical University, Bengbu 233000, Anhui, China;  
2. Bengbu First People's Hospital, Bengbu 233000, Anhui, China)

基金项目:安徽省中医药学会中医药科研基金资助项目(2024ZYXXH187);安徽省大学生创新创业训练基金资助项目(S202310367054)

第一作者:邹瑛,大学生,E-mail:1301055765@qq.com

通讯作者:郑庆委,副教授,硕士研究生导师,研究方向:微生物代谢产物肿瘤作用,E-mail:2563083867@qq.com

**Abstract:** **Objective** To investigate the mechanism of cordycepin (a metabolite of *Cordyceps militaris*) in the treatment of tongue squamous cell carcinoma (TSCC) based on network pharmacological methods and molecular docking technique. **Methods** PubChem, PharmMapper, CTD and GeneCards databases were used to obtain cordycepin and human TSCC-related targets, and the intersecting targets of cordycepin-TSCC were identified using the online Venn tool. The STRING database was used to construct the protein-protein interaction network (PPI), and Cytoscape 3.10.1 software was used to screen the core targets of cordycepin in the treatment of TSCC. Based on this, the DAVID database was used for Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. Cytoscape software was used to construct a “compound-target-pathway” network diagram of cordycepin in treating TSCC. AutoDock software was applied to verify the molecular docking between cordycepin and core targets. Finally, Western Blot and RT-PCR were used to detect the expression of core targets in Tca-8113 cells treated with cordycepin. **Results** A total of 535 targets for cordycepin action, 1 183 targets related to TSCC disease, and 210 targets for cordycepin treatment of TSCC were identified. The core targets of cordycepin for TSCC were TP53, STAT3 and AKT1. GO biological process enrichment analysis showed that cordycepin treatment of TSCC mainly involved several biological processes such as response to hormones, positive regulation of cell migration and motility, regulation of miRNA metabolic process, regulation of miRNA transcription, regulation of fibroblast proliferation, and negative regulation of apoptotic process. KEGG pathway enrichment analysis indicated that the involved pathways mainly included pathways in cancer, human cytomegalovirus infection, lipid and atherosclerosis pathway, chemical carcinogenesis-receptor activation pathway, PI3K-Akt signaling pathway, MAPK signaling pathway, AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications, and C-type lectin receptor signaling pathway. The molecular docking results showed that the core target proteins had a good binding ability with cordycepin. Western Blot and RT-PCR results showed that cordycepin inhibited the expression of TP53, STAT3 and AKT1 in tongue cancer cells ( $P < 0.01$ ), and its inhibitory effect gradually increased with the increase of cordycepin concentration. **Conclusion** Cordycepin may exert anti-TSCC effects by regulating signaling pathways such as AGE-RAGE and PI3K/Akt through targets including TP53, STAT3, and AKT1, which provides a theoretical basis for its clinical application and in-depth research on the mechanism of treating TSCC.

**Key words:** cordycepin; tongue squamous cell carcinoma; network pharmacology; molecular docking

舌鳞状细胞癌(tongue squamous cell carcinoma, TSCC)是头颈部鳞状细胞癌的主要亚型之一<sup>[1-2]</sup>,由于舌部运动频繁,血运丰富,易发生早期淋巴结转移,预后较差<sup>[1]</sup>。近年来发病率上升且患者逐渐年轻化<sup>[3]</sup>,因肿瘤部位敏感,放化疗副作用大,急需开发一种新型安全有效的治疗策略来提高患者的生活质量<sup>[4]</sup>。虫草素(Cordycepin)为天然中药材蛹虫草的核苷酸衍生物<sup>[5]</sup>,具有很高的药用价值,有免疫调节、抗炎、抗肿瘤、抗转移活性等多种药理活性<sup>[6]</sup>。近年来,多数研究表明,虫草素对乳腺癌、口腔癌等疾病具有良好的抗肿瘤作用<sup>[7-8]</sup>,也可通过内质网应激途径抑制舌鳞癌细胞的生长<sup>[4]</sup>。而虫草素治疗 TSCC 的潜在靶点和作用机制尚不清楚。网络药理学是一种新型的药物疾病研究方法,为揭示和可视化中药对抗多因素疾病的潜在相互作用网络提供了一种新的范式<sup>[9]</sup>。本研究以网络药理学为基础,对虫草素治疗 TSCC 核心作用靶点及潜在作用机制进行了探讨,为今后 TSCC 的治疗与预后

的进一步研究奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 试剂 人舌癌细胞株 Tca-8113(上海美轩生物科技有限公司)。虫草素(大连美伦生物技术有限公司),胎牛血清、RPMI 1640 培养基(赛默飞世尔科技公司),BCA 蛋白定量试剂盒(赛默飞世尔科技公司、PICPI23223),RIPA 组织细胞快速裂解液(北京索莱宝科技有限公司、R0020),Tris-HCl,pH=8.8 电泳缓冲液(北京索莱宝科技有限公司、T1010),Tris-HCl,pH=6.8 电泳缓冲液(北京索莱宝科技有限公司、T1020),10% SDS(北京索莱宝科技有限公司、S1010),10% 过硫酸铵(北京索莱宝科技有限公司、A1030),TEMED(北京索莱宝科技有限公司、T8090),4\*蛋白上样缓冲液(北京索莱宝科技有限公司、P1015),脱脂奶粉(北京索莱宝科技有限公司、D8340),PBS 磷酸盐缓冲液(北京索莱宝科技有限公

司、P1010),吐温-20(北京索莱宝科技有限公司、T8220),蛋白预染 Marker(富酶泰斯生物技术有限公司、SM1811),NC 膜(密理博中国有限公司、HATF00010),发光液(密理博中国有限公司、WBKLS0100),SYBR Green PCR 试剂盒(赛默飞世尔科技公司、#K0223),逆转录试剂盒(富酶泰斯生物技术有限公司、#K1622),无水乙醇(中国医药集团有限公司、100092680),氯仿(中国医药集团有限公司、10023419),异丙醇(中国医药集团有限公司、80109218),Trizol(赛默飞世尔科技公司、1596-026)。

1.1.2 仪器 CO<sub>2</sub> 培养箱(赛默飞世尔科技公司),电泳仪(伯乐生命医学产品有限公司),电转仪(大连竞迈科技有限公司),酶标仪(芬兰雷勃酶标仪),移液枪(吉尔森 P 型移液器公司),水浴锅(Leica),成像系统(上海天能科技有限公司),Real-time 检测仪(美国应用生物系统公司),低温冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司),旋涡振荡器(青浦沪西仪器厂),电动匀浆机(弗鲁克公司)。

1.2 收集虫草素的作用靶点 利用 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)检索蛹虫草的活性成分虫草素,将其 2D 结构下载并保存为 SDF 格式文件。随后将获得的 SDF 格式文件导入 Pharmmapper 数据库(<https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)预测虫草素的作用靶点。通过 Uiproto 数据库(<https://www.uniprot.org/>)对预测的虫草素作用靶点进行名称矫正。以“Cordycepin”为关键词通过 CTD 数据库(<https://ctdbase.org/>)筛选虫草素的作用靶点。对两个数据库获得靶点进行合并去重,得到虫草素所有作用靶点。

1.3 TSCC 靶点的获取 以疾病“Tongue Squamous Cell Carcinoma”为关键词在 Genecards 数据库(<https://www.genecards.org/>)查询人类 TSCC 靶点,使用 Excel 表格进行去重和疾病靶点相关性中位数筛选。借助 JVenn 网站(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)对虫草素作用靶点与 TSCC 靶点取交集,获得虫草素治疗 TSCC 的靶点。

1.4 蛋白相互作用(PPI)网络构建 将虫草素与 TSCC 共同靶点上传至 String 12.0 数据库(<https://cn.string-db.org/>),物种选择为“Homo sapiens”,置信度设定 >0.9,将游离蛋白以及无相互联系的蛋白网络去除,获得靶点 PPI 网络。将 PPI 网络导出为 tsv 格式文件,导入 CytoScape 3.10.1 软件(<https://cytoscape.org/>)进行可视化分析。利用 Cyto NCA 插件计算度中心性(Degree Centrality,DC)筛选核心靶点。

1.5 基因本体论(GO)功能富集与基因组百科全书(KEGG)通路富集 为明晰各交集靶点基因的生物学

功能以及在各信号通路中的作用,对靶点蛋白进行 GO 富集分析以及 KEGG 通路分析。将筛选出的核心靶点输入 Metascape 数据库(<http://metascape.org/gp>)开展 GO 富集与 KEGG 通路分析,物种设为“H. sapiens”,分析参数设置如下:最小重叠度为“3P”,临界值(P cutoff)为“0.01”,最小富集度为“1.5”。完成分析后,提取数据,借助微生信平台([www.bioinformatics.com.cn](http://www.bioinformatics.com.cn))对所选条目进行可视化分析。

1.6 构建“成分-核心靶点-通路”图 为直观的显示虫草素治疗 TSCC 的核心靶点参与 KEGG 信号通路情况,利用 CytoScape 软件构建成分-靶点-通路图并分析。以节点表示化学成分、核心靶点和通路,以边来表示节点之间相互作用的关系。

1.7 分子对接分析 借助 PubChem 数据库获取成分的三维结构文件(sdf 格式),随后在蛋白质结构数据库(protein data bank,PDB)中筛选关键蛋白 TP53、STAT3、AKT1、IL-6、RELA、CTNNB1、MAPK3、MAPK1 的三维结构。利用 AutoDock 软件(参数设置为:energy\_range = 4; exhaustiveness = 8; num\_modes = 1)将成分与关键蛋白进行对接,最后用 Py-mol 软件可视化分析对接结果。

1.8 细胞培养 舌癌细胞株 Tca-8113 在含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中培养,每 1~2 d 进行细胞传代,后续实验均取对数生长期细胞进行实验。

1.9 RT-PCR 实验 取 Tca-8113 细胞按每培养皿含  $1 \times 10^5$  个细胞接种于 6 cm 培养皿中,细胞贴壁后,更换含虫草素培养基,浓度分别为 0.25 g/mL、1 g/mL、4 mg/mL<sup>[10-11]</sup>,同时设置不含药的阴性对照,继续培养 48 h 后提取各组细胞总 RNA,按照逆转录试剂盒说明书将提取的 RNA 反转录成 cDNA,用 SYBR Green I 染料法在 Real-time 检测仪(ABI)中反应,设置  $\beta$ actin 基因为内参对照,引物序列:TP53 上游引物 5'-GTGAGG-GATGTTTGGGAGATG-3',下游引物 5'-CCTGGTTAGTACGGTGAAGTG-3'; STAT3 上游引物 5'-GGAGGAGGCATTCGGAAAG-3',下游引物 5'-GACATCGGCAGGTCAATGG-3'; AKT1 上游引物 5'-CTACAACCAGGACCATGAGAAG-3',下游引物 5'-ACACGATACCGCAAAGA-AG-3'。以  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法分析细胞中 TP53、STAT3、AKT1 的 mRNA 表达水平。

1.10 Western Blot 检测 取 Tca-8113 细胞按每培养皿含  $5 \times 10^5$  个细胞接种于 10 cm 培养皿中,细胞贴壁后,更换含虫草素培养基进行干预,浓度分别为 0.25 mg/mL、1 mg/mL、4 mg/mL<sup>[10-11]</sup>,同时设置药物浓度为 0 的阴性对照,继续培养 48 h 后提取提取各

组细胞的总蛋白,采用 BCA 蛋白定量试剂盒(Thermo)测定蛋白浓度。SDS-PAGE 电泳,转膜成功后,室温封闭 1 h,然后按照不同抗体说明书的稀释比例加入一抗(TP53、STAT3、AKT1),4 °C 孵育过夜;用 TBST 洗膜 3 次后,根据用量,加入按照 1 : 1000 稀释 HRP 标记的二抗,与膜 37 °C 孵育 1 h 后,洗膜、曝光显影。采用 IPP6.0 软件分析目标蛋白表达水平。

1.11 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件处理实验数据,计量资料数据皆采用( $\bar{x} \pm s$ )表示。多个实验组之间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 虫草素作用靶点获取结果 通过将虫草素 2D 化学结构导入 Phrammapper 数据库获取 232 个相关靶点,CTD 数据库获得 327 个相关靶点,共计 559 个相关靶点,去重后得到 535 个虫草素作用疾病靶点。

2.2 疾病靶点获取 以疾病“Tongue Squamous Cell Carcinoma”为关键词在 Genecards 数据库检索,去重,相关性中位数筛选后得到 1 183 个 TSCC 靶点。

2.3 虫草素治疗 TSCC PPI 网络的构建与分析 535 个虫草素作用靶点与 1 183 个 TSCC 相关靶点使用 JVenn 网站求交集,获得虫草素治疗 TSCC 的靶点 210 个(见图 1)。将虫草素治疗 TSCC 的 210 靶蛋白导入 String 12.0 数据库,物种限定为人,进行蛋白质互作网络分析,该 PPI 网络共有 210 个节点,1 015 条边,平均度值为 9.67。将其进一步导入 Cytoscape 3.10.1 进行可视化分析(见图 2),节点颜色越深则度值越高,即表示与更多的节点发生相互作用。为进一步筛选核心靶点,利用 Cytoscape 软件计算 DC 值并按照大小降序排列,得到排名前 20 的作用靶点(见图 3)。节点颜色越深,排位越靠前,证明该节点与虫草素治疗 TSCC 相关可能性更大,更有可能成为核心靶点。排名前 3 的核心靶点分别为 TP53、STAT3、AKT1。可以认为这些靶点在虫草素治疗 TSCC 中起到主要的作用。

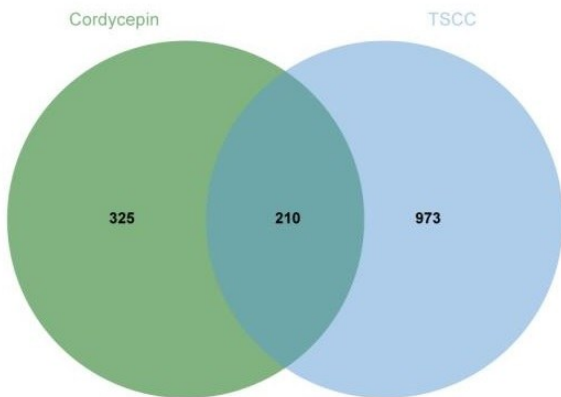


图 1 虫草素治疗 TSCC 的靶点 Venn 图

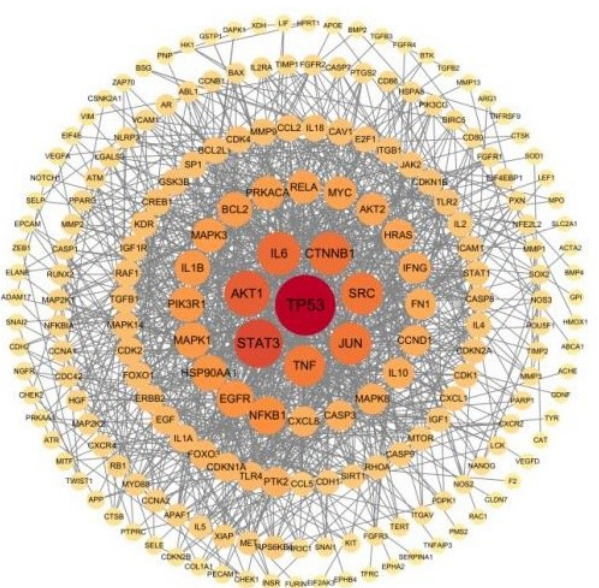


图 2 核心 PPI 网络

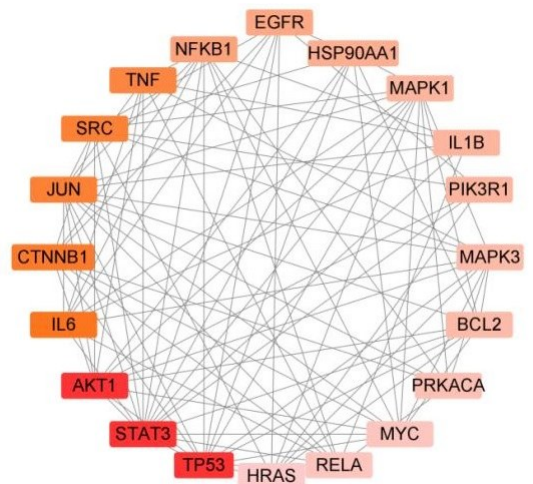


图 3 靶点筛选的 PPI 网络图

2.4 GO 功能分析结果 GO 富集主要涉及生物过程(Biological process, BP)、细胞组成(Cellular component, CC)、分子功能(Molecular function, MF)3 个部分内容,分别对前 10 个条目进行可视化分析(见图 4)。虫草素治疗 TSCC 的 GO 功能结果提示,BP 主要集中在:对激素的反应、细胞迁移、运动的正向调节、miRNA 代谢过程的调控、miRNA 转录调控、成纤维细胞增殖的调节;CC 主要集中在:膜筏、膜微区、质膜筏、黏着斑、细胞基质结;MF 主要集中在:磷酸酶绑定、激酶绑定、蛋白激酶结合、蛋白磷酸酶结合、泛素蛋白连接酶结合、泛素样蛋白连接酶结合、蛋白结构域特异性结合、无序结构域特异性结合、蛋白酪氨酸激酶结合、组蛋白去乙酰化酶结合。

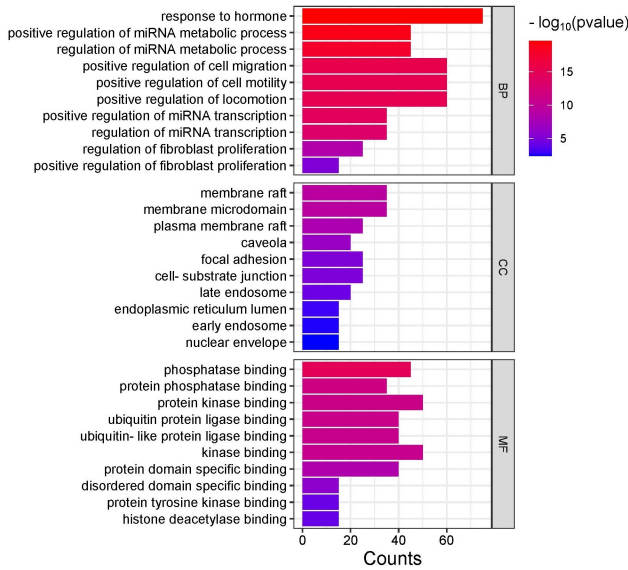


图 4 GO 功能富集分析

2.5 KEGG 通路富集分析结果 KEGG 通路富集筛选结果共有 155 个富集项,其中前 20 是最具有显著性的通路(见图 5),KEGG 通路富集主要涉及癌症通路、人巨细胞病毒感染、血脂与动脉粥样硬化、乙型肝炎、化学致癌作用—受体活化、沙门氏菌感染、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、c 型凝集素受体信号通路等。为更直观地显示虫草素治疗 TSCC 参与 KEGG 通路所涉及的靶点,进一步使用 Cytoscape 软件绘制“成分—靶点—通路图”网络图(见图 6)。“成分—靶点—通路图”网络图主要由 41 个节点、275 条边构成。其中,度值表示与某节点存在直接关系的节点数量,可衡量该节点的枢纽性及重要程度,通常度值越大,意味着该节点在网络里的调控作用越关键。经“成分—靶点—通路图”分析发现,以下靶点连接度较高:RELA、MAPK3、MAPK1、NFKB1、AKT1。连接度最高的疾病通路为癌症通路和人巨细胞病毒感染,其次连接度较高的信号通路为 PI3K-Akt 信号通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路和 MAPK 信号通路等相关通路。

2.6 分子对接分析 从 PDB 数据库中筛选受体分子 TP53、STAT3、AKT1、IL-6、RELA、CTNNB1、MAPK3、MAPK1 的蛋白三维结构。将其分别与通过 PubChem 数据库搜索的配体虫草素化学成分在 AutoDock Vina 软件中进行分子对接,利用 Pymol 软件对结果可视化分析(见图 7)。结合能 <math>< 0 \text{ kcal/mol}</math>,则表明受体和配体可以进行自发结合,结合能越小则越稳定。结合能 <math>< -6.0 \text{ kcal/mol}</math> 表示结合活性较强。结果显示: TP53 与虫草素分子结合能为  $-6.6 \text{ kcal/mol}$ ; STAT3 与虫草素分子结合能为  $-6.4 \text{ kcal/mol}$ ; AKT1 与虫草素分子结合能为  $-7.4 \text{ kcal/mol}$  (见表 1)。

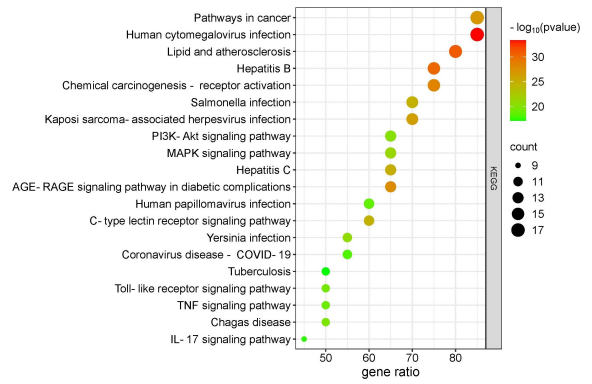


图 5 KEGG 通路富集分析

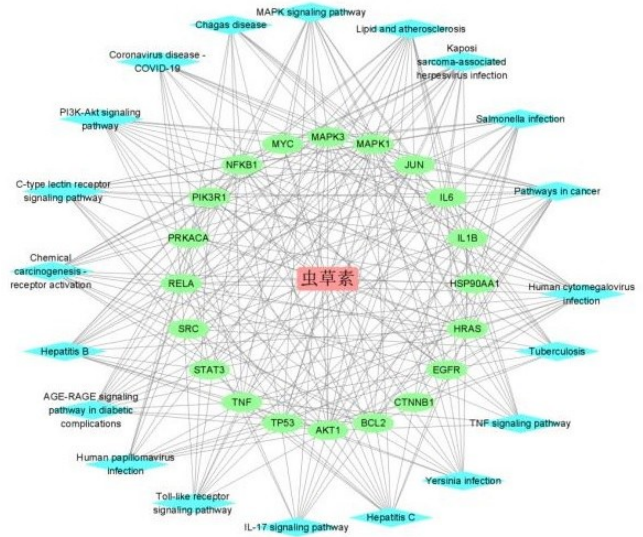


图 6 成分—靶点—网络图

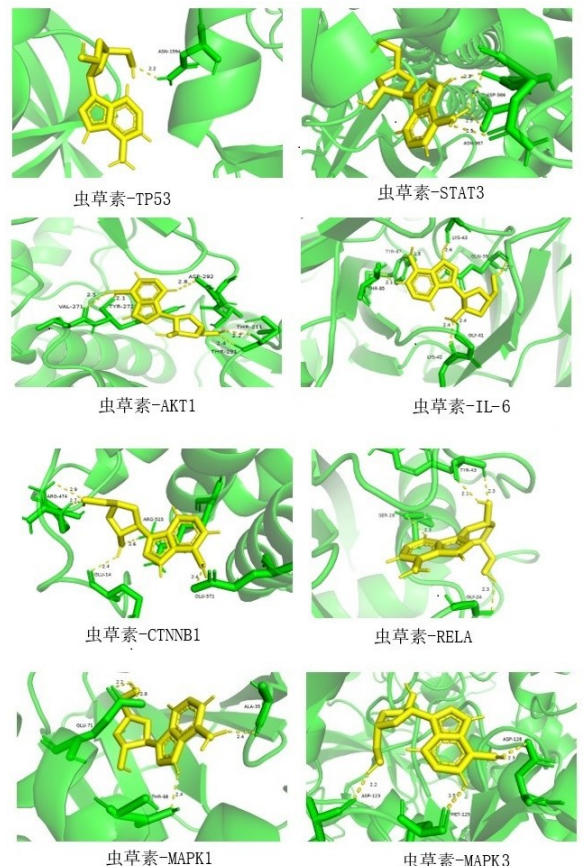
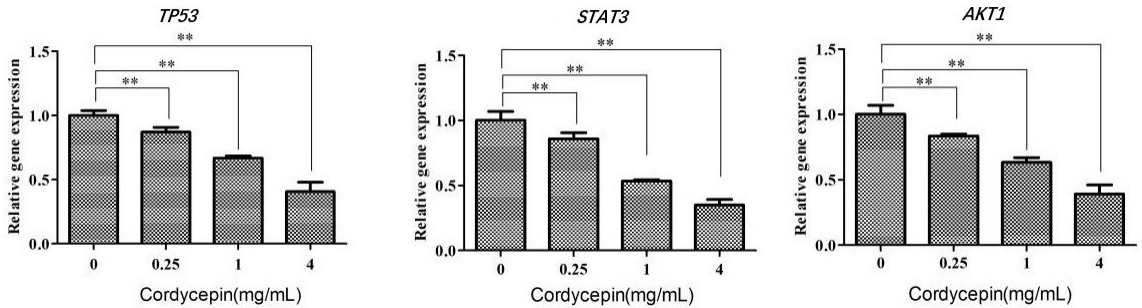


图 7 分子对接图

2.7 各组 TP53、STAT3 及 AKT1 相对表达量 4 组不同浓度虫草素干预 Tca-8113 细胞中 TP53、STAT3 和 AKT1 mRNA 表达水平差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与虫草素浓度为 0 的阴性对照组相比,不同浓度虫草素(0.25 mg/mL、1 mg/mL、4 mg/mL)干预的 Tca-8113 细胞中 TP53、STAT3 和 AKT1 表达水平均显著降低 ( $P < 0.01$ ),且随虫草素浓度的增加,其降低趋势更明显,见图 8。

表 1 虫草素与关键靶点分子对接结合能

靶点蛋白	PDB ID	虫草素 单位:kcal/mol
TP53	8SWJ	-6.6
STAT3	6NJS	-6.4
AKT1	6HHG	-7.4
IL-6	4CNI	-7.5
RELA	6P0M	-7.0
CTNNB1	3OUX	-7.6
MAPK3	2ZOQ	-7.2
MAPK1	5WP1	-6.7

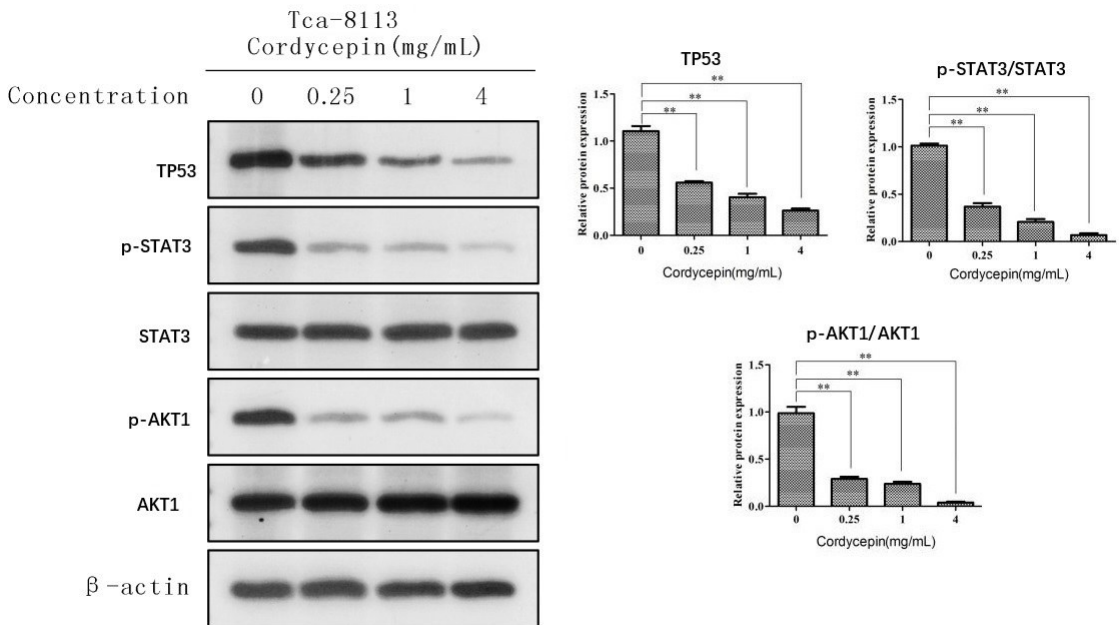


注: \*\*  $P < 0.01$ 。

图 8 RT-PCR 法验证不同浓度虫草素干预 Tca-8113 细胞中 TP53、STAT3 和 AKT1 mRNA 基因的表达水平

2.8 Western Blot 检测 Western Blot 结果显示,相比较虫草素浓度为 0 的对照组,在不同浓度虫草素(0.25 mg/mL、1 mg/mL、4 mg/mL)干预下的 Tca-

8113 细胞中蛋白 TP53、p-STAT3 和 p-AKT1 的表达量显著降低 ( $P < 0.01$ ),见图 9。



注: \*\*  $P < 0.01$ 。

图 9 Western Blot 检测虫草素对 Tca-8113 细胞 TP53、STAT3 和 p-STAT3、AKT1 和 p-AKT1 蛋白表达量的影响

### 3 讨论

TSCC 是口腔癌中最常见的恶性肿瘤之一,常有肿瘤浸润及早期广泛性淋巴结转移倾向等特点。其预后差,复发率高,侵袭性强,5 年生存率低<sup>[12]</sup>。TSCC 的治疗常采用手术结合放化疗等进行治疗,但化疗和放疗往往会对 TSCC 患者产生严重的副作用。而虫草素又称 3'-脱氧腺苷,是蛹虫草中发现的一种细胞毒性核苷类似物,因其治疗潜力和生物学价值而受到广泛关注。虫草素作为天然菌物来源药物,具有低毒、低残留等优点,且近年来多数研究证实,虫草素对多种类型癌症具有广泛抗肿瘤作用<sup>[13-14]</sup>。ZHENG Q 等<sup>[4]</sup>研究表明在裸鼠移植瘤的模型中,虫草素可抑制 TSCC 的生长。然而,虫草素治疗 TSCC 的潜在靶点和作用机制尚不清楚。

网络药理学研究结果显示,根据 DC 值筛选出与虫草素治疗 TSCC 相关可能性较大的 3 个核心靶点: TP53、STAT3、AKT1。同时通过计算机模拟分子对接证明了核心靶点与虫草素之间具有较好的结合性。STAT3 是一种信号转导与转录激活因子,常被认为是一种致癌基因。STAT3 的持续激活可导致细胞异常增殖和恶性转化<sup>[15]</sup>。在肿瘤的发生发展过程中,STAT3 通过上调抑制抗凋亡基因 Bcl-2 的表达,从而抑制细胞凋亡,导致肿瘤的形成。同时 STAT3 作为一种抑制凋亡的细胞因子,通过阻断 STAT3 信号转导途径,影响了肿瘤细胞存活的信号转导网络,引起肿瘤细胞的死亡<sup>[16]</sup>。通过前期研究成果发现虫草素可抑制抗凋亡基因 Bcl-2 的表达<sup>[11]</sup>,因此,通过本实验研究发现虫草素处理舌癌细胞 Tca-8113 后,随着浓度的增加 STAT3 表达量降低,猜测虫草素可以通过下调 STAT3 表达量来抑制抗凋亡基因 Bcl-2 的表达,从而达到抑制舌癌细胞增殖的作用。

AKT1 的主要功能为促进细胞代谢、增殖、血管生成和迁移、侵袭。在许多人类恶性肿瘤中,p-AKT 通过调节一系列下游分子的活性来促进癌细胞的增殖和转移,如哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)等<sup>[17]</sup>。有研究者报道<sup>[18-19]</sup> AKT1 表达与许多癌症的不良预后相关。更有研究表明与正常舌组织相比,在 TSCC 中 AKT1 的表达水平升高,并且 AKT1 的高表达水平与淋巴结转移显著相关,AKT1 高表达患者的 5 年总生存率较差。而 AKT1 的下调可显著抑制 TSCC 细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[20]</sup>。而本研究结果也证实这一点,虫草素处理舌癌细胞 Tca-8113 后,随着浓度的增加磷酸化的 AKT1 表达量降低,这强调了 AKT1 上调在 TSCC 中的重要作用,并表明 AKT1 可能是 TSCC 的重要预后因素。

TP53 是一种抑癌基因,主要参与细胞周期调控,

细胞凋亡和 DNA 修复等过程<sup>[21]</sup>。它所编码出来的 p53 肿瘤抑制蛋白是一种转录因子,在应对各种应激时抑制细胞分裂或生存。原癌基因的突变以及 DNA 损伤可以直接激活 p53 来诱导细胞周期停滞,加速 DNA 修复以及细胞凋亡,防止细胞恶变,达到抗癌的作用<sup>[22-23]</sup>。然而,本研究中 Western Blot 和 RT-PCR 结果表明,与没有药物干预的对照组相比,虫草素干预后的 Tca-8113 细胞中抑癌基因 TP53 和 p53 肿瘤抑制蛋白表达水平显著下降。通过查阅大量文献发现,当 TP53 基因突变后,其编码的 p53 蛋白半衰期变长,稳定性增强,可在细胞核内不断累积,突变型 p53 蛋白失去了野生型 p53 的抑癌能力,并获得类似癌基因表达产物的功能,使肿瘤细胞侵袭能力增强,促进了肿瘤的发生发展<sup>[22-24]</sup>。LAPKE N 等<sup>[25]</sup>发现 TP53 突变在口腔鳞状细胞癌发生、发展中起到了重要作用,并支持基于 TP53 相关基因特征指导口腔鳞状细胞癌患者临床治疗的想法。因此推测 TSCC 的发生发展与 TP53 的突变有关,虫草素可能通过促进突变体 p53 降解从而达到治疗 TSCC 重要作用。这一猜测仍需进一步验证。

通过对核心靶点进行 GO 富集分析,可以推测虫草素可能通过参与相关基因表达代谢的调控以及细胞迁移、运动的正向调节等生物过程来抑制 TSCC 细胞的增殖,这为进一步理解其潜在作用机制提供了一定线索。KEGG 富集分析结果显示,虫草素治疗 TSCC 的靶点主要富集在 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路。近年来,多数研究表明<sup>[26-28]</sup> PI3K/Akt 信号通路的异常激活在多种恶性肿瘤的发生发展中都具有重要作用。PI3K/AKT 通路的激活会诱导 TSCC 细胞上皮-间质转化(EMT),促进肿瘤生长和转移<sup>[29]</sup>。也有研究显示,mTOR 作为 p-Akt 下游效应物,PI3K-AKT-mTOR 信号通路通过控制蛋白质合成,细胞生长,细胞凋亡、增殖和血管生成等多种生物过程,在肿瘤的发生发展中起重要作用<sup>[30-31]</sup>。MAPK 信号通路是细胞增殖、分化和应激反应等多种细胞过程的主要调节模块<sup>[32]</sup>。研究发现,虫草素可通过 MAPK/ERK 通路抑制鼻咽癌的增殖和进展,白丹素通过 p38 MAPK 介导的途径诱导 TSCC 细胞 G2/M 阻滞、凋亡和自噬<sup>[33]</sup>,这表明 MAPK 信号通路与 TSCC 等多种恶性肿瘤的进展存在联系,但其具体的分子机制仍有待进一步探索。AGE-RAGE 信号通路主要与糖尿病及炎症相关。据报道<sup>[34]</sup>,AGE-RAGE 信号通路与癌症的进展也有一定作用。AGE 的高代谢率和有氧糖酵解,促使癌细胞快速增殖,随着 AGE 的积累,其与炎症细胞加速了细胞中活性氧的产生从而进一步促进癌细胞增殖与诱

变。RAGE 可介导肿瘤细胞与其微环境成分发生串扰,诱发细胞缺氧、线粒体功能障碍、内质网应激以及自噬等反应,从而限制细胞凋亡,促进血管生成、细胞迁移最终导致癌症进展<sup>[35-36]</sup>。与此同时,AGEs 与 RAGE 结合可激活多种与细胞存活、炎症和癌症进展相关的信号通路,包括 MAPK、PI3K-Akt、JAK-STAT 和 NF- $\kappa$ B<sup>[37]</sup>。这表明 AGE-RAGE 信号通路可与 PI3K/Akt 信号通路、MAPK 信号通路相互作用来促进 TSCC 细胞增殖。

综上所述,本研究通过网络药理学探究了虫草素治疗 TSCC 的靶点及通路,发现虫草素可以作用于 TP53、STAT3、AKT1 等重要靶点,并经多种途径来治疗 TSCC。通过计算机模拟分子对接证明了核心靶点与虫草素分子之间具有较好的结合性。通过 Western Blot 和 RT-PCR 结果表明虫草素可以抑制 TP53、STAT3 和 AKT1 表达,从而达到抑制舌癌细胞生长的作用,为虫草素治疗 TSCC 提供了新的理论基础。

#### 参考文献:

[1] YIN K,ZHANG Y,ZHANG S X, et al. Using weighted gene co-expression network analysis to identify key modules and hub genes in tongue squamous cell carcinoma [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(37):e17100.

[2] YU Y,MOHAMEDAL-SHARANI H,ZHANG B, EZ H2-mediated SLC7A11 upregulation via miR-125b-5p represses ferroptosis of TSCC [J]. *Oral Dis*, 2023, 29(3): 880-891.

[3] XIN Y Q,JIANG Q K,LIU C S, et al. Plumbagin has an inhibitory effect on the growth of TSCC PDX model and it enhances the anticancer efficacy of cisplatin [J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(21):12225-12250.

[4] 郑庆委,邵一丹,郑婉婷,等. 蛹虫草代谢产物虫草素抑制舌鳞癌裸鼠移植瘤的生长 [J]. *南方医科大学学报*, 2023, 43(6):873-878.

[5] QIN P,LI X K,YANG H, et al. Therapeutic potential and biological applications of cordycepin and metabolic mechanisms in cordycepin-producing fungi [J]. *Molecules*, 2019, 24(12):2231.

[6] LUO L,ZHOU J X,XU Z S, et al. Identification and functional analysis of bacteria in Sclerotia of *Cordyceps militaris* [J]. *PeerJ*, 2021, 9:e12511.

[7] LIU C,QI M,LI L, et al. Natural cordycepin induces apoptosis and suppresses metastasis in breast cancer cells by inhibiting the Hedgehog pathway [J]. *Food Funct*, 2020, 11(3):2107-2116.

[8] TAGHINEJAD Z,KAZEMI T,FADAEI M, et al. Pharmacological and therapeutic potentials of cordycepin in hematological malignancies [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 678:135-143.

[9] LI X,LIU Z Q,LIAO J, et al. Network pharmacology approaches for research of traditional Chinese medicines [J]. *Chin J Nat Med*, 2023, 21(5):323-332.

[10] 田忠林. 虫草素对舌癌 Tca-8113 细胞周期和凋亡的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(5):1322-1324.

[11] 郑庆委,高淑娴,吕杰,等. 虫草素对人舌癌细胞凋亡、自噬的影响及其分子机制 [J]. *南方医科大学学报*, 2018, 38(4):390-394.

[12] JIN Y,WANG Z W,HE D, et al. Identification of novel subtypes based on ssGSEA in immune-related prognostic signature for tongue squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Med*, 2021, 10(23):8693-8707.

[13] 张鑫,周雪冰,高铭,等. 虫草素通过激活 AMPK 和 MAPK 信号通路抑制脂代谢抑制人胃癌细胞的增殖和迁移 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2022, 38(6):513-521.

[14] WEI C L,KHAN MA,DU J M, et al. Cordycepin inhibits triple-negative breast cancer cell migration and invasion by regulating EMT-TFs SLUG, TWIST1, SNAIL1, and ZEB1 [J]. *Front Oncol*, 2022, 12:898583.

[15] LOH C Y,ARYA A,NAEMA A F, et al. Signal transducer and activator of transcription (STATs) proteins in cancer and inflammation: functions and therapeutic implication [J]. *Front Oncol*, 2019, 9:48.

[16] 谭东明,谢奇,丁旭,等. 基于 JAK2/STAT3 通路探讨三七总皂苷调控巨噬细胞极化对小鼠黑色素瘤细胞的抑制 [J/OL]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 1-10 [2024-11-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20241030.1554.002.html>.

[17] MARTINS F,DE SOUSA S C,DOS SANTOS E, et al. PI3K-AKT-mTOR pathway proteins are differently expressed in oral carcinogenesis [J]. *J Oral Pathol Med*, 2016, 45(10):746-752.

[18] ZHANG X,WANG S,WANG H, et al. Circular RNA circNRI1 acts as a microRNA-149-5p sponge to promote gastric cancer progression via the AKT1/mTOR pathway [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1):20.

[19] MARUEI-MILAN R,SARAVANI M,HEIDARI Z, et al. Effects of the MTOR and AKT1 genes polymorphisms on papillary thyroid cancer development [J]. *IU-BMB Life*, 2020, 72(12):2601-2610.

[20] JI M Y,WANG W,YAN W X, et al. Dysregulation of AKT1, a miR-138 target gene, is involved in the migration and invasion of tongue squamous cell carcinoma [J]. *J Oral Pathol Med*, 2017, 46(9):731-737.

[21] DONEHOWER L A,SOUSI T,KORKUT A, et al. Integrated analysis of TP53 gene and pathway alterations in the cancer genome atlas [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(5):1370-1384, e5.

[22] 张晨,李春明. TP53 基因突变与口腔鳞状细胞癌预后的关系 [J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(11):2169-2172.

- pathway induced by virulent protein CagA of *Helicobacter pylori* [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1062803.
- [21] OUYANG Y B, LIU G, XU W T, et al. *Helicobacter pylori* induces epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinogenesis via the AKT/GSK3 $\beta$  signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2021, 21 (2): 165.
- [22] XU W T, HUANG Y, YANG Z, et al. *Helicobacter pylori* promotes gastric epithelial cell survival through the PLK1/PI3K/Akt pathway [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 5703-5713.
- [23] 徐璐, 张冬雨, 王瑞锋, 茯苓酸调节 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路对大鼠幽门螺旋杆菌相关性胃炎的治疗作用 [J]. *基础医学与临床*, 2024, 44(4): 489-495.
- [24] 薛婧, 江锋, 李怡雯. 中医药调控 NF- $\kappa$ B 信号通路治疗幽门螺杆菌感染[J/OL]. *中医学报*, 1-10[2024-12-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1411.R.20241018.0915.002.html>.
- [25] 李慧敏, 高锦明. NF- $\kappa$ B 在幽门螺杆菌诱导胃癌发展及治疗中的作用研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31 (23): 4476-4480.
- [26] 丁文杰. STAT3 和 HIF-1 $\alpha$  在幽门螺杆菌致胃黏膜病变发展过程中的作用及机制 [D]. 南昌: 南昌大学, 2022.
- [27] 田华, 黄毓娟. 蒲公英多糖对幽门螺杆菌相关性胃炎大鼠胃黏膜炎性反应及 MAPK/ERK 通路的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2019, 28(35): 3877-3880.
- 收稿日期: 2025-03-13; 修回日期: 2025-04-04  
(本文编辑 覃洪含)

(上接第 590 页)

- [23] 吴雪芳, 李霜, 胡建军, 等. 结直肠癌中 K-RAS 基因突变与 p53 蛋白表达的临床意义及相关性 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2020, 36(10): 1215-1218.
- [24] PANDYA J A, NATARAJAN S. A correlation of immunohistochemical expression of TP53 and severity of inflammation with varying grades of oral squamous cell carcinoma [J]. *J Cancer Res Ther*, 2019, 15(3): 564-570.
- [25] LAPKE N, LU Y J, LIAO C T, et al. Missense mutations in the TP53 DNA-binding domain predict outcomes in patients with advanced oral cavity squamous cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (28): 44194-44210.
- [26] NUNNERY S E, MAYER I A. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in hormone-positive breast cancer [J]. *Drugs*, 2020, 80(16): 1685-1697.
- [27] GLAVIANO A, FOO A S C, LAM H Y, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22 (1): 138.
- [28] LEIPHRAKPAM P D, ARE C. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway as a target for colorectal cancer treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(6): 3178.
- [29] PENG M J, FAN S Q, LI J J, et al. Programmed death-ligand 1 signaling and expression are reversible by lycopene via PI3K/AKT and Raf/MEK/ERK pathways in tongue squamous cell carcinoma [J]. *Genes Nutr*, 2022, 17(1): 3.
- [30] LI Y C, HE S M, HE Z X, et al. Plumbagin induces apoptotic and autophagic cell death through inhibition of the PI3K/Akt/mTOR pathway in human non-small cell lung cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2014, 344 (2): 239-259.
- [31] LI Z, ZHAO Q W, LIU X Y, et al. Capsaicin combined with cisplatin inhibits TGF- $\beta$ 1-induced EMT and TSCC cells migration via the Claudin-1/PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Cancer Cell Int*, 2024, 24(1): 300.
- [32] PARK H B, BAEK K H. E3 ligases and deubiquitinating enzymes regulating the MAPK signaling pathway in cancers [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2022, 1877(3): 188736.
- [33] ZHOU Y Q, MEI X S, LI Y, et al. Cordycepin inhibits the proliferation and progression of NPC by targeting the MAPK/ERK and  $\beta$ -catenin pathways [J]. *Oncol Lett*, 2022, 23(1): 20.
- [34] KHOO S H, WU P R, YE H K T, et al. Biological and clinical significance of the AGE-RAGE axis in the aggressiveness and prognosis of prostate cancer [J]. *J Food Drug Anal*, 2023, 31(4): 664-682.
- [35] MUTHYALAIH Y S, JONNALAGADDA B, JOHN C M, et al. Impact of Advanced Glycation End products (AGEs) and its receptor (RAGE) on cancer metabolic signaling pathways and its progression [J]. *Glycoconj J*, 2021, 38(6): 717-734.
- [36] WAGHELA B N, VAIDYA F U, RANJAN K, et al. AGE-RAGE synergy influences programmed cell death signaling to promote cancer [J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(2): 585-598.
- [37] EL-FAR A H, SROGA G, AI JAOUNI S A, et al. Role and mechanisms of RAGE-ligand complexes and RAGE-inhibitors in cancer progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3613.
- 收稿日期: 2025-01-22; 修回日期: 2025-05-29  
(本文编辑 钟琳)