

# 基于网络药理学、分子对接和体外细胞实验研究白花蛇舌草总黄酮对食管鳞癌的作用机制

肖思哲\*, 陈慧芳, 周庄, 黄浩博, 李让, 陈晓冰#

珠海科技学院生命科学学院, 广东 珠海

收稿日期: 2025年12月27日; 录用日期: 2026年1月21日; 发布日期: 2026年1月30日

## 摘要

目的: 借助网络药理学与分子对接方法, 探究白花蛇舌草总黄酮抗食管鳞癌的作用机制, 并通过体外细胞实验进行验证, 为后续研究提供依据。方法: 借助TCMSP获取白花蛇舌草的药物靶点, 从GeneCards、TTD和OMIM数据库筛选食管鳞癌相关靶点, 并利用Veen图获取其交集靶点; 应用Cytoscape 3.10.2构建PPI网络, 进行GO与KEGG富集分析; 进一步将活性成分槲皮素(Quercetin)与核心靶点蛋白进行分子对接, 并通过体外细胞实验验证作用效果。结果: 共筛选出127个交集靶点, 包括NFKB1、EGF、TP53、ERBB2等, 确定Quercetin为有效成分。主要调控NFKB1、TP53及EGF信号通路发挥抗肿瘤作用。分子对接实验显示其与核心靶点结合良好; 细胞实验表明白花蛇舌草总黄酮浓度提升会抑制食管鳞癌细胞存活。结论: 白花蛇舌草总黄酮的抗肿瘤作用可能与其调控NFKB1与TP53等靶点相关。

## 关键词

网络药理学, 分子对接, 食管鳞癌, 槲皮素, 体外细胞实验

# Mechanistic Investigation of Total Flavonoids from *Hedyotis diffusa* Willd. in Esophageal Squamous Cell Carcinoma via Network Pharmacology, Molecular Docking, and *in Vitro* Cell Experiments

Sizhe Xiao\*, Huifang Chen, Zhuang Zhou, Haobo Huang, Rang Li, Xiaobing Chen#

School of Life Science, Zhuhai College of Science and Technology, Zhuhai Guangdong

\*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 肖思哲, 陈慧芳, 周庄, 黄浩博, 李让, 陈晓冰. 基于网络药理学、分子对接和体外细胞实验研究白花蛇舌草总黄酮对食管鳞癌的作用机制[J]. 临床医学进展, 2026, 16(2): 281-294. DOI: 10.12677/acm.2026.162391

## Abstract

**Objective:** To investigate the mechanism of action of total flavonoids from *Hedyotis diffusa* Willd. (HF) against esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) using network pharmacology and molecular docking methods, and to verify the effect through *in vitro* cell experiments, so as to provide a basis for subsequent research. **Methods:** The drug targets of *Hedyotis diffusa* were obtained from TCMSP. ESCC-related targets were screened from GeneCards, TTD, and OMIM databases, and the intersection targets were identified using a Venn diagram. Cytoscape 3.10.2 was used to construct a protein-protein interaction (PPI) network, followed by Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses. Furthermore, molecular docking was performed between the active component quercetin and core target proteins, and the effect was verified by *in vitro* cell experiments. **Results:** A total of 127 intersection targets were screened, including NFKB1, EGF, TP53, ERBB2, etc., and quercetin was identified as the effective component. It exerts anti-tumor effects mainly by regulating NFKB1, TP53, and EGF signaling pathways. Molecular docking experiments showed that quercetin binds well to core targets; cell experiments indicated that the inhibitory effect of HF on the viability of ESCC cells is concentration-dependent. **Conclusion:** The anti-tumor effect of total flavonoids from *Hedyotis diffusa* may be associated with their regulation of targets such as NFKB1 and TP53.

## Keywords

Network Pharmacology, Molecular Docking, Esophageal Squamous Cell Carcinoma, Quercetin, *In Vitro* Cell Experiment

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

食管癌作为一种常见的消化道恶性肿瘤，具有很强的侵略性，死亡率在各类癌症中排名第六<sup>[1]</sup> <sup>[2]</sup>。2021年1月，国际癌症研究中心(International Agency for Research on Cancer, IARC)根据 GLOBCAN 数据库发布的数据，指出2020年在全球范围内食管癌发病人口约为60.4万，其中死亡人口高达54.4万<sup>[3]</sup>。在食管恶性肿瘤的病理分类体系中，鳞状细胞癌及腺癌构成两大核心类型，而我国食管鳞癌占约90%<sup>[4]</sup>。其主要症状多在中晚期才表现出来。目前，常通过实施原发灶切除联合区域淋巴结清扫手术来达到治疗效果。尽管部分食管癌患者接受了肿瘤根治性切除、手术、放疗、化疗及放化疗等多模态综合治疗，但均未展现出理想的干预效果，其5年总体成功率不足20%<sup>[5]</sup> <sup>[6]</sup>。现阶段，针对该疾病的临床治疗仍有待制定更有效的新型治疗策略。

白花蛇舌草(*Hedyotis diffusa*)，茜草科(Rubiaceae)耳草属(*Hedyotis*)植物，广泛分布于东亚和东南亚地区，如中国、日本和印度尼西亚等<sup>[7]</sup>。白花蛇舌草作为传统药用植物，在中医临床实践中具有极高的药用价值，除具清热解毒、利尿消肿的经典功效外，其兼具抗肿瘤、抗炎、抗氧化及免疫调节等多重药理活性，是我国传统中药中重要的药用品种之一<sup>[8]</sup> <sup>[9]</sup>。现代药理学研究显示，白花蛇舌草的主要活性成分总黄酮对多种人类肿瘤表现出显著的抗肿瘤活性<sup>[10]</sup>。近年来，白花蛇舌草作为多种复方药材的核心组分之一，其在食管鳞状细胞癌中的作用效应及潜在药理机制仍缺乏系统性研究<sup>[11]</sup>，阐明其抗肿瘤药理机制

已成为当前该领域的关键科学问题[12]。

为了解决以上问题,本研究将白花蛇舌草总黄酮与食管鳞癌建立联系,系统性研究两者潜在的药理机制以及作用效果。本文将通过网络药理学系统阐明白花蛇舌草总黄酮治疗食管鳞癌的重要靶点和作用机理,并借助分子对接技术对关键蛋白实现蛋白可视化处理。而后在理论的基础上提取白花蛇舌草中的总黄酮,利用体外细胞实验验证白花蛇舌草对食管鳞癌的作用效果,为后续深入研究及其药品研发提供一定的理论依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料

#### 2.1.1. 主要试剂及其他耗材

白花蛇舌草采自于全乐药业有限公司,经鉴定符合《中国药典》标准;食管鳞癌细胞由武汉普诺赛生命科技有限公司所提供;5% NaNO<sub>2</sub>溶液、磷酸盐缓冲盐水(PBS)购自广州和为医药科技有限公司;90%乙醇溶液购自安诺化工;10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9 H<sub>2</sub>O 购自武汉吉鑫益邦生物科技有限公司;4% NaOH 溶液来自上海尚宝生物科技有限公司;10% 胎牛血清购自上海鹿森生物工程有限公司;二甲基亚砜(DMSO)购自广州市康洋化工有限公司;实验用水为超纯水(见表 1)。

**Table 1.** Experimental reagents and consumables

**表 1. 实验试剂及耗材**

原料、试剂名称	生产厂家或供货商
食管鳞癌细胞	武汉普诺赛生命科技有限公司
白花蛇舌草	权乐药业
90% 乙醇	安诺化工
5% NaNO <sub>2</sub>	广州和为医药科技有限公司
10% Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·9 H <sub>2</sub> O	武汉吉鑫益邦生物科技有限公司
4% NaOH	上海尚宝生物科技有限公司
PBS	广州和为医药科技有限公司
胰酶	上海源叶生物科技有限公司
10% 胎牛血清	上海鹿森生物工程有限公司
DMSO	广州市康洋化工有限公司

#### 2.1.2. 主要仪器

多功能粉碎机采购于德清拜杰电器有限公司;电脑微波超声波组合合成萃取仪购于北京祥鹄科技有限公司;旋转蒸发器购于上海亚荣生化仪器厂;二氧化碳培养箱购自上海润度生物科技有限公司,以上仪器均符合实验室标准(见表 2)。

**Table 2.** Experimental instruments

**表 2. 实验仪器**

仪器名称	仪器型号	仪器厂家
多功能粉碎机	BJ-2500A	德清拜杰电器有限公司
电脑微波超声波组合合成萃取仪	XH-300A	北京祥鹄科技有限公司
旋转蒸发器	RE-52AA	上海亚荣生化仪器厂
二氧化碳培养箱	Herocell 240	上海润度生物科技有限公司

## 2.2. 白花蛇舌草活性成分的筛选及靶点预测

利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, [https://tcmsp-e.com/load\\_intro.php?id=29](https://tcmsp-e.com/load_intro.php?id=29))数据库检索, 以口服生物利用度(Oral Bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ 、类药性(Drug-Likeness, DL)  $\geq 0.18$  为条件, 筛选出白花蛇舌草的主要活性成分及其对应靶点, 并将数据导入通用蛋白质资源数据库(UniProt, <https://www.uniprot.org>)得到对应的蛋白质名称。

## 2.3. 食管鳞癌靶点的筛选

借助基因卡片数据库(Genecards, <https://www.genecards.org>)、药物靶标数据库(TTD, <https://db.idrblab.net/ttd>)以及在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM, <https://www.omim.org>), 搜检得到与食道鳞癌相关的疾病靶点。

## 2.4. 交集靶点的获取

利用 VENNY 2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny>)绘制软件, 导入药物靶点和疾病靶点, 绘制 VENN 图。

## 2.5. 蛋白质相互作用网络的构建及核心靶点的筛选

利用检索相互作用基因的搜索工具(STRING, <https://cn.string-db.org/>), 以“Homo sapien”为筛选条件, 构建药物与疾病共同靶点的蛋白互作网络(Protein-Protein Interaction, PPI), 并借助 Cytoscape 3.10.2 软件进行拓扑分析, 以自由度(Degree)、介数(Closeness)、中心度(Betweenness)均大于平均值为筛选条件, 并选取 Degree 值排名前三的基因作为核心基因进行详细分析。

## 2.6. GO 及 KEGG 通路富集分析

利用 Metascape (<http://metascape.org/gp/index.html>)数据库, 进行 GO 功能富集和 KEGG 通路分析, 对富集分析结果进行可视化处理。

## 2.7. 分子对接

结合文献, 选取榭皮素与核心靶点(NFKB1, TP53, EGF), 并通过 CB-Dock (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/index.php>)进行分子对接。

## 2.8. 白花蛇舌草总黄酮提取方法

取干燥后的白花蛇舌草, 放入粉碎机, 成粉末状后过 60 目筛得到已过滤的白花蛇舌草粉末。称取 8 g 白花蛇舌草粉末, 加入 90% 乙醇溶解。利用超声微波仪进行提取, 设置参数如下: 温度为 70°C, 压力为 1.00 MPa, 上升时间为 1 分钟, 保持时间为 40 分钟, 微波功率下限为 0 W, 超声波功率上限为 400 W。对样品液进行 3 次超声微波提取, 抽滤得到总黄酮提取液, 旋蒸浓缩, 烘干。

## 2.9. 细胞毒性实验

白花蛇舌草提取物对食道鳞癌细胞的毒性通过 CCK-8 实验来检测。将食道鳞癌细胞以每孔 7000 个细胞的密度种在 96 孔细胞培养板中。在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 24 h 后吸走原来的培养液。每孔重新加入含有不同质量的白花蛇舌草提取物新鲜的培养液。培养 48 h 后, 弃去上清, 用无菌 PBS 洗涤细胞 3 次。随后, 加入含 10% CCK-8 培养基孵育 2 小时后, 在 450 nm 波长下测量细胞的吸光度, 以测定细胞活力。

### 3. 结果

#### 3.1. 药物靶点的筛选

通过 TCMSP 数据库筛选整合白花蛇舌草的主要活性成分 7 种, 如表 3 所示。筛选得到白花蛇舌草有效成分所对应的靶点, 整合得到 179 个靶点。

**Table 3.** The active components of *Hedyotis diffusa*  
**表 3. 白花蛇舌草有效成分**

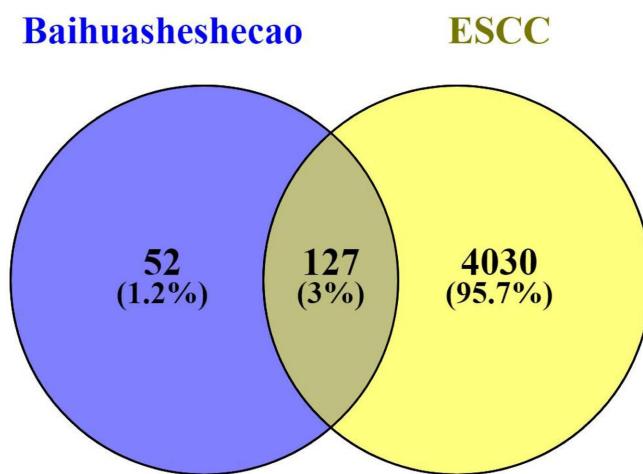
molId	molName	OB(%)	DL
MOL001646	2,3-dimethoxy-6-methyanthraquinone	34.86	0.26
MOL001659	Poriferasterol	43.83	0.76
MOL001663	(4aS,6aR,6aS,6bR,8aR,10R,12aR,14bS)-10-hydroxy-2,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydropicene-4a-carboxylic acid	32.03	0.76
MOL001670	2-methoxy-3-methyl-9,10-anthraquinone	37.83	0.21
MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76
MOL000358	Beta-sitosterol	36.91	0.75
MOL000098	Quercetin	46.43	0.28

#### 3.2. 疾病靶点的筛选

通过 GeneCards、TTD、OMIM 数据库筛选, 整合得到食管鳞癌靶点 4157 个。

#### 3.3. 交集靶点的整合

利用 VENNY 2.1.0 绘制出药物 - 疾病交集图, 见图 1。



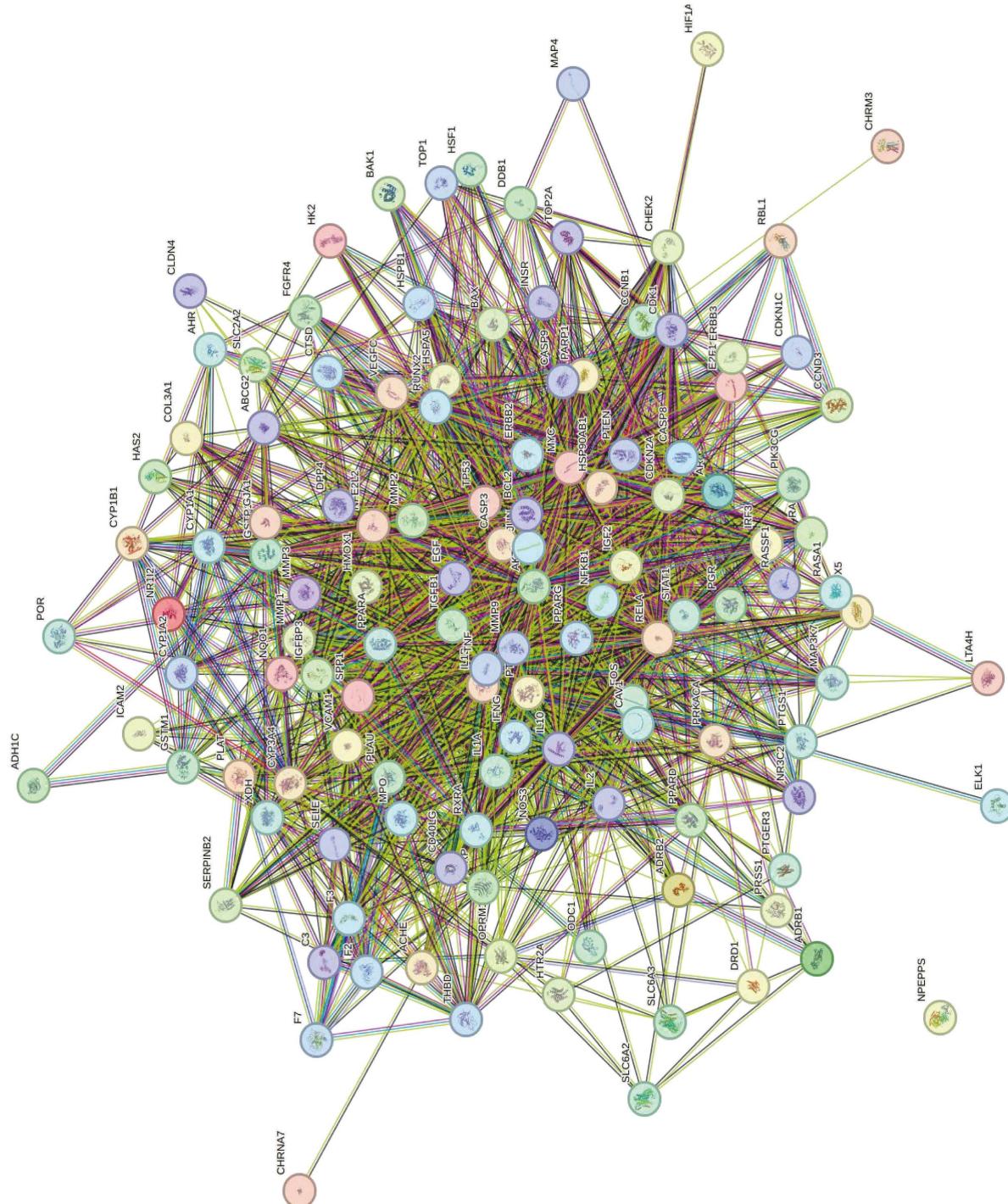
**Figure 1.** Venn diagram of intersecting targets between *Hedyotis diffusa* and esophageal squamous cell carcinoma

**图 1. 白花蛇舌草 - 食管鳞癌交集靶点韦恩图**

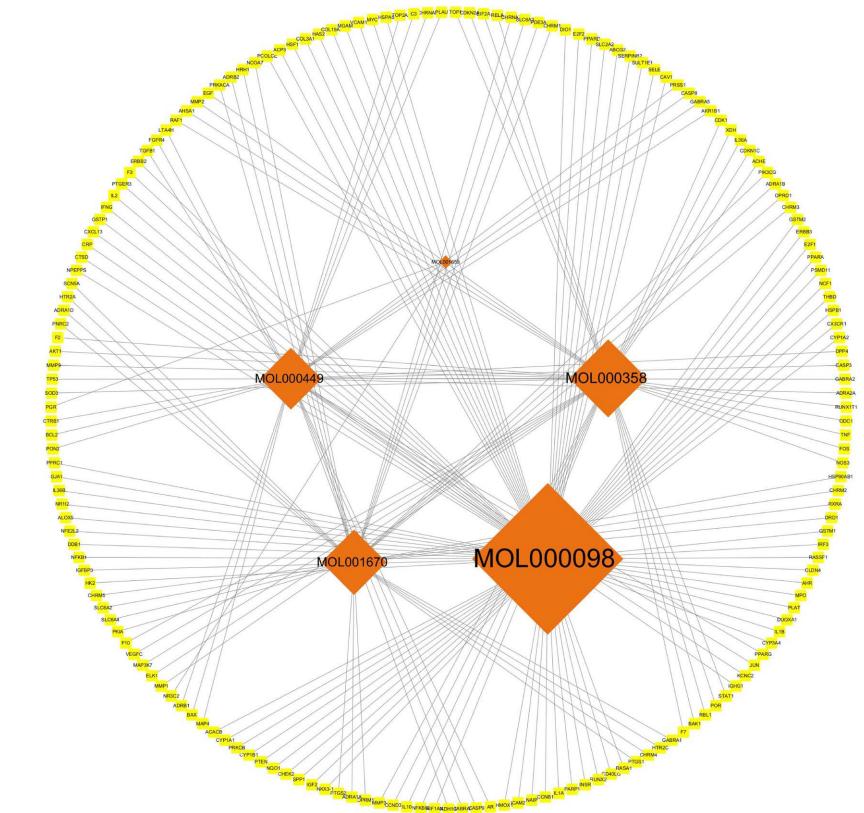
#### 3.4. PPI 网络构建及分析

通过韦恩图得“药物 - 疾病”交集靶点共 127 个。借助 STRING 构建药物与疾病共同靶点的蛋白互

作网络(图2)，并于Cytoscape 3.10.2软件进行绘图及拓扑分析(图3)。以自由度、介数、中心度均大于平均值为筛选条件，得到靶点共27个(表4)。选取Degree值排名前三的基因作为核心基因进行详细分析，分别为核因子κB1(NFKB1)、表皮生长因子(EGF)、肿瘤蛋白53基因(TP53)。且该白花蛇舌草主要抗食管鳞癌的有效成分物质为Quercetin。



**Figure 2.** PPI network of intersecting targets for *Hedysarum diffusum* in the treatment of esophageal squamous cell carcinoma  
**图 2.** 白花蛇舌草治疗食管鳞癌交集靶点的 PPI 网络



**Figure 3.** Intersection diagram of components and targets of *Hedyotis diffusa* in the treatment of esophageal squamous cell carcinoma

**图 3. 白花蛇舌草治疗食管鳞癌成分 - 靶点交集图**

**Table 4.** Targets screened from the PPI network

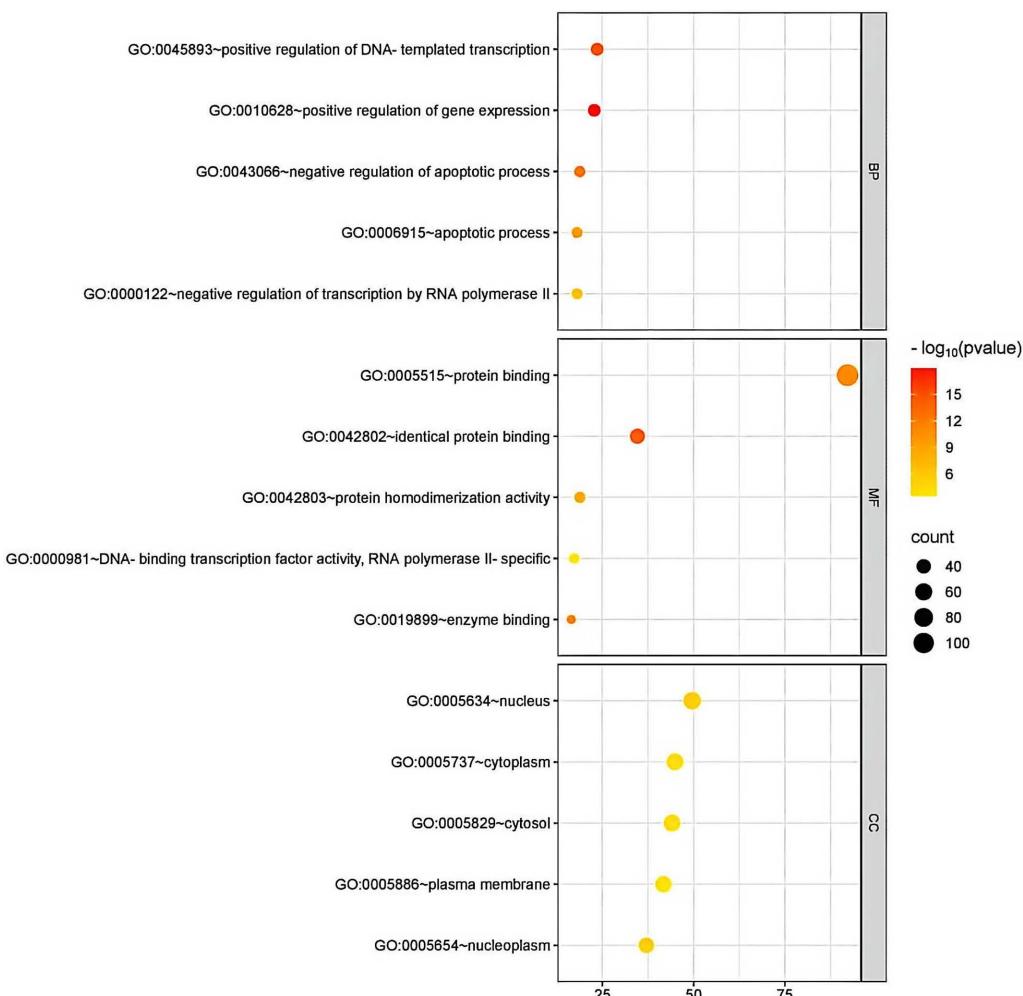
**表 4. PPI 网络中筛选出的靶点**

Target	Degree	Betweenness	Closeness	Target	Degree	Betweenness	Closeness
NFKB1	95	1128.30786	0.006535948	IL1B	64	183.0095797	0.005405405
EGF	91	1003.4361	0.006329114	FOS	63	210.7938862	0.005347594
TP53	88	835.1822645	0.00625	IL10	63	240.3206957	0.005376344
ERBB2	83	572.7851547	0.006024096	PTGS2	62	173.6611372	0.005319149
PPARG	78	408.0848422	0.005847953	TNF	61	609.8269832	0.005347594
CASP3	76	373.5651274	0.005780347	PRKACA	60	149.2058132	0.005291005
PTEN	75	324.1036425	0.005780347	RELA	56	216.7894276	0.005154639
MMP9	75	633.3076108	0.005780347	HSP90AB1	53	193.8943939	0.005128205
BCL2	74	442.0506648	0.005714286	TGFB1	53	178.0200195	0.005076142
AKT1	72	282.0888993	0.005617978	HSPA5	51	131.4340059	0.005025126
MYC	69	328.6504773	0.005524862	CASP9	47	298.3672025	0.004926108
HMOX1	68	182.6044864	0.005524862	JUN	41	189.3336025	0.004739336
IFNG	65	306.5921234	0.005434783	CDK1	40	232.8616414	0.004761905
				CDKN2A	35	161.2603965	0.004608295

### 3.5. GO 与 KEGG 富集分析

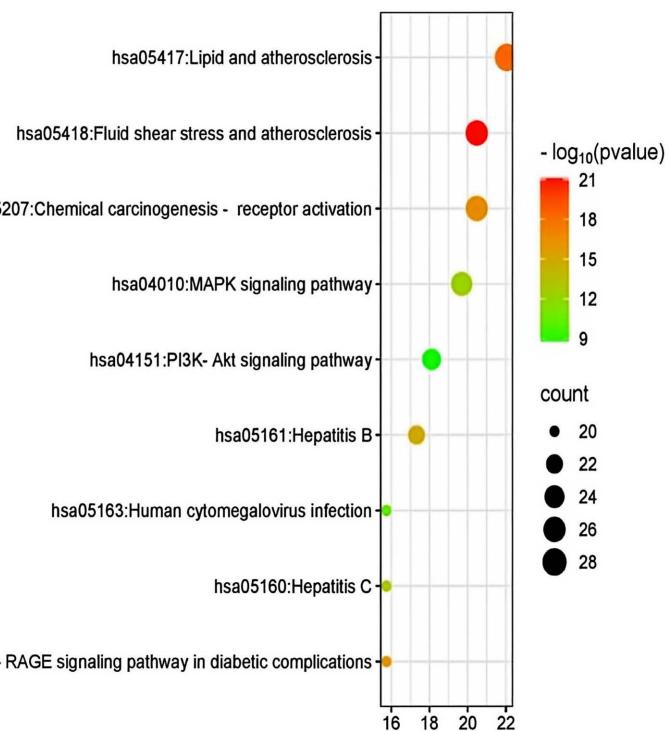
GO 分析展示出不同基因功能类别在特定研究中的富集情况，主要从生物过程(BP)、分子功能(MF)、细胞组分(CC)这三个维度呈现。生物过程包括 DNA 模板转录的正调控、基因表达的正调控、细胞凋亡过程的负调控、RNA 聚合酶 II 转录的负调控等；分子功能中蛋白质与其他分子结合是最显著的类别，这一分子功能在差异基因中广泛存在，可能是核心分子功能之一，此外，相同蛋白质结合，即同源二聚化、蛋白质同源二聚化活性也有一定的富集，蛋白质相互作用(如二聚化、多聚化)可能是关键分子事件；细胞组分涉及细胞核、细胞质、细胞溶胶、细胞膜、溶质等，虽然这些细胞结构相关的类别富集显著性较弱，但仍能看出差异基因在细胞内的分布倾向，见图 4。

KEGG 分析呈现不同信号通路在研究中的富集情况，其中脂质与动脉粥样硬化是最显著富集的通路；流体剪切应力相关机制在动脉粥样硬化进程中可能有重要作用，差异基因在该过程中高度富集；化学致癌作用 - 受体激活富集显著性也较高，表明差异基因参与化学致癌物诱导的受体激活相关致癌过程；丝裂原活化蛋白激酶信号通路和磷脂酰肌醇 3-激酶 - 蛋白激酶 B 信号通路这两条是细胞内重要的信号转导通路，在图 5 中也有一定的富集，说明差异基因可能通过调控这些通路参与细胞的增殖、分化、存活等过程。



**Figure 4.** GO enrichment analysis of targets for *Hedyotis diffusa* in the treatment of esophageal squamous cell carcinoma

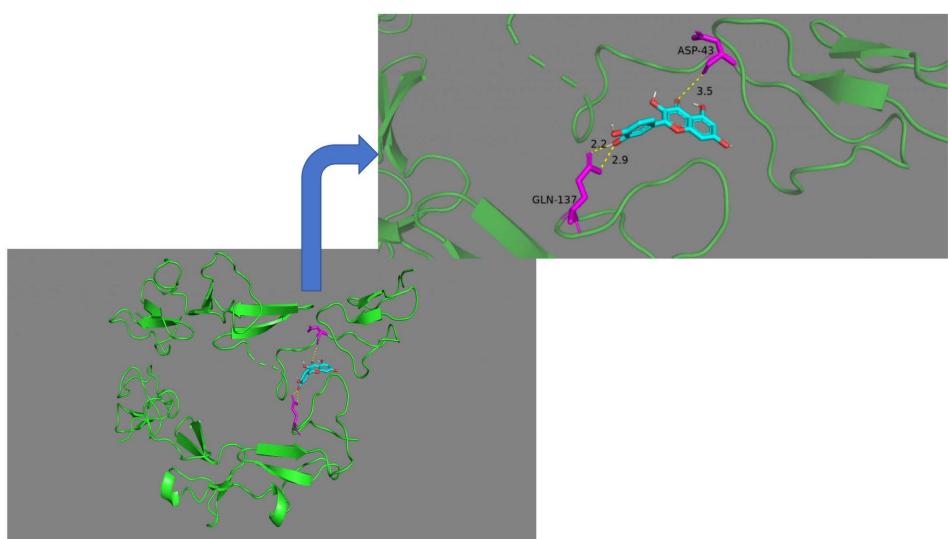
**图 4. 白花蛇舌草治疗食管鳞癌靶点的 GO 富集分析**



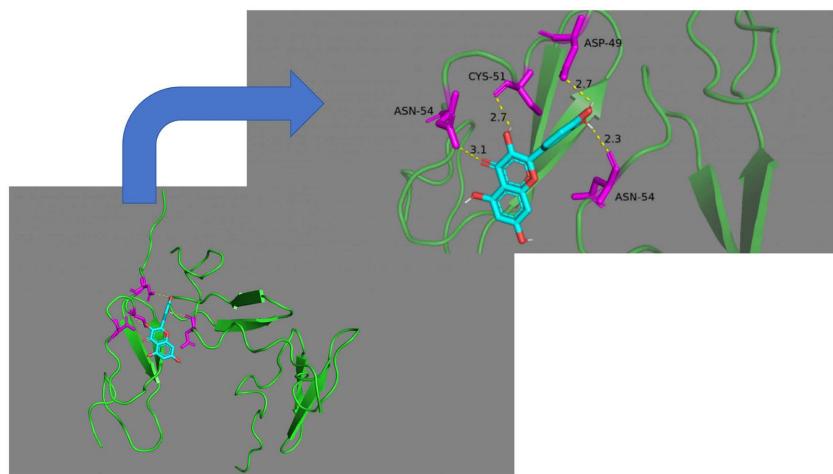
**Figure 5.** KEGG enrichment analysis of targets for *Hedyotis diffusa* in the treatment of esophageal squamous cell carcinoma  
**图 5.** 白花蛇舌草治疗食管鳞癌靶点的 KEGG 富集分析

### 3.6. 分子对接

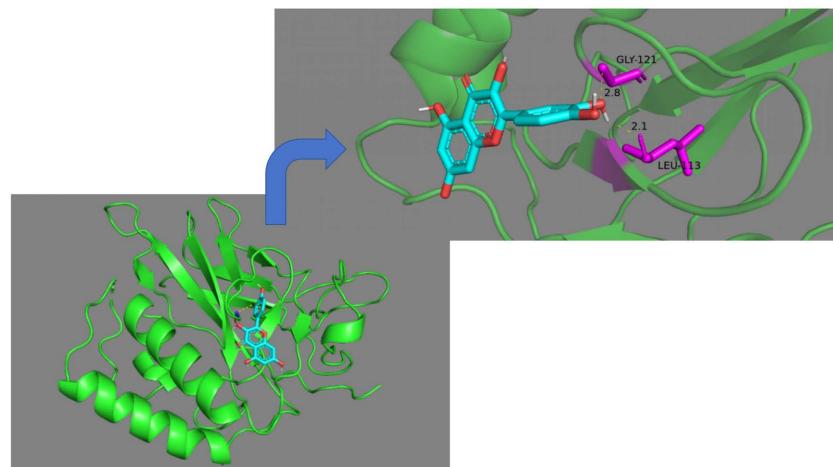
将白花蛇舌草核心成分中的 Quercetin 与关键靶点蛋白进行分子对接。筛选出 Degree 值前三的关键靶点 NFKB1、TP53、EGF 与核心成分进行对接。结果显示：在 EGF 中 2bo2 的分子结合能为-7.3, 5vyg 的分子结合能为-7.0; 在 NFKB1 中 8TQD 的分子结合能为-6.8; 在 TP53 中 3DCY 的分子结合能为-7.9, 说明其关键靶点蛋白对 Quercetin 具有一定的结合能力，见图 6~9。



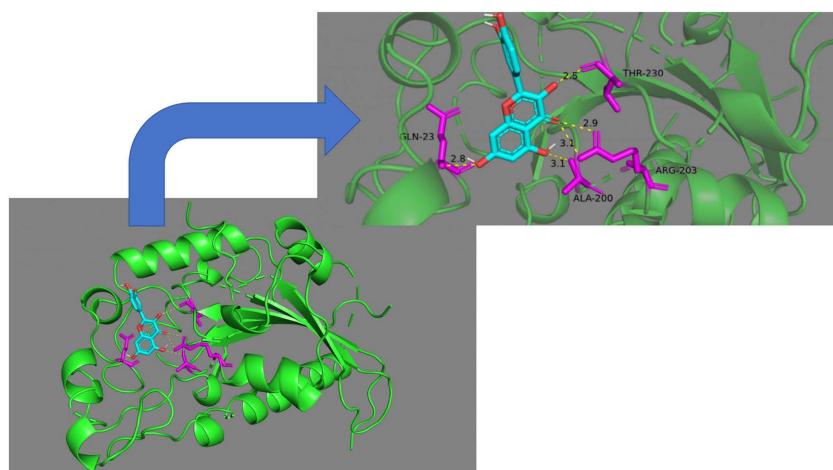
**Figure 6.** Binding of quercetin to the 2bo2 protein  
**图 6.** Quercetin 与 2bo2 蛋白结合



**Figure 7.** Binding of quercetin to the 5vyg protein  
图 7. Quercetin 与 5vyg 蛋白结合



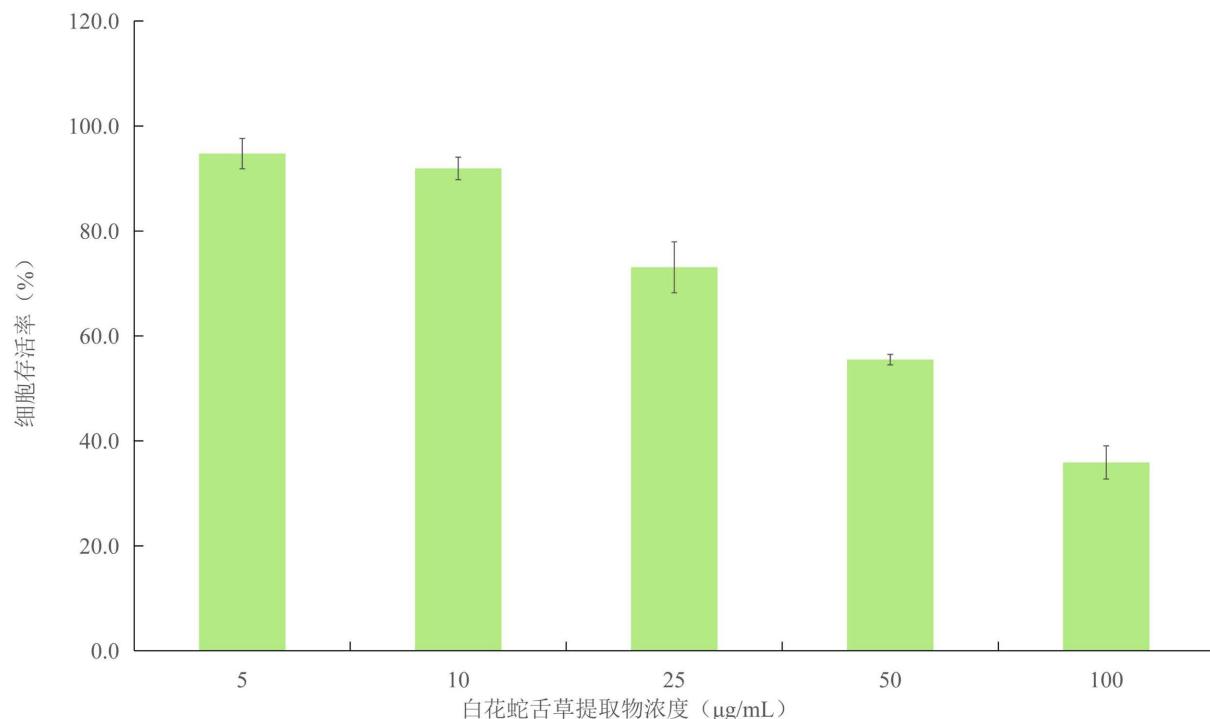
**Figure 8.** Binding of quercetin to the 8TQD protein  
图 8. Quercetin 与 8TQD 蛋白结合



**Figure 9.** Binding of quercetin to the 3DCY protein  
图 9. Quercetin 与 3DCY 蛋白结合

### 3.7. 细胞药效学实验结果

如图 10 所示, 在提取浓度趋于 5~100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 随着提取液浓度的增加, 细胞存活率逐步下降, 且下降率逐渐增大。由此可见, 在一定范围内, 白花蛇舌草总黄酮能够有效抑制食管鳞癌存活, 具有显著的抑制作用。



**Figure 10.** Effect of *Hedyotis diffusa* extract concentration on the viability of esophageal squamous cell carcinoma  
**图 10.** 白花蛇舌草提取物浓度对食管鳞癌细胞存活率的影响

## 4. 讨论

近年来, 从具有网络调节的天然草药中筛选出的化学成分已成为辅助治疗癌症的有效途径之一[13]。本文选用白花蛇舌草中黄酮类物质与食管鳞癌进行潜在作用机制的研究。通过 TCMSP 数据库整理出白花蛇舌草的有效成分 7 种, 经检阅文献及后续研究可知, 起主要抗癌作用的是 Quercetin, 该物质是一种天然生物类黄酮[14], 具有抗炎、抗菌以及抗氧化等多种药理作用[15]。除此之外, Quercetin 还能调控癌细胞的自噬、增殖等过程, 在多种疾病中发挥有效的抑制作用[16], 但需要在一定浓度下才可发挥其作用效果, 本研究证实, 在提取液浓度为 5~100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 随着浓度的增加, 癌细胞的存活率逐渐降低, 且当提取液浓度达到 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 癌细胞的存活率仅达 35.9%。

搜索文献可知, Quercetin 已在抗癌领域发挥着重要作用, 韩惠杰等人研究表明 Quercetin 可能通过调控 AKT1、TP53 等核心靶点, 激活 p53 信号通路, 抑制 HCT-116 细胞增殖、诱导 G0/G1 期阻滞及凋亡, 进而发挥抗结直肠癌作用[17]。基于此, 本研究通过网络药理学筛选出白花蛇舌草有效靶点 179 个, 与食管鳞癌的交集靶点共 127 个, 核心靶点包括 NFKB1、EGF、TP53、ERBB2、PPARG、CASP3、PTEN 等。富集通路分析显示, 白花蛇舌草总黄酮可能通过 DNA 模板转录的正调控、基因表达的正调控、细胞凋亡过程的负调控以及 RNA 聚合酶 II 转录的负调控等来治疗食管鳞癌; 蛋白质相互作用如同源二聚化、蛋白质同源二聚化活性可能是关键分子事件。以 Degree 值排位前三的靶点 NFKB1、TP53、EGF 进行具体

分析。通过分子对接分析,本研究发现3DCY和2bo2与Quercetin对接的结合能最小。

EGF,是EGFR最重要的配体之一[18],该信号通路可调控细胞增殖、分化、迁移、存活等众多过程,有报道称miRNA对EGF信号通路的调控作用尤为关键——它能通过特定分子机制影响通路活性,进而改变肿瘤的核心特性,如增殖速度、侵袭转移能力及对治疗的敏感性[19]。通过取EGF靶点中的关键蛋白受体2bo2蛋白与Quercetin进行分子对接,结果显示两者的结合能为-7.3。根据分子相互作用原理,结合能越低通常意味着分子间亲和力越强,该数据结果可进一步佐证:2bo2蛋白与Quercetin不仅具备较强的相互结合能力,其特异性相互作用概率也明显高于其他候选的蛋白-药物组合。这一发现为EGF靶点的靶向治疗方案开发提供了理论依据。

NFKB1,是NF- $\kappa$ B代表的五个亚基组成的蛋白质家族之一。NFKB1基因在人类染色体上的位置为4q24,其编码产物为分子量50 kDa的DNA结合蛋白,是调控炎症反应进程与癌症发生发展的关键调节因子[20]。Schmitt等人研究证实,Nfkbl以单倍体不足方式发挥作用,该表达降低削弱了肿瘤抑制效应,并且该效应与人类有着密不可分的联系,即人类肿瘤中NFKB1少见缺失或突变,但低表达较为普遍,这可能是正常人群变异或对特定致癌基因表达的继发反应[21]。综上可得,通过调控Nfkbl靶点发挥作用,能够显著增强对肿瘤的抑制效应。本研究通过分子对接实验证实,8TQD蛋白(即Nfkbl靶点的关键相关蛋白受体)与Quercetin的结合能为-6.8,处于较低水平。这体现了Quercetin与8TQD蛋白具备较强的结合亲和力,为Nfkbl靶点的靶向治疗提供了直接实验支撑。

TP53蛋白是由抑癌因子TP53所编码而成的,是细胞分裂和细胞死亡的主要调节因子之一,也是癌症形成的主要参与者。TP53蛋白参与DNA修复、衰老、细胞周期控制、自噬和细胞凋亡[22]。Zhong等人指出TP53是ESCC中最常见的突变基因,该基因存在于癌前病变和食管鳞癌的各个阶段,其中正常食管上皮中突变率为3%~35%,且随年龄的增长而升高,低中级别异型增生中为10%~40%,高级别异型增生或原位癌中为40%~75%,ESCC中为50%~90%,符合“二次打击”假说,即肿瘤抑制基因需双等位基因失活才会促进肿瘤发生,这表明了TP53基因在食管鳞癌的致癌、发生、发展、进展和迁移中起着至关重要的作用[23]。本研究证实了在食管鳞癌治疗领域中,药物与TP53基因的结合是调控疗效的关键环节,其通过干预TP53突变的相关通路(如恢复野生型p53功能、降解突变型p53),对改善治疗结局发挥着不可或缺的作用。将TP53基因相关蛋白——3DCY蛋白——与Quercetin进行分子对接,结果显示,二者结合能检测值为-7.9,显著低于其他对接组合的能量水平。基于分子对接中“结合能与结合能力负相关”的规律,该数据可推导得出两个核心结论:一是Quercetin与3DCY蛋白的结合能力较强,具备形成稳定复合物的基础;二是相较于其他实验组,Quercetin与该蛋白发生相互作用的概率更高。

在上述网络药理学及分子对接对白花蛇舌草总黄酮与食管鳞癌作用机制分析的基础上,本研究还通过体外细胞实验来验证这一结果,CCK-8结果显示白花蛇舌草总黄酮对食管鳞癌细胞的增殖具有剂量依赖性的抑制效果,验证了二者能够产生具有实际意义的实质性成效,为上述网络药理学与分子对接结果提供实验支撑。

综上所述,本研究通过网络药理学结合分子对接技术,初步阐明了白花蛇舌草总黄酮抗食管鳞癌的关键靶点及重要通路,且该结果已通过体外细胞实验得到验证。结果显示,白花蛇舌草总黄酮中的关键成分Quercetin可能通过调控NFKB1与TP53等核心靶点——前者抑制癌症进展,后者阻断食管鳞癌细胞增殖——进而对食管鳞癌产生拮抗作用,为后续白花蛇舌草总黄酮的临床应用奠定理论基础。然而,本文借助网络药理学与分子对接技术筛选出的核心通路,尚未通过体内外实验予以验证。由于网络药理学分析是基于公共数据库中已有的数据进行整合与预测,其结果不可避免会受到数据覆盖等因素的影响;而分子对接模拟仅能反映配体与靶点在静态构象下的结合模式,与生物体内复杂的动态微环境存在一定差异。因此,筛选得到的潜在通路可能存在偶然性关联,其真实的生物学功能及调控机制有待后续实验

研究，并进一步验证与阐明。基于此，课题组后续研究将重点围绕两大方向展开：一是设计针对性实验，对已筛选出的具体通路进行系统性论证，以进一步阐明其准确性和可靠性；二是深入探究白花蛇舌草总黄酮在动物体内的作用机制，填补当前体内研究数据的空白，进一步完善该活性成分抗肿瘤机制的研究。

## 基金项目

珠海科技学院 2024 年大学生创新创业训练计划项目(DC2024073)。

## 参考文献

- [1] 李科汛. 胸段食管鳞癌淋巴结清扫强度与预后的相关性研究[D]: [硕士学位论文]. 成都: 电子科技大学, 2023.
- [2] 刘欣. 基于液体活检的 cfDNA 甲基化在食管癌早期诊断的临床应用价值分析[D]: [硕士学位论文]. 长春: 吉林大学, 2024.
- [3] 李昌顶. 70 岁以上食管鳞癌治疗效果及预后因素比较研究[D]: [硕士学位论文]. 泸州: 西南医科大学, 2024.
- [4] 陈令媛. 健脾消膈方联合 TP 方案化疗治疗中晚期食管鳞癌的临床研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京中医药大学, 2022.
- [5] 蒋雷. 中老年患者肠道微生态与食管鳞癌的关系[D]: [硕士学位论文]. 大连: 大连医科大学, 2021.
- [6] 潘冠华. NF- $\kappa$ B 促进食管鳞癌血管生长和食管癌细胞增殖、侵袭的研究[D]: [硕士学位论文]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2024.
- [7] Qian, K., Fu, D., Jiang, B., Wang, Y., Tian, F., Song, L., et al. (2021) Mechanism of *Hedyotis diffusa* in the Treatment of Cervical Cancer. *Frontiers in Pharmacology*, **12**, Article 808144. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.808144>
- [8] 秦凌峰. 白花蛇舌草化学成分及药理活性研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京协和医学院, 2024.
- [9] Zhang, R., Ma, C., Wei, Y., Wang, X., Jia, J., Li, J., et al. (2021) Isolation, Purification, Structural Characteristics, Pharmacological Activities, and Combined Action of *Hedyotis diffusa* Polysaccharides: A Review. *International Journal of Biological Macromolecules*, **183**, 119-131. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.139>
- [10] 王雪, 夏顺利, 刘景楠, 等. 白花蛇舌草总黄酮大孔树脂纯化工艺及其体内抑瘤作用的研究[J]. 中医药信息, 2021, 38(3): 16-21.
- [11] Huang, L., Xu, H., Wu, T. and Li, G. (2021) *Hedyotis diffusa* Willd. Suppresses Hepatocellular Carcinoma via Down-regulating Akt/mTOR Pathways. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2021**, Article ID: 5210152. <https://doi.org/10.1155/2021/5210152>
- [12] Wu, Z., Yin, B. and You, F. (2022) Molecular Mechanism of Anti-Colorectal Cancer Effect of *Hedyotis diffusa* Willd and Its Extracts. *Frontiers in Pharmacology*, **13**, Article 820474. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.820474>
- [13] 徐应怡, 汪子贵, 尚瑞鹏, 等. 纳米粒递送中药活性成分在癌症治疗中的应用研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2025, 44(7): 661-672.
- [14] Vinayak, M. and Maurya, A.K. (2019) Quercetin Loaded Nanoparticles in Targeting Cancer: Recent Development. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, **19**, 1560-1576. <https://doi.org/10.2174/187152061966190705150214>
- [15] 程旭, 谢智锋, 施向敏, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨槲皮素增敏乳腺癌治疗作用机制研究[J]. 现代药物与临床, 2025, 40(4): 845-853.
- [16] 胡永进, 李凤娥. 槲皮素调节 PD-1/PD-L1 信号通路对胃癌细胞免疫逃逸的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2025, 41(8): 1965-1969.
- [17] 韩惠杰, 刘辉, 赵永波, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨槲皮素通过 p53 信号通路抗结直肠癌的作用机制[J]. 山东科学, 2025, 38(1): 32-43.
- [18] Crombet Ramos, T., Santos Morales, O., Dy, G.K., León Monzón, K. and Lage Dávila, A. (2021) The Position of EGF Deprivation in the Management of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Frontiers in Oncology*, **11**, Article 639745. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.639745>
- [19] Darmadi, D., Aminov, Z., Hjazi, A., Roopashree, R., Kazmi, S.W., Mustafa, Y.F., et al. (2024) Investigation of the Regulation of EGF Signaling by miRNAs, Delving into the Underlying Mechanism and Signaling Pathways in Cancer. *Experimental Cell Research*, **442**, Article ID: 114267. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2024.114267>
- [20] Luo, Y., Wang, D., Gong, T. and Zhu, J. (2016) An Updated Meta-Analysis of 37 Case-Control Studies on the Association between *NFKB1*-94ins/del ATTG Promoter Polymorphism and Cancer Susceptibility. *Oncotarget*, **7**, 58659-58670.

- <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10808>
- [21] Voce, D.J., Schmitt, A.M., Uppal, A., McNerney, M.E., Bernal, G.M., Cahill, K.E., *et al.* (2014) *NfkB1* Is a Haploinsufficient DNA Damage-Specific Tumor Suppressor. *Oncogene*, **34**, 2807-2813. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.211>
- [22] Voskarides, K. and Giannopoulou, N. (2023) The Role of TP53 in Adaptation and Evolution. *Cells*, **12**, Article 512. <https://doi.org/10.3390/cells12030512>
- [23] Zhong, L., Li, H., Chang, W., Ao, Y., Wen, Z. and Chen, Y. (2023) TP53 Mutations in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, **28**, Article 219. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2809219>