

基于生物分子网络和分子对接研究槲皮素抗宫颈癌的机制

朱晓芹¹, 刘志强², 王博龙^{1*}¹宜春学院化学与生物工程学院, 宜春 336000; ²鹤壁职业技术学院, 鹤壁 458000

摘要:为了研究槲皮素抗宫颈癌的网状作用机制,本研究运用 TCMSp、Swiss TargetPrediction、CTD、GeneCards、DisGeNET、Open Targets 数据库及 STRING 平台,筛选并构建槲皮素抗宫颈癌靶点网络及蛋白互作网络;利用 OmicShare 云平台进行靶点 GO 功能富集分析;通过 DAVID 6.8 平台进行靶点 KEGG 通路富集分析;应用 AutoDock Vina 软件进行分子对接,分析槲皮素与主要靶点的亲和力。结果发现槲皮素能作用于 TP53、MYC、VEGFA、STAT3、CCND1、AKT1、CASP3 等宫颈癌主要靶点,且亲和力高于原配体;调控 p53、Apoptosis、PI3K-Akt、Jak-STAT 等信号通路,具有阻滞宫颈癌细胞周期进程,诱导其凋亡,抗肿瘤血管形成等多重抗癌机制,可作为宫颈癌潜在治疗药物进一步研究。

关键词:生物分子网络;槲皮素;宫颈癌;信号通路;靶点

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)1-0023-10

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.1.004

Mechanism of quercetin against cervical cancer based on biomolecular network and molecular docking

ZHU Xiao-qin¹, LIU Zhi-qiang², WANG Bo-long^{1*}¹School of Chemical and Biological Engineering, Yichun University, Yichun 336000, China;²Hebi Vocational and Technical College, Hebi 458000, China

Abstract: In order to study the mesh action mechanism of quercetin against cervical cancer, TCMSp, Swiss TargetPrediction, CTD, GeneCards, DisGeNET, Open Targets databases and STRING platform were used to screen and construct the network of quercetin-anticervical cancer targets and protein-protein interaction network in this study. OmicShare cloud platform was used for GO function enrichment analysis of targets. DAVID 6.8 platform was used for KEGG pathway enrichment analysis of targets. AutoDock Vina software was used for molecular docking to analyze the affinity of quercetin and the main targets. The results showed that quercetin can act on TP53, MYC, VEGFA, STAT3, CCND1, AKT1, CASP3 and other main targets of cervical cancer, and their affinity was higher than that of the original ligands, regulate p53, Apoptosis, PI3K-Akt, Jak-STAT and other signaling pathways, these targets and signaling pathways can block the process of cervical cancer cell cycle, and induce its apoptosis, resist tumor angiogenesis and other multiple anticancer mechanisms. quercetin can be further studied as potential therapeutic drug for cervical cancer.

Key words: biomolecular network; quercetin; cervical cancer; signal pathway; target

在全球范围内,宫颈癌的发病率仅次于乳腺癌,高居女性恶性肿瘤的第2位,是一种严重危害女性健康的疾病。临床上早期宫颈癌治疗以手术为主,但宫颈癌起病隐匿,不同地区的筛查手段及技术差异使得半数以上的患者就诊时已处于中晚期^[1,2]。中晚期宫颈癌治疗以放化疗为主,手术为辅,然而宫

颈癌是对放射线中等敏感的实体肿瘤,对于年轻女性患者,放疗还会损伤卵巢,导致卵巢早衰等一系列并发症。化疗药物不仅毒副作用大,而且部分毒副作用跟放疗副作用重叠,一般患者难以耐受。因此,仍需努力寻找高效低毒的抗宫颈癌药物。

槲皮素(quercetin)是一种广泛分布于蔬菜、水果及多种中草药的天然黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗纤维化、抗菌及清除自由基等药理作用。大量流行病学证据表明,多食富含槲皮素的水果和蔬菜可以预防多种癌症的发生^[3],而槲皮素本身抑制

收稿日期:2019-10-28 接受日期:2019-12-18

基金项目:江西省教育厅科技项目(GJJ12596)

*通信作者 E-mail:wblong77@126.com

细胞增殖、诱导细胞凋亡、调节细胞周期的显著作用,也在多种癌株的体内外实验中得到证实。近年来,槲皮素在宫颈癌放疗上的双重作用引起了越来越多的关注,但具体机制尚未完全明确。本研究借助生物分子网络系统整合的大量生物信息及数据,挖掘槲皮素抗宫颈癌靶点,进行GO(Gene Ontology)功能分析和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路分析,筛选主要靶点与槲皮素进行分子对接,以期全面解析槲皮素抗宫颈癌的分子机制。

1 材料与方法

1.1 数据库与软件

(1)活性成分靶点数据库:中药系统药理学数据库与分析平台,TCMSP(<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>); Swiss TargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>);毒性与基因比较数据库CTD(<http://ctdbase.org/>)。 (2)蛋白质数据库,UniProt (<https://www.uniprot.org/>); PDB (<http://www.rcsb.org/>)。 (3)疾病靶点数据库:GeneCards (<https://www.genecards.org/>); DisGeNET (<http://www.disgenet.org/>); Open Targets Platform (<https://www.targetvalidation.org/>)。 (4)蛋白质相互作用分析平台,STRING (<https://string-db.org/>)。 (5)生信在线分析平台:OmicShare 云平台 (<http://omicshare.com/>); DAVID 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>)。 (6)网络分析及作图软件 Cytoscape 3.6.1; Venny 2.1.0 (<https://bioinfogpcnb.csic.es/tools/venny/index.html>); ChemBioOffice 2014。 (7)分子对接相关软件:分子三维结构处理软件 PyMOL; AutoDuck Vina^[4]及 AutoDuck Tools。

1.2 槲皮素抗宫颈癌靶点筛选及其网络构建

将槲皮素输入TCMSP数据库检索其作用靶点;运用Swiss TargetPrediction服务器的药效团模型和基于配体分子相似性,预测槲皮素作用靶点;在CTD数据库中选取槲皮素匹配度高的前200个靶点,将以上三个来源的靶点合并去重后得到槲皮素作用靶点。分别在GeneCards、DisGeNET、Open Targets数据库中检索宫颈癌相关靶点,将每个数据库获得的靶点按照相关度打分,从高到低选取分值前200个靶点,合并去重后得到宫颈癌靶点。再将宫颈癌靶点与槲皮素靶点输入Venny 2.1.0软件,取交集部分作为槲皮素抗宫颈癌靶点,并导入Cytoscape 3.6.1软件构建槲皮素-抗宫颈癌靶点网络。

1.3 槲皮素抗宫颈癌靶点相互作用网络构建

将槲皮素抗宫颈癌靶点导入STRING平台构建蛋白互作网络(protein-protein interaction, PPI),设置蛋白种类为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值“medium confidence = 0.4”,其他参数保持默认值。将PPI网络导入Cytoscape 3.6.1软件,利用“Network Analysis”功能计算各网络节点的度值(Degree)、介数(Betweenness)及最短路径(Closeness)等拓扑参数,节点的Degree、Betweenness、Closeness越大,该节点在网络中的位置就越重要。选取Degree、Betweenness、Closeness同时在平均值之上的靶点作为槲皮素抗宫颈癌的主要靶点。

1.4 槲皮素抗宫颈癌靶点的GO功能富集分析和KEGG通路富集分析

将槲皮素抗宫颈癌靶点输入OmicShare和DAVID 6.8平台,分别进行槲皮素抗宫颈癌靶点的GO功能富集分析与KEGG通路富集分析,依据 P -value < 0.001和 P -value < 0.05筛选槲皮素抗宫颈癌靶点富集的生物功能及信号通路。

1.5 槲皮素抗宫颈癌主要靶点的分子对接

在PDB数据库搜索槲皮素抗宫颈癌前十个主要靶点的蛋白晶体复合物,借助PyMOL软件将靶蛋白与原配体分离,同时去除靶蛋白中的水分子、磷酸根以及多余的非活性配体,在AutoDuck Tools软件中对处理后靶蛋白进行加氢、加电荷等操作。将槲皮素的2D结构导入ChemBio3D软件,以mol2的格式保存其3D结构,将靶蛋白、原配体、槲皮素的3D结构统一设置成AutoDuck Tools软件可识别的pdbqt格式,以原配体所在位点为靶蛋白的活性口袋,分别进行靶蛋白与槲皮素、原配体的分子对接,对比分析原配体、槲皮素与各靶蛋白的亲合力。

2 结果

2.1 槲皮素抗宫颈癌靶点及其网络构建

分别从TCMSP、Swiss TargetPrediction、CTD数据库筛选靶点96、100、200个,合并去重后确定槲皮素靶点为311个;分别从GeneCards、DisGeNET、Open Targets三个数据库各取前200个靶点,合并去重后确定宫颈癌靶点为460个,再将311个成分靶点与460个疾病靶点取交集,得到槲皮素抗宫颈癌靶点97个(图1)。将槲皮素及97个抗宫颈癌靶点导入Cytoscape 3.6.1软件,得到槲皮素-抗宫颈癌靶点网络(图2)。

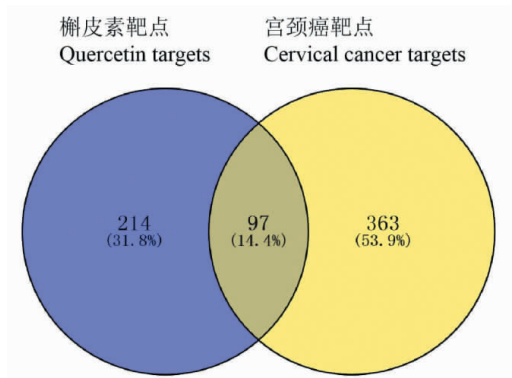


图1 槲皮素-抗宫颈癌靶点韦恩图

Fig.1 Venn diagram of quercetin-anticervical cancer targets

2.2 槲皮素抗宫颈癌靶点的PPI网络

如图3所示,每个参与互作的靶点用一个圆圈表示,圆圈面积越大表示其 Degree 越大,圆圈周线越粗代表其 Betweenness 越大。PPI 网络中共有 97 个节点,2 311 条相互作用连线,平均 Degree 为 47.65,平均 Betweenness 为 5.31×10^{-3} ,平均 Closeness 为 6.80×10^{-1} ,Degree、Betweenness、Closeness 同时在平均值之上的靶点有 29 个(表1)。29 个主要靶点包括调控转录及凋亡 TP53、MYC、AKT1、CASP3、CASP8、CTNNB1、CYCS、EP300、ERBB2、MAPK1、MAPK3、SRC、STAT3;调控炎症反应 IL6、

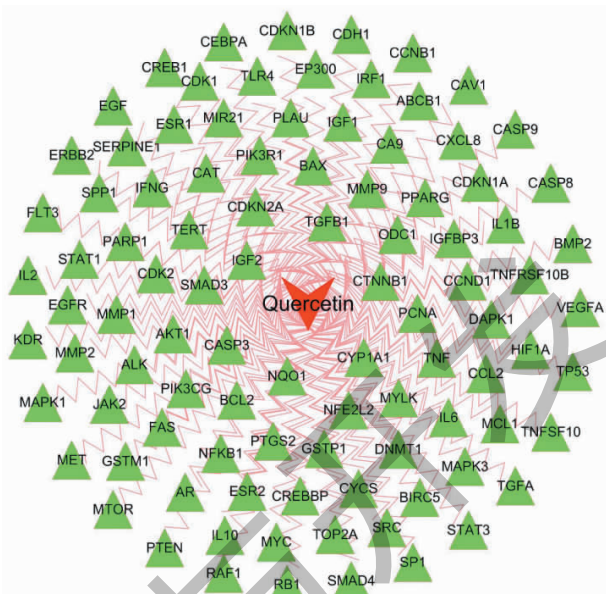


图2 槲皮素-抗宫颈癌靶点网络

Fig.2 The network of quercetin-anticervical cancer targets
注:箭头表示槲皮素,三角形表示宫颈癌靶点。Note:The arrow represents quercetin and the triangle represents the targets of cervical cancer.

TNF、PTGS2、IL1B、CXCL8;参与血管生成 EGF、EGFR、VEGFA;调控细胞周期 CCND1、CDKN2A、PTEN;以及性激素受体 AR、ESR1 和其它。

表1 主要靶点及其拓扑参数

Table 1 The main targets and their topological parameters

靶点 Target	度值 Degree	介数 Betweenness	最短路径 Closeness	靶点 Target	度值 Degree	介数 Betweenness	最短路径 Closeness
TP53	94	4.70×10^{-2}	9.80×10^{-1}	ERBB2	72	1.09×10^{-2}	8.00×10^{-1}
MYC	89	2.70×10^{-2}	9.32×10^{-1}	SRC	72	9.87×10^{-3}	8.00×10^{-1}
AKT1	86	2.09×10^{-2}	9.06×10^{-1}	CDH1	72	9.42×10^{-3}	8.00×10^{-1}
EGFR	84	1.84×10^{-2}	8.89×10^{-1}	PTGS2	69	9.57×10^{-3}	7.80×10^{-1}
VEGFA	83	1.62×10^{-2}	8.81×10^{-1}	CXCL8	66	7.52×10^{-3}	7.62×10^{-1}
STAT3	83	1.46×10^{-2}	8.81×10^{-1}	IGF1	66	5.52×10^{-3}	7.62×10^{-1}
CCND1	82	2.24×10^{-2}	8.73×10^{-1}	CTNNB1	65	7.02×10^{-3}	7.56×10^{-1}
ESR1	82	2.15×10^{-2}	8.73×10^{-1}	CDKN2A	65	6.83×10^{-3}	7.56×10^{-1}
CASP3	81	1.65×10^{-2}	8.65×10^{-1}	MTOR	63	5.48×10^{-3}	7.44×10^{-1}
MAPK1	80	1.81×10^{-2}	8.57×10^{-1}	EP300	58	6.59×10^{-3}	7.16×10^{-1}
MAPK3	79	1.66×10^{-2}	8.50×10^{-1}	AR	57	5.90×10^{-3}	7.11×10^{-1}
PTEN	77	1.74×10^{-2}	8.35×10^{-1}	CASP8	57	5.69×10^{-3}	7.11×10^{-1}
IL6	76	1.19×10^{-2}	8.28×10^{-1}	CYCS	56	6.17×10^{-3}	7.06×10^{-1}
TNF	75	1.23×10^{-2}	8.21×10^{-1}	IL1B	55	5.48×10^{-3}	7.01×10^{-1}
EGF	74	9.65×10^{-2}	8.14×10^{-1}	-	-	-	-

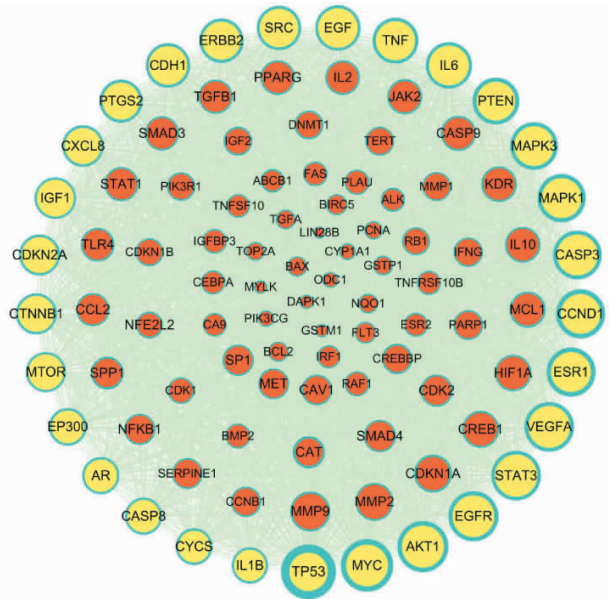


图3 蛋白互作网络

Fig. 3 The network of protein-protein interaction

2.3 槲皮素抗宫颈癌靶点的 GO 功能富集

依据 P -value < 0.001 筛选出 GO 条目 525 个, 其中生物过程 (Biology Process) 473 个, 分子功能 (Molecular Function) 30 个, 细胞组成 (Cellular Component) 22 个。如图 4 所示, 生物过程主要涉及刺激反应、生物过程调节、细胞增殖、细胞代谢、生物粘附等; 分子功能及细胞组成主要涉及抗氧化活性、催化活性、细胞膜、细胞器等。进一步富集发现 GO 条目主要聚集在细胞增殖、凋亡、死亡、代谢等方面 (图 5), 说明槲皮素可能通过调控细胞增殖、凋亡、代谢

等发挥抗宫颈癌作用。

2.4 槲皮素抗宫颈癌靶点的 KEGG 通路

依据 P -value < 0.05 筛得槲皮素抗宫颈癌靶点 KEGG 通路 22 条 (表 2), 图 6 为各通路富集气泡图, 富集因子 (Rich factor) 是槲皮素富集在通路下的靶点与该通路所有蛋白的比值, 比值越大表示富集度越大。 P -value 取值范围 $[0, 1]$, 颜色越红表示 P -value 越小, 富集越明显。点的大小表示槲皮素富集在通路下的靶点个数, 点越大表示富集靶点越多。由图可知, 富集因子较大的通路包括与肿瘤细胞增殖、凋亡、转录密切相关的 p53 信号通路、FoxO 信号通路、Apoptosis 通路、TNF 信号通路、mTOR 信号通路; 与肿瘤血管新生及微环境形成相关的 HIF-1 信号通路、VEGF 信号通路。其中癌症通路富集的靶点最多, p53 信号通路的富集因子最大。如图 7 所示, p53 信号通路上富集的槲皮素抗宫颈癌靶点有细胞周期相关的 p21、CyclinD、CyclinB、CDK2、Cdc2; 细胞凋亡相关的 Fas、Bax、CASP3、CASP8、CASP9、CytC、IGF 及 IGF-BP3 等, 说明它们与槲皮素调控细胞周期及细胞凋亡的作用密切相关。

2.5 槲皮素抗宫颈癌主要靶蛋白的分子对接

由表 3 可知, 除 4KZN 靶蛋白外, 其余 9 个靶蛋白与槲皮素结合能均 < -5 kcal/mol, 其中 Myc 原癌基因蛋白 (图 8)、RAC- α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (图 9) 及信号转导及转录激活蛋白 3 (图 10) 与槲皮素的结合能最低, 分别为 -8.2 、 -7.9 、 -7.9 kcal/mol, 说明上述靶蛋白与槲皮素亲和力最高, 它们与槲皮素相互作用的氨基酸残基如表 4 所示。

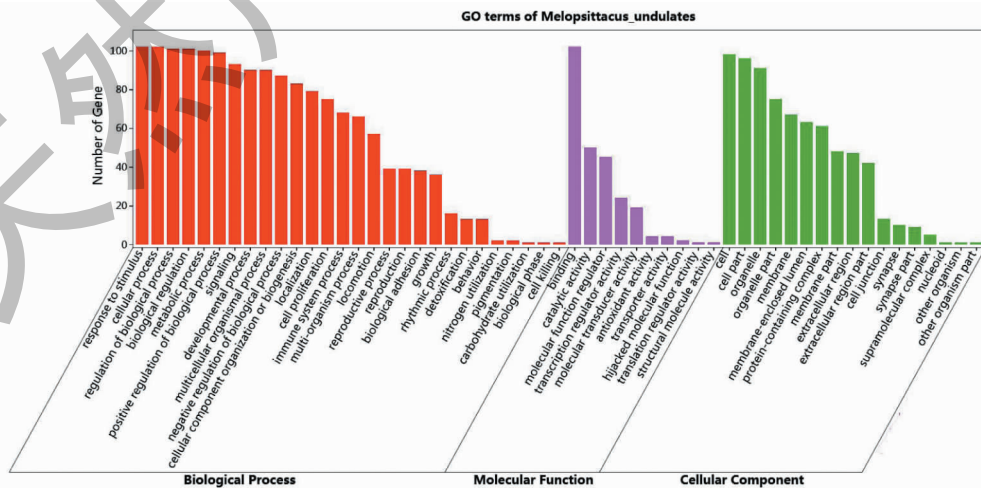


图4 槲皮素抗宫颈癌靶点的 GO 功能分析

Fig. 4 Analysis of GO function of quercetin-anticervical cancer targets

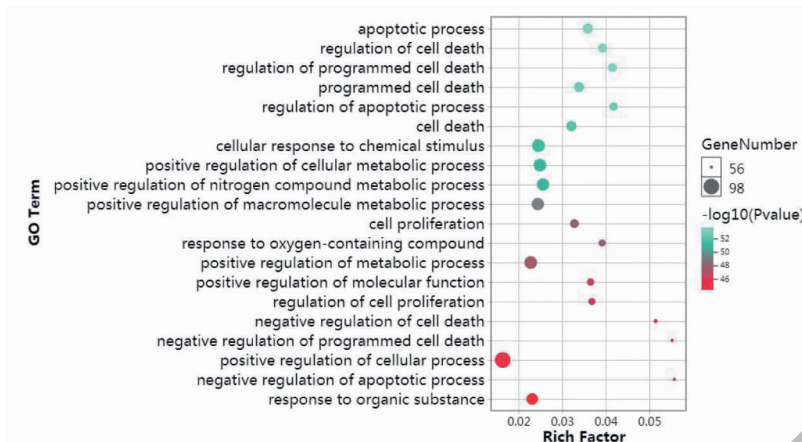


图5 槲皮素抗宫颈癌靶点的GO功能富集

Fig. 5 GO enrichment of quercetin-anticervical cancer targets

表2 KEGG 信号通路信息

Table 2 KEGG signal pathway information

KEGG 通路 KEGG pathway	计数 Count	百分率 Percentage (%)	P 值 P-value
癌症通路 Pathways in cancer	55	56.70	3.30×10^{-43}
HIF-1 信号通路 HIF-1 signaling pathway	23	23.70	1.10×10^{-21}
FoxO 信号通路 FoxO signaling pathway	25	25.80	6.40×10^{-21}
p53 信号通路 p53 signaling pathway	17	17.50	2.90×10^{-16}
PI3K-Akt 信号通路 PI3K-Akt signaling pathway	30	30.90	7.10×10^{-16}
细胞凋亡 Apoptosis	15	15.50	5.80×10^{-14}
癌症中的中央碳代谢 Central carbon metabolism in cancer	15	15.50	9.30×10^{-14}
ErbB 信号通路 ErbB signaling pathway	15	15.50	8.20×10^{-12}
TNF 信号通路 TNF signaling pathway	16	16.50	1.10×10^{-11}
细胞周期 Cell cycle	16	16.50	9.60×10^{-11}
雌激素信号通路 Estrogen signaling pathway	14	14.40	6.70×10^{-10}
癌症中的转录失调 Transcriptional misregulation in cancer	16	16.50	6.50×10^{-9}
VEGF 信号通路 VEGF signaling pathway	11	11.30	7.90×10^{-9}
TGF-beta 信号通路 TGF-beta signaling pathway	12	12.40	1.60×10^{-8}
Jak-STAT 信号通路 Jak-STAT signaling pathway	14	14.40	7.50×10^{-8}
mTOR 信号通路 mTOR signaling pathway	9	9.30	1.10×10^{-6}
趋化因子信号通路 Chemokine signaling pathway	13	13.40	8.20×10^{-6}
MAPK 信号通路 MAPK signaling pathway	14	14.40	3.90×10^{-5}
Ras 信号通路 Ras signaling pathway	13	13.40	5.80×10^{-5}
NF-κB 信号通路 NF-kappa B signaling pathway	8	8.20	1.80×10^{-4}
AMPK 信号通路 AMPK signaling pathway	8	8.20	1.50×10^{-3}
Wnt 信号通路 Wnt signaling pathway	7	7.20	1.20×10^{-2}

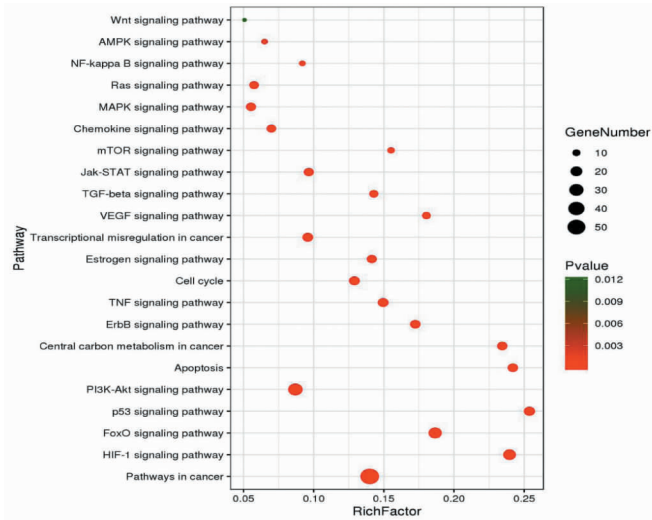


图 6 槲皮素抗宫颈癌靶点的通路富集

Fig. 6 Pathways enrichment of quercetin-anticervical cancer targets

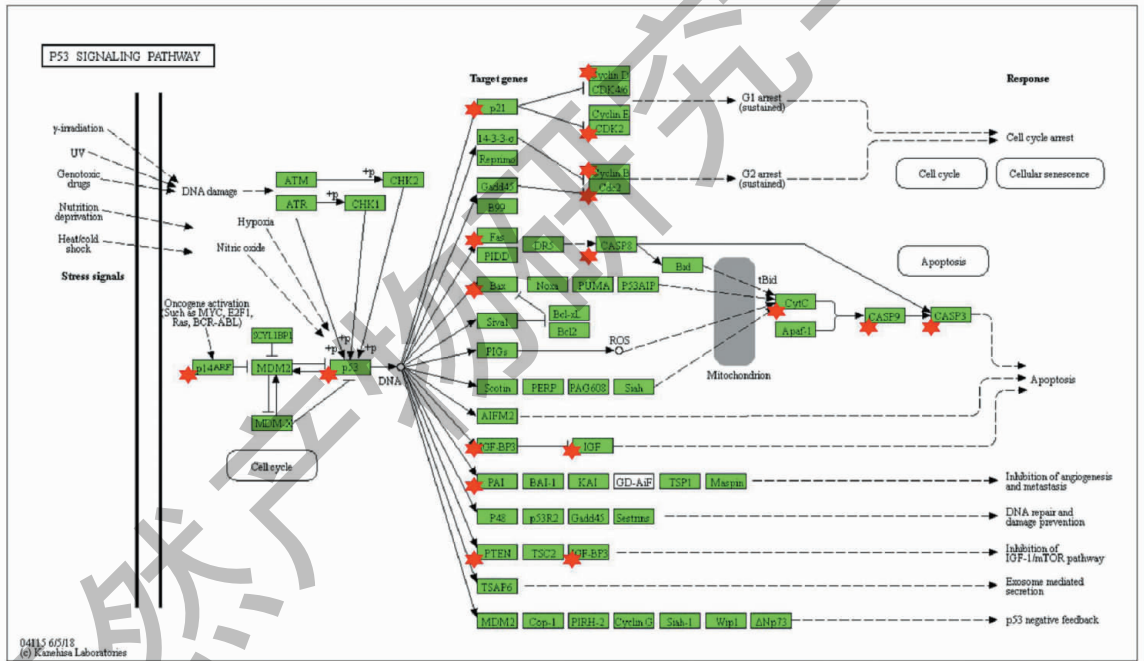


图 7 p53 信号通路分析

Fig. 7 The analysis of p53 signaling pathway

注：★代表槲皮素在 p53 通路的靶点。Note：★represents targets of quercetin of enrichment in the p53 pathway.

3 讨论

天然产物是抗癌药物发掘的重要源泉,紫杉醇、长春碱、喜树碱、高三尖杉酯碱及人参皂苷 Rg3 等植物源性小分子已广泛应用于癌症临床治疗^[5]。槲皮素是自然界广泛分布的天然黄酮类物质,多项研究^[6,7]表明其抗癌活性明显,国外 I 和 II 期临床试验证实槲皮素能够抑制多种肿瘤进展^[8]。国内

研究主要集中在槲皮素抗宫颈癌方面,如 Zhang 等^[9]发现槲皮素可上调 Caspase-3、Caspase-9 的表达,诱导宫颈癌细胞 C33A 凋亡,下调 cyclin D1 的表达,抑制宫颈癌细胞 SiHa、C33A 的活力和增殖。Zhu 等^[10]发现槲皮素通过上调 Caspase-3,下调中期因子(Midkine, MK)的表达,显著抑制宫颈癌 HeLa 细胞增殖,并诱导其凋亡。上述研究大多侧重于细

胞凋亡及细胞周期的个别蛋白,不足以系统揭示槲皮素抗宫颈癌的复杂机制。

表 3 槲皮素与主要靶蛋白的分子对接

Table 3 Molecular docking of main target protein and quercetin

靶蛋白 Target	蛋白库编号 PDB ID	原配体 Ligand	活性位点三维坐标 Three dimensional coordinates of the active site	原配体结合能 Affinity of ligand (kcal/mol)	槲皮素结合能 Affinity of quercetin (kcal/mol)
MYC	4Y7R	TRS	$x = 12.184; y = 24.828; z = 2.007$	-4.2	-8.2
AKT1	3CQW	CQW	$x = 5.509; y = 2.843; z = 18.325$	-7.1	-7.9
STAT3	5AX3	5ID	$x = 16.833; y = -6.516; z = -16.892$	-6.7	-7.9
EGFR	4LI5	1WY	$x = 51.121; y = 2.404; z = -19.112$	-9.4	-7.6
MAPK1	4QP2	36R	$x = -17.332; y = -36.506; z = -27.708$	-4.9	-7.2
TP53	5AB9	92O	$x = 91.696; y = 96.146; z = -42.878$	-7.2	-7.1
CCND1	2W96	GOL	$x = 17.069; y = 9.861; z = 59.183$	-2.6	-6.8
CASP3	3GJR	DZE	$x = 13.08; y = 4.233; z = 1.037$	-4.3	-6.3
ESR1	4IU7	1GM	$x = 11.627; y = 21.185; z = 32.186$	-10	-6
VEGFA	4KZN	NAG	$x = 4.939; y = -4.563; z = 22.551$	-3.4	-4.5

表 4 靶蛋白氨基酸残基

Table 4 amino acid residues of target protein

靶蛋白 Target	靶蛋白全称 Full name of the target	槲皮素作用的氨基酸残基 Amino acid residues that veact with quercetin
MYC	Myc 原癌基因蛋白 Myc proto-oncogene protein	VAL-48, TYR-260, TYR-191, SER-91, SER-64, SER-50, SER-49, SER-306, SER-218, SER-175, PHE-263, PHE-219, PHE-133, LYS-259, LEU-321, ILE-90, ILE-305, ILE-262, GLY-89, CYS-261, CYS-134, ASP-92, ASP-107, ALA-65, ALA-47, ALA-176
AKT1	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	VAL-164, TYR-229, THR-291, THR-211, SER-7, PHE-442, PHE-438, PHE-161, MET-281, MET-227, LYS-276, LYS-179, LYS-158, LEU-156, GLY-162, GLY-159, GLY-157, GLU-278, GLU-234, GLU-228, ASP-292, ASN-279, ARG-4, ALA-230, ALA-177
STAT3	信号转导及转录激活蛋白 3 Signal transducer and activator of transcription 3	VAL-30, TYR-27, SER-144, MET-99, LYS-45, LYS-105, LEU-98, LEU-66, LEU-147, ILE-94, ILE-75, ILE-44, ILE-22, GLU-62, GLU-360, GLU-24, GLN-96, CYS-157, ASP-97, ASP-158, ASP-102, ASN-145, ALA-43

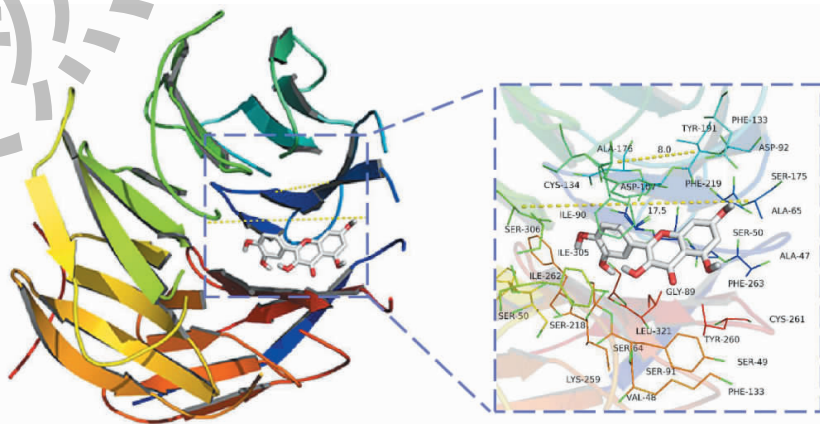


图 8 Myc 原癌基因蛋白的分子对接模型

Fig. 8 The docking model of Myc proto-oncogene protein

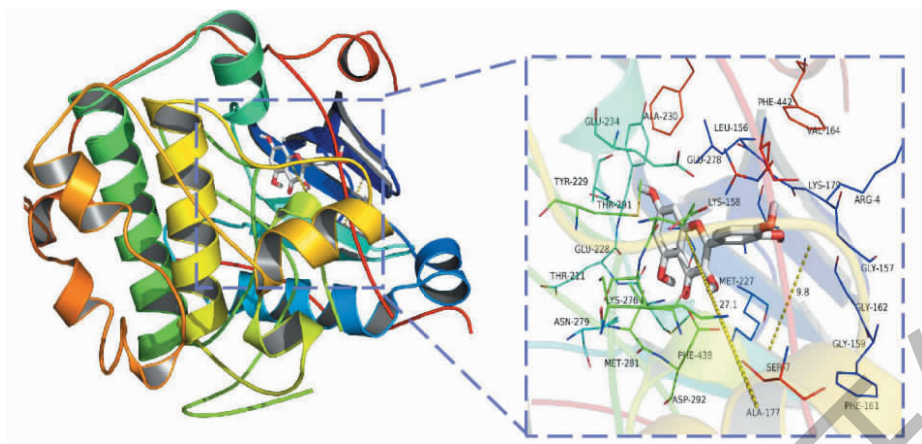


图9 RAC- α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的分子对接模型

Fig. 9 The docking model of RAC- α serine/threonine-protein kinase

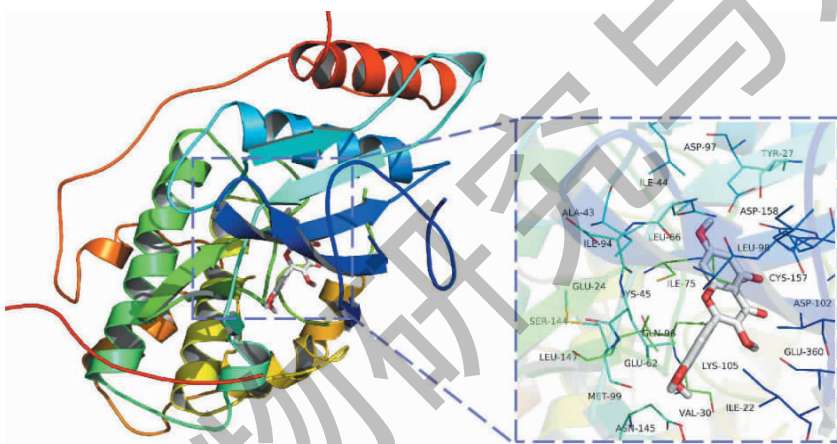


图10 信号转导及转录激活蛋白3的分子对接模型

Fig. 10 The docking model of signal transducer and activator of transcription 3

本研究检索多个化合物靶点数据库、疾病靶点数据库,挖掘出97个槲皮素抗宫颈癌靶点。借助蛋白互作筛出29个主要靶点,按照其功能可分为调控转录及凋亡的TP53、MYC、AKT1、CASP3、CASP8、CTNBN1、CYCS、EP300、ERBB2、MAPK1、MAPK3、SRC、STAT3;调控细胞周期CCND1、CDKN2A、PTEN;参与血管生成的EGF、EGFR、VEGFA;调控炎症反应的IL6、TNF、PTGS2、IL1B、CXCL8;以及性激素受体AR、ESR1等,说明槲皮素抗宫颈癌机制除了诱导凋亡、阻滞周期外,还包括抗血管生成、调控炎症等其它机制。选取主要靶点中的前十个与槲皮素进行分子对接,结果发现其与MYC、STAT3及AKT1三个靶点的亲和力最高。MYC属于编码核蛋白的癌基因,其家族基因及产物可促进细胞增殖,永生化,去分化以及转化等,在多种肿瘤形成过程中处于重要地位。Cui等^[11]发现调节C-Myc可诱导宫颈

癌细胞G₂/M期阻滞和细胞死亡,另有研究^[12]证实槲皮素能抑制MYC基因结合位点的活性,阻止Myc向染色质稳定募集,使其不能促进多能干细胞形成以及驱动肿瘤发生。STAT3被认为在多种恶性肿瘤中发挥重要作用,靶向STAT3被认为是一种干预治疗途径,Chen等^[13]实验证实槲皮素不仅从基因转录方面抑制STAT3 mRNA的表达,而且还能抑制Stat3蛋白激酶的活化,从而诱导宫颈癌细胞凋亡。AKT1是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,活化的AKT1可以抑制细胞凋亡,促进细胞周期运行及细胞侵袭和转移,Liu等^[14]发现环氧合酶-2抑制剂通过下调AKT1蛋白表达而抑制宫颈癌HeLa细胞增殖。但尚未见到槲皮素可否通过AKT1作用于宫颈癌的相关报道,本文分子对接为进一步探寻槲皮素抗宫颈癌机制提供了线索。

KEGG分析发现槲皮素靶点主要富集在p53信

号通路、Apoptosis 通路、PI3K-Akt 信号通路、Jak-STAT 信号通路等。其中富集因子最大的 p53 信号通路作用广泛,涉及细胞周期、细胞凋亡、肿瘤血管生成及转移抑制、DNA 的修复及损伤防御等,Vidya 等^[15]证实槲皮素通过 p53 依赖机制,诱导宫颈癌 HeLa 细胞 G₂/M 期阻滞及线粒体凋亡,以剂量依赖的方式抑制 HeLa 细胞存活。Xiang 等^[16]发现槲皮素可下调 Pi3k、p-Akt 及 Bcl-2 表达,上调 Bax 表达,通过 PI3K-Akt 信号通路诱导宫颈癌 HeLa 细胞凋亡。Luo 等^[17]发现槲皮素纳米颗粒通过抑制 JAK2 诱导宫颈癌细胞凋亡和自噬,抑制 STAT3/5 和 PI3K/Akt 信号通路,调控细胞周期蛋白 D1 和 mTOR,抑制宫颈癌细胞增殖。肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)是一个高度复杂的综合动态系统,由肿瘤细胞、基质细胞和细胞外基质组成,具有低氧、营养缺乏、酸中毒、慢性炎症、免疫抑制,以及多种细胞因子产生等生物学特征,在抗癌药物耐药以及肿瘤复发、转移等方面具有重要作用。乏氧诱导因子(hypoxia-inducible factors, HIFs)、血管内皮生长因子(vascular epithelial growth factor, VEGF)等共同参与了肿瘤微环境形成及肿瘤血管生成。本研究发现槲皮素靶点还能显著富集在的 HIF-1 信号通路和 VEGF 信号通路上,实验^[18]证实槲皮素可以靶向 VEGFR-2,调控 AKT/mTOR 等下游信号通路,抑制肿瘤生长和血管形成。Hu 等^[19]则发现磷酸槲皮素可显著抑制活化成纤维细胞中 wnt16 的表达,诱导 TME 重构,发挥协同抗癌作用。

总之,本研究借助生物信息学相关技术与方法,系统研究了槲皮素抗宫颈癌靶点、生物过程、信号通路等,全面揭示了槲皮素多靶点、多通路、多机制抗宫颈癌的药理学作用。

参考文献

- Zhang F, Du XM, Huang MN. Status of adjuvant therapy after early cervical cancer surgery[J]. J Clin Oncol (临床肿瘤学杂志), 2019, 24:463-467.
- Wei MZ, Chen SJ, Huang HX. Research status and progress of comprehensive treatment mode for advanced cervical cancer[J]. Chin Cancer(中国肿瘤), 2019, 28:456-460.
- Kedhari Sundaram M, Raina R, Afroze N, et al. Quercetin modulates signaling pathways and induces apoptosis in cervical cancer cells[J]. Biosci Rep, 2019, 39(8):1-17.
- Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina; improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient op-

- timization, and multithreading[J]. J Comput Chem, 2010, 31:455-461.
- Li Y, Zhang ZW, Li XY. Review on anticancer mechanism of new natural alkaloids[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2016, 28:1850-1855.
- Ni M, Yang WB, Mi BZ, et al. Reports of related studies on the anticancer mechanism of quercetin[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2018, 34:129-132.
- Hashemzai M, Delarami Far A, Yari A, et al. Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin *in vitro* and *in vivo* [J]. Oncol Rep, 2017, 38:819-828.
- Kelly GS. Quercetin. monograph[J]. Altern Med Rev, 2011, 16:172-194.
- Zhang X, Dong CL, Fu LL, et al. Effect of quercetin on SiHa proliferation of cervical cancer cells[J]. J Int Obstet Gynecol (国际妇产科学杂志), 2017, 44:304-306.
- Zhu JM, Zhang RR, Lu XY, et al. Study on the mechanism of quercetin on HeLa cell proliferation of cervical cancer[J]. Chin J Cancer Prev Treat(中华肿瘤防治杂志), 2014, 21:1073-1077.
- Cui F, Hou J, Huang C, et al. C-Myc regulates radiation-induced G₂/M cell cycle arrest and cell death in human cervical cancer cells[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2017, 43:729-735.
- Thomas LR, Wang Q, Grieb BC, et al. Interaction with WDR5 promotes targets gene recognition and tumorigenesis by MYC [J]. Mol Cell, 2015, 58:440-452.
- Chen J, Zhang W, Ao LF, et al. Effect of quercetin on STAT3 expression and its signaling pathway in HeLa cells of cervical cancer[J]. Chin J Clin; Elec(中华临床医师杂志:电子版), 2011, 5:5656-5661.
- Liu XY, Zhou JB, Li T, et al. The role of Akt1 in cyclooxygenase-2 inhibitor in inhibiting the proliferation of cervical cancer Hela cells[J]. Med Sci J Centr South China(中南医学科学杂志), 2014, 42:359-362.
- Vidya Priyadarsini R, Senthil Murugan R, Maitreyi S, et al. The flavonoid quercetin induces cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (HeLa) cells through p53 induction and NF-κB inhibition[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 649:84-91.
- Xiang T, Fang Y, Wang SX. Quercetin suppresses HeLa cells by blocking PI3K/Akt pathway [J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2014, 34:740-744.
- Luo CL, Liu YQ, Wang P, et al. The effect of quercetin nanoparticle on cervical cancer progression by inducing apoptosis, autophagy and anti-proliferation via JAK2 suppression [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 82:595-605.