

天然冰片对宫颈癌细胞生物学行为的调控及机制研究

李振豪¹, 黎灵¹, 刘婉榆¹, 王楠^{1,2*}¹嘉应学院生命科学学院; ²广东省山区特色农业资源保护与精准利用重点实验室, 梅州 514015

摘要: 本文旨在研究天然冰片(natural borneol, NB)对宫颈癌细胞增殖、凋亡及细胞迁移的影响及其作用机制。运用倒置显微镜观察记录细胞的表型变化,发现NB可显著改变SiHa与HeLa细胞的形态,使细胞变圆,胞间连接变松散;采用CCK-8法和集落形成实验发现NB处理SiHa与HeLa细胞明显抑制细胞增殖;流式细胞检测结果表明,NB处理组能显著诱导细胞凋亡,且呈现剂量依赖性;Transwell实验和划痕实验表明,NB能抑制SiHa与HeLa细胞的侵袭与迁移能力;蛋白免疫印迹结果表明,NB处理后下调Bcl-2、缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、Erk1/2、Snail与N-cadherin蛋白表达,同时上调p-Erk1/2蛋白表达;mRNA测序结合信号通路富集结果显示NB的作用机制涉及MAPK、细胞凋亡等相关的信号通路。综上,NB可能通过影响MAPK、HIF-1 α 信号通路抑制宫颈癌细胞增殖和迁移,诱导细胞凋亡。

关键词: 天然冰片; 宫颈癌; 细胞增殖; 细胞凋亡; 细胞迁移

中图分类号: S324

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)7-1191-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.7.011

Regulation effect and mechanism of natural borneol on biological behavior of cervical cancer cells

LI Zhen-hao¹, LI Ling¹, LIU Wan-yu¹, WANG Nan^{1,2*}

¹School of Life Science, Jiaying University; ²Guangdong Provincial Key Laboratory of Conservation and Precision Utilization of Characteristic Agricultural Resources in Mountainous Areas, Meizhou 514015, China

Abstract: The purpose of this study was to investigate the effect and the mechanism of natural borneol (NB) on the proliferation, apoptosis and migration of cervical cancer cells. The phenotypic changes of cells were observed and recorded by inverted microscope, and found NB could significantly alter the morphology of SiHa and HeLa cells, which causing the cells turn to round and loose the intercellular connection. CCK-8 assay and colony formation assay showed that NB significantly inhibited SiHa and HeLa cells proliferation and colony formation. Flow cytometry results showed that NB induced cell apoptosis in a dose-dependent manner. Transwell and scratch assay showed that NB could inhibit the invasion and migration of SiHa and HeLa cells. Western blot results demonstrated that NB downregulated the expression of Bcl-2, hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), Erk1/2, Snail as well as N-cadherin, and upregulated the expression of p-Erk1/2. mRNA sequencing combined with signal pathway enrichment results showed that the mechanism of NB mainly involved in MAPK signaling pathway and cell apoptosis. In conclusion, NB may inhibit the proliferation and migration of cervical cancer cells, induce cell apoptosis through MAPK and HIF-1 α signaling pathway.

Key words: natural borneol; cervical cancer; cell proliferation; apoptosis; cell migration

宫颈癌在女性癌症发病率中居于第2位^[1],全世界总发病人数有90%以上出现在发展中国家,其中我国每年新发病例约占三成,且具有年轻化趋

势^[2]。由于其发病隐匿,病程早期不易察觉,随着病变不断发展,晚期患者出现贫血、恶病质等全身衰竭症状,严重影响患者的总体生活质量。目前的治疗手段尚存在机体免疫功能降低,术后并发症,甚至死亡等弊端^[3]。近年来,中医药通过扶正祛邪、增强免疫力等功效被用于宫颈癌的治疗^[4],但其发挥作用的具体机制尚不清楚。

收稿日期: 2023-10-16 接受日期: 2024-02-29

基金项目: 广东省科技创新战略专项(20230104); 广东省高校科研项目(021KTS CX126); 广东大学生科技创新培育专项(pdjh2020a0547)

* 通信作者 Tel: 86-753-2186624; E-mail: wangnan@jyu.edu.cn

天然冰片(natural borneol, NB)又称天然龙脑,是一种重要的传统中药单体,研究发现天然冰片具有杀灭细菌^[5]、镇痛消炎^[6,7]的功效,且其作为抗癌药物的增敏剂和促进药物在各种生理屏障中的传递有显著的作用^[8,9]。有研究表明,天然冰片的抗炎机制是通过与抑制丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和核转录因子- κ B(NF- κ B)通路的活化、激活核因子E2相关因子(Nrf2)蛋白、降低相关炎症因子一氧化氮(NO)的表达水平有关^[10]。同时,天然冰片还能够降低脂多糖诱导的RAW264.7巨噬细胞中NO、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)等炎症因子的水平,并能够降低脂多糖诱导的内毒性发热的高体温^[11]。天然冰片还能作为化疗增敏剂,通过激活与触发活性氧(ROS)介导增强胶质瘤细胞和肝癌细胞对药物的敏感性,增强药物的抗癌作用^[12,13]。然而,天然冰片是否影响宫颈癌细胞的生物学行为,目前少有研究报道。

本研究先从体外水平实验,初步探究天然冰片对宫颈癌细胞的增殖、凋亡及迁移的影响,结合转录组测序进一步分析天然冰片调控宫颈癌生物学行为的机制,为天然冰片与化疗药物联合应用治疗宫颈癌的临床前研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人宫颈癌细胞株 SiHa、HeLa 购自广州速研生物科技有限公司,天然冰片(纯度 99.9%,广东华清园生物科技有限公司,批号:0210096);胎牛血清(天杭生物,批号:11011-8611);胰酶(Solarbio,批号:T1300);胰酶(不含 EDTA)(Gibco,批号:25200-056);青链霉素混合液(HyClone,批号:SV30010);RPMI1640 培养基(Gibco,批号:8122129);无血清 DMEM 培养液(Gibco,批号:2522727);Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒(四正柏生物技术有限公司,批号:C1062M);Cell Counting Kit-8(GLPBIO,批号:GK1001);PBS 缓冲液(HyClone,批号:SH30256.01);Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204)(Cell Signaling Technology,批号:9101);p44/42 MAPK (Erk1/2)(Cell Signaling Technology,批号:9102);Anti-alpha Tubulin(Abcam,批号7291);HIF-1 α (Proteintech,批号:20960-1-AP);Bcl-2(Cell Signaling Technology,批号:15071);Snail(Cell Signaling Technology,批号:3879T);N-cadherin(Cell Signaling Technology,批号:13116T);蛋白酶抑制剂

(康为世纪科技有限公司,批号:01392);HRP 标记的山羊抗兔 IgG(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:20000258);HRP 标记的山羊抗鼠 IgG(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:20000374)。

1.2 仪器与设备

Infinite M200 Pro 酶标仪(瑞士帝肯公司);Accuri C6 Plus 流式细胞仪(BD Biosciences);Chem-Doc XRS + 多功能凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司);DMIL LED 倒置荧光显微镜(德国徕卡公司);IC1000 自动细胞计数仪(艾力特生物科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养

将 SiHa 与 HeLa 细胞株培养于含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素的 DMEM 培养液中,在 5% CO₂, 37 °C 和一定湿度的培养箱中培养。定期观察,当细胞贴壁密度达 70% ~ 80% 时,使用 EDTA-胰蛋白酶消化液对细胞进行消化收集,传代及冻存。

1.3.2 药物配制

天然冰片用二甲基亚砜(DMSO)溶解配制成 0.50 g/mL 的母液,使用时用无血清 DMEM 培养液配制成 1 mg/mL 的工作液。

1.3.3 冰片对 SiHa 与 HeLa 细胞形态的影响

将对数生长期的 SiHa 与 HeLa 细胞计数并调整细胞浓度到 2×10^5 个/孔,接种于 6 孔板,细胞培养 24 h 贴壁后, SiHa 细胞六孔板分别换为 2 ml 终浓度为 0、0.40、0.45、0.50、0.55、0.60 mg/mL 的冰片培养液, HeLa 细胞六孔板分别换为 2 mL 终浓度为 0、0.50、0.55、0.60、0.65、0.70 mg/mL 的冰片培养液,药物作用 24 h 后,在倒置显微镜下观察对比实验组与对照组的细胞形态差异,并拍照记录。

1.3.4 CCK-8 实验

取对数生长期的细胞进行稀释,接种于 96 孔板中,每个孔 100 μ L(1 000 个细胞/孔)。每组设置 3 个复孔,并设置空白对照。待细胞贴壁后,换为天然冰片培养液(SiHa 实验组浓度为 0.35 mg/mL; HeLa 实验组浓度为 0.40 mg/mL),继续培养 6、12、18、24 和 30 h 后,每个孔加入含 10% CCK-8 的无血清 DMEM 培养液 100 μ L,于培养箱中培养 1 h,待颜色变为橙色后即可检测。酶标仪测其 450 nm 处 OD 值,实验重复三次。

1.3.5 细胞集落形成实验

将对数生长期的细胞调整浓度后接种于 6 孔板

(1 000 个细胞/孔),培养一周后加入天然冰片(浓度为0.40、0.60 mg/mL),继续培养一周后,用PBS洗涤2次,加入1 mL 4%多聚甲醛固定1 h,固定后加入0.1%结晶紫染色液室温染色2 h,PBS缓冲液洗净后晾干,采用多功能凝胶成像系统拍照,分析结果。

1.3.6 细胞凋亡检测

按照分组要求用不同浓度(0.40、0.60 mg/mL)的天然冰片培养液培养 SiHa 与 HeLa 细胞 24 h 后进行凋亡检测。用 PBS 洗涤两次消化后,加入 500 μ L Binding Buffer 后加入 Annexin V 5 μ L 避光 5 min,再加入 10 μ L PI,最后流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.3.7 细胞划痕实验

将细胞接种于六孔板中,待细胞贴壁 90% 后进行划痕拍照,记录划痕情况,再加入不同浓度(0.40、0.60 mg/mL)的天然冰片进行处理,24 h 后观察显微镜细胞愈合程度并拍照记录^[14]。

1.3.8 Transwell 实验

将对数生长期的细胞消化,用无血清的高糖 DMEM 重悬,调整细胞密度至 1×10^5 个/mL,取细胞悬液 300 μ L 于 Transwell 小室中,小室中实验组加入不同浓度(0.40、0.60 mg/mL)的天然冰片,小

室下层加入 500 μ L 含 30% 胎牛血清的 DMEM 培养基,细胞常规培养 24 h 后,迁移至滤膜下层的细胞用 4% 多聚甲醛固定 1 h,棉签轻拭去除未迁移的细胞,0.1% 结晶紫室温染色 30 min,PBS 缓冲液洗净晾干后,在显微镜下观察不同处理组细胞的侵袭情况并拍照记录^[15]。

1.3.9 Western blot 实验

加入终浓度为 0.60 mg/mL 的天然冰片培养液,24 h 后用 RIPA 法提取细胞总蛋白,SDS-PAGE 电泳,电泳后转至 PVDF 膜,封闭 2 h 后加入一抗孵育 12 h,最后用 HRP 的二抗孵育 2 h,多功能凝胶成像系统检测对照组与实验组 HIF-1 α 、Bcl-2、Erk1/2、Snail 和 N-cadherin 等蛋白的表达。

1.3.10 统计分析

采用 Graphpad Prism 7.0 软件对数据进行图表制作分析,实验数据采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间数据比较采用 *t* 检验和 One-way ANOVA 分析,实验独立重复 3 次, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 天然冰片对宫颈癌细胞形态的影响

与对照组(0 mg/mL)相比,不同浓度的天然冰片作用于 SiHa(见图 1A)和 HeLa(见图 1B)细胞 24 h 后,实验组多数细胞失去贴壁性,并出现褶皱。

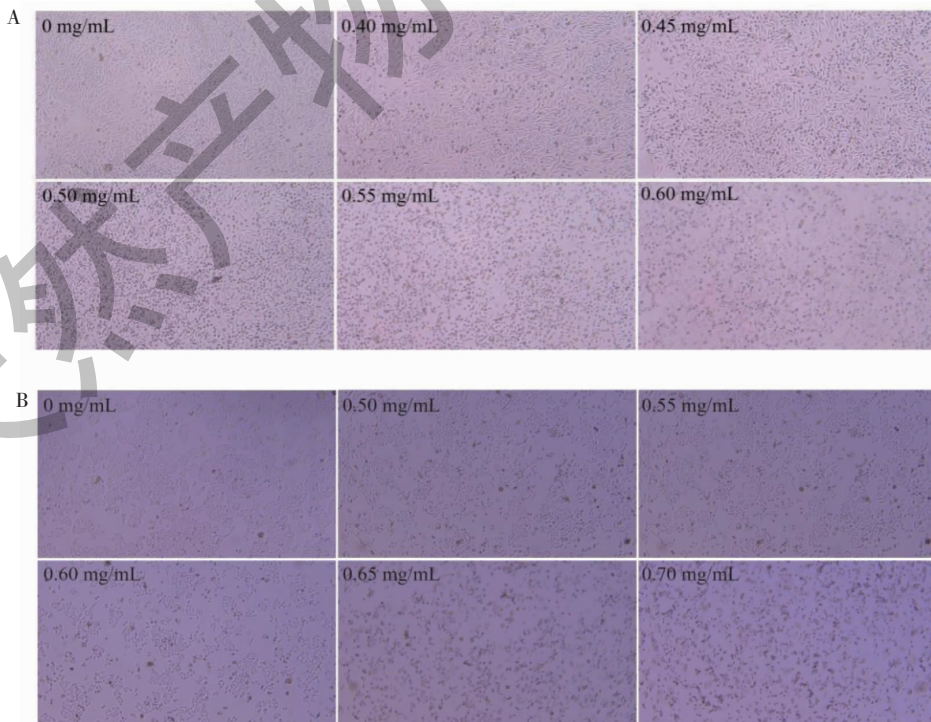


图 1 天然冰片对宫颈癌细胞形态学的影响

Fig. 1 Effect of NB on the cell morphology of cervical cancer cells

2.2 天然冰片对宫颈癌细胞增殖的影响

与对照组(0 mg/mL)相比,0.35 mg/mL天然冰片处理的 SiHa 细胞和0.40 mg/mL天然冰片处理的

HeLa 细胞增殖明显减缓(见图2),说明天然冰片可抑制宫颈癌细胞的增殖。

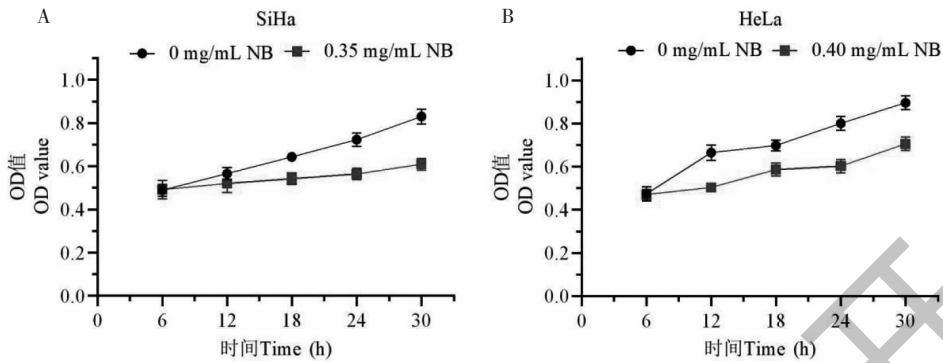


图2 天然冰片对宫颈癌细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Effect of NB on the proliferation of cervical cancer cells($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.3 天然冰片对抑制宫颈癌细胞集落形成的影响

与对照组(0 mg/mL)相比,不同浓度(0.40、0.

60 mg/mL)的天然冰片能抑制 SiHa 与 HeLa 细胞的集落形成(见图3)。

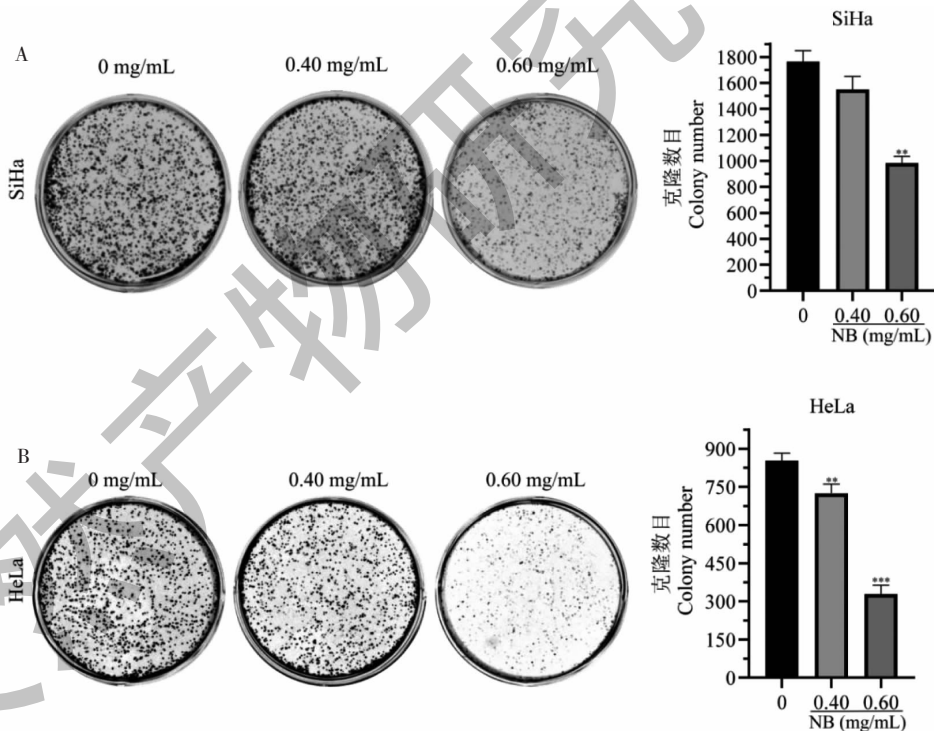


图3 天然冰片对宫颈癌细胞集落形成能力的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Effect of NB on colony formation of cervical cancer cells($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:与对照组(0 mg/mL)相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$,下同。Note:Compared with control(0 mg/mL),

* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$,the same below.

2.4 天然冰片对宫颈癌细胞凋亡的影响

Annexin V-FITC/PI 双染法结果显示,与对照组(0 mg/mL)相比,不同浓度(0.40、0.60 mg/mL)的

天然冰片处理 SiHa 和 HeLa 细胞 24 h 后均可诱导细胞凋亡,且随着天然冰片浓度的增加,细胞凋亡率增大(见图4)。

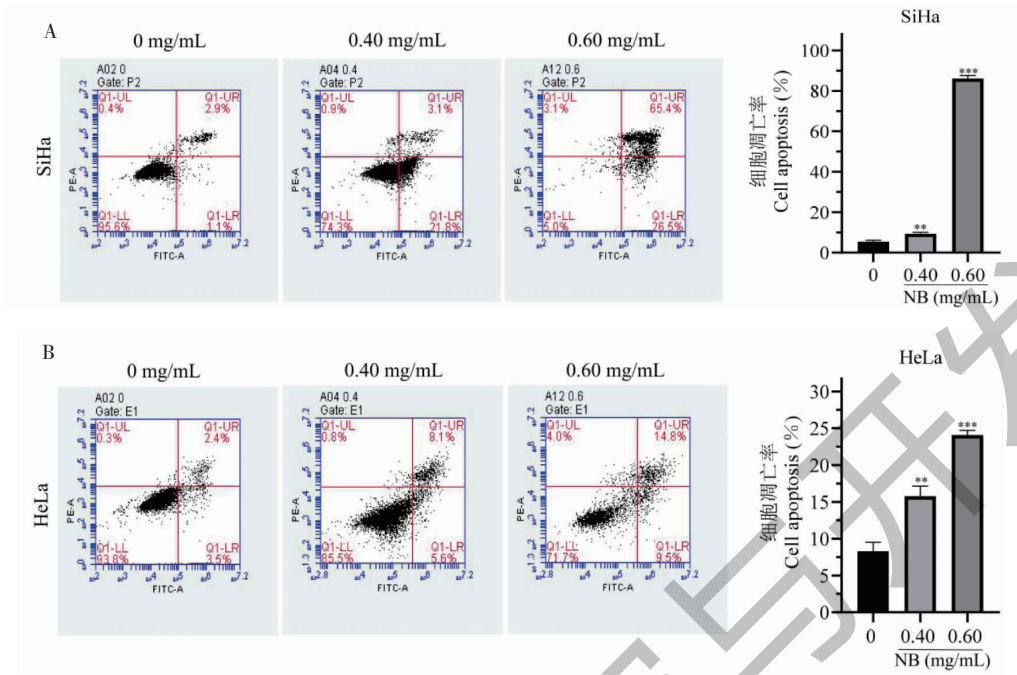


图4 天然冰片对宫颈癌细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of NB on apoptosis of cervical cancer cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.5 天然冰片对宫颈癌细胞迁移的影响

与对照组(0 mg/mL)相比,不同浓度(0.40、0.60 mg/mL)的天然冰片处理 SiHa 和 HeLa 细胞

后,划痕愈合率随天然冰片浓度增大而降低(见图5),说明天然冰片能够抑制细胞的迁移。

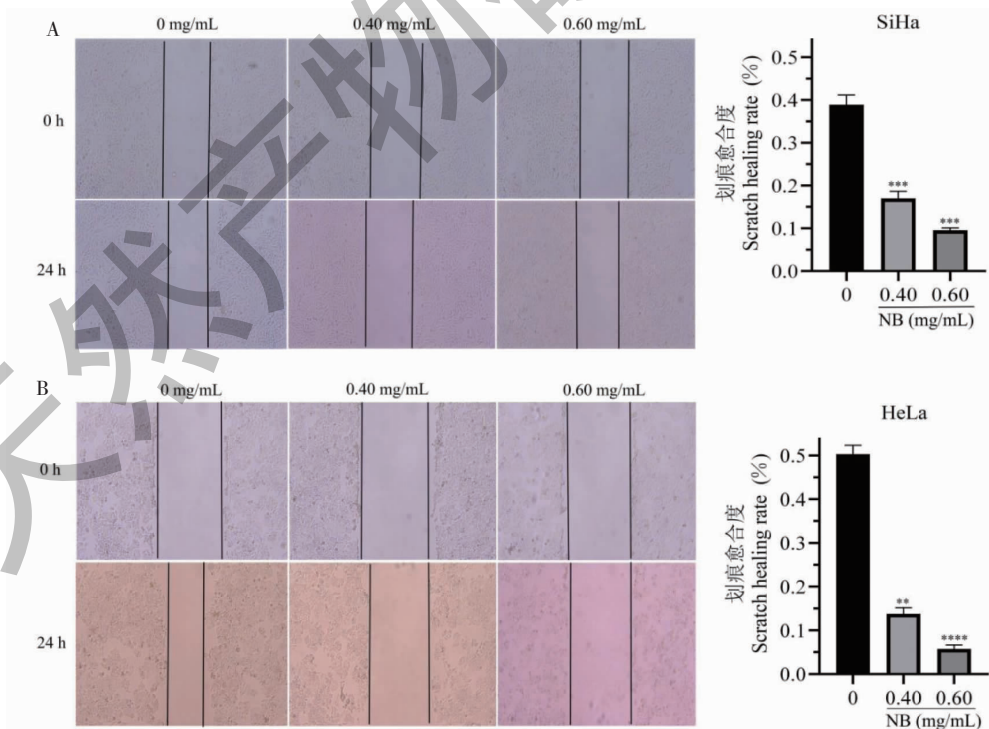


图5 天然冰片对 SiHa 和 HeLa 细胞迁移的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect of NB on the migration of cervical cancer cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.6 天然冰片对宫颈癌细胞侵袭能力的影响

与对照组 (0 mg/mL) 相比, 不同浓度 (0.40、0.60 mg/mL) 的天然冰片处理 SiHa 与 HeLa 细胞 24

h 后, 细胞侵袭数目随着天然冰片浓度的增大而下降 (见图 6), 说明天然冰片能够抑制细胞的侵袭能力。

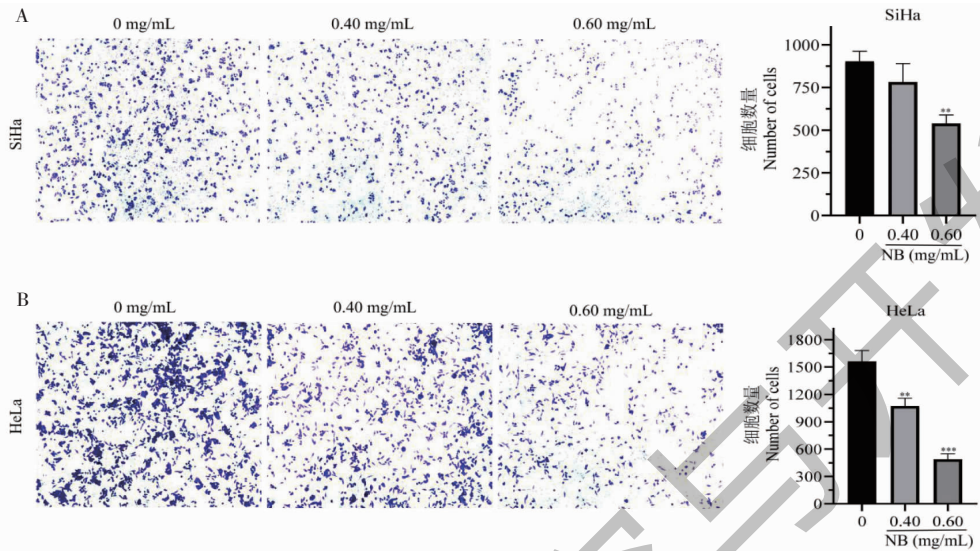


图 6 天然冰片对宫颈癌细胞侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effect of NB on the invasion of cervical cancer cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.7 天然冰片对宫颈癌细胞凋亡与迁移相关蛋白表达的影响

为了明确天然冰片对凋亡和迁移相关蛋白表达的影响, 用含 0.60 mg/mL 的天然冰片处理细胞 24 h 后, 用 Western blot 检测 HIF-1 α 、Bcl-2、Erk1/2、

Snail 和 N-cadherin 蛋白表达量的变化。和对照组 (0 mg/mL) 相比, 0.60 mg/mL 天然冰片能下调 HIF-1 α 、Bcl-2、Erk1/2、Snail 和 N-cadherin 蛋白表达 (见图 7), 提示天然冰片可能通过影响 Bcl-2 家族与 MAPK 信号通路促进宫颈癌细胞凋亡; 通过影响 N-

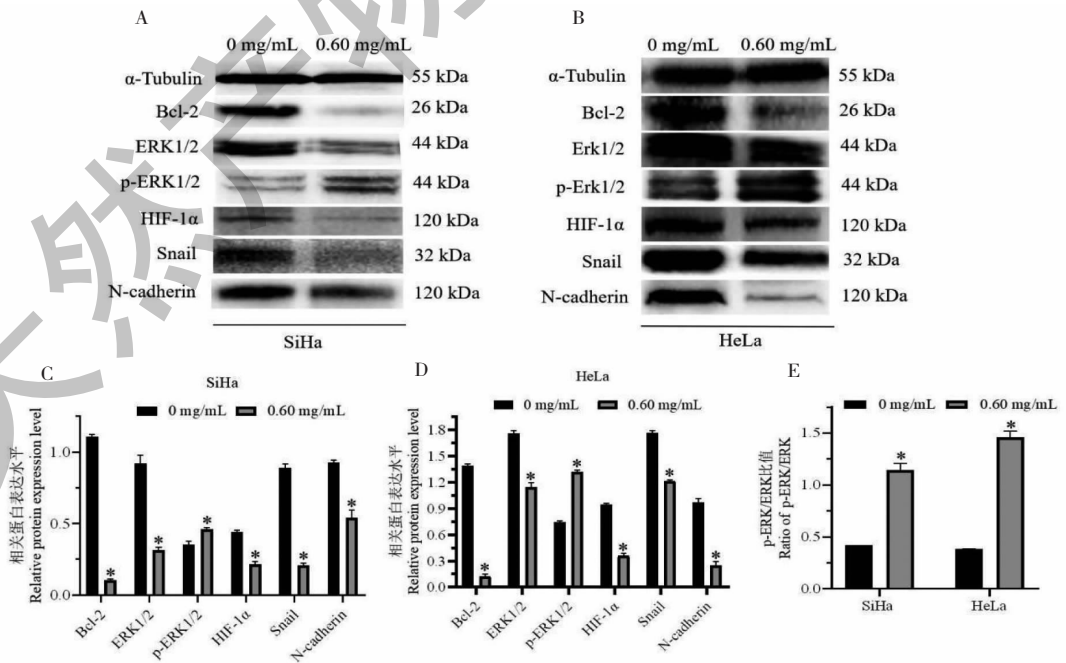


图 7 天然冰片对于凋亡与迁移相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Effect of NB on the expression of apoptosis and migration-related proteins ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

cadherin, Snail 等蛋白表达抑制宫颈癌细胞的迁移能力。

2.8 天然冰片处理宫颈癌细胞的通路富集分析

为进一步探索天然冰片影响宫颈癌细胞增殖、凋亡和迁移的分子机制,用天然冰片处理 SiHa (见图 8A) 和 HeLa (见图 8B) 细胞 24 h 后进行 mRNA

测序,结合 KEGG 通路富集分析发现,天然冰片对宫颈癌细胞的影响通路主要有 MAPK 信号通路、凋亡通路以及作用于细胞信号转导途径等(见图 8C、8D)。该结果提示天然冰片可能通过以上通路诱导细胞凋亡进而抑制细胞增殖。

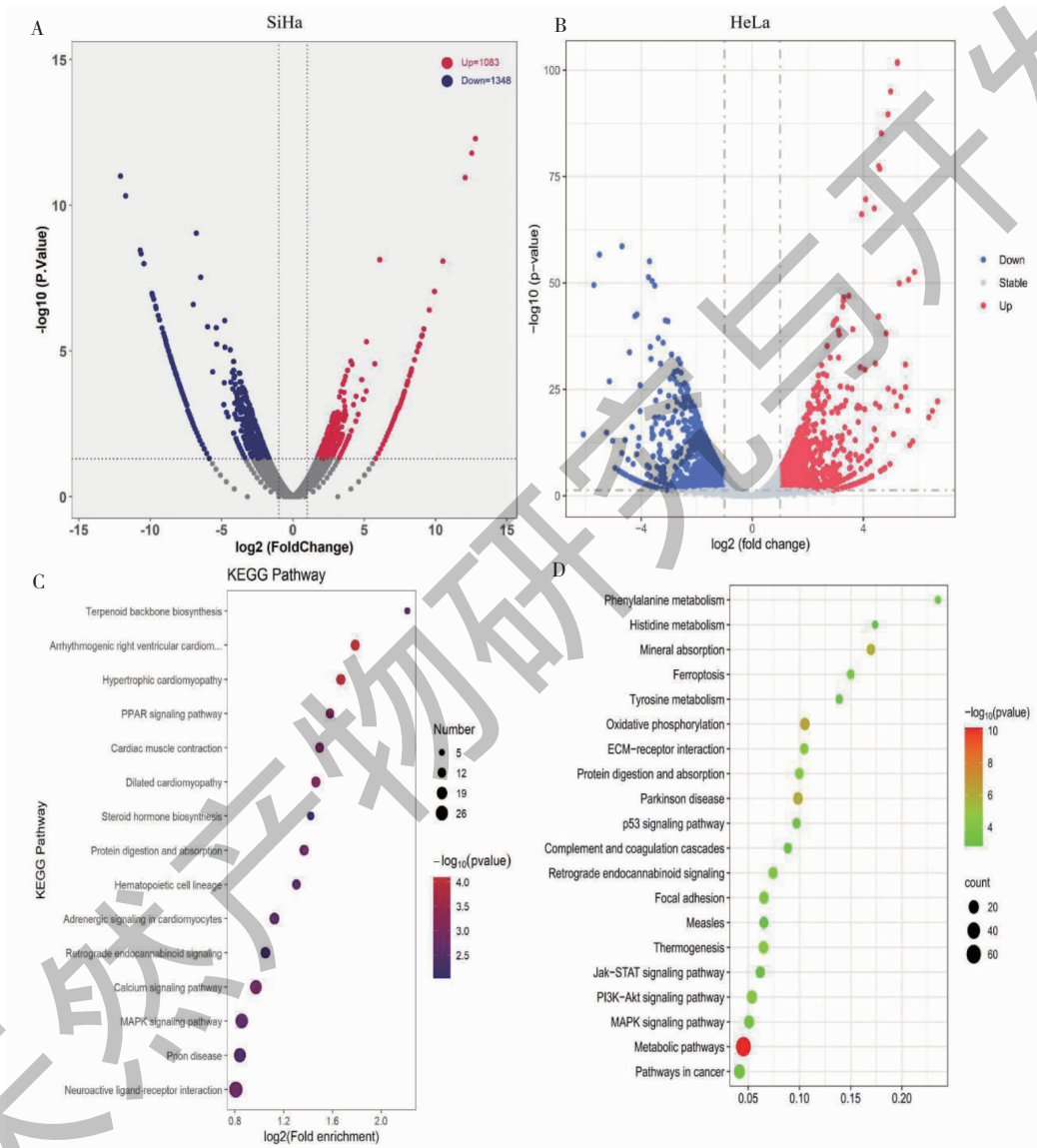


图 8 天然冰片处理宫颈癌细胞差异基因和 KEGG 通路富集分析

Fig. 8 Differential genes and KEGG pathway of NB treated cervical cancer cells

3 讨论与结论

近年来,中医药在抗病毒和抗肿瘤方面发挥的作用日益凸显,中医药通过祛瘀、补虚、解毒等基本方法,可以吞噬清除病毒、提高人体免疫力^[16]。中药通过药理多样性调节作用,能降低 HPV 的病毒载

量,使得 HPV 转阴性^[17]。有研究发现中药有效成分作为调节因子可影响肿瘤细胞自噬^[18]。MAPK 主要包括三个亚家族:细胞外调节蛋白激酶(ERK)、c-Jun 氨基末端激酶/应激活化蛋白激酶(JNK/SAPK)和 p38 丝裂原活化蛋白激酶

(p38MAPK),是真核细胞介导胞外信号进入细胞内应答的重要信号系统^[19]。MAPK 通路参与广泛的细胞功能,包括参与调控细胞增殖、分化、凋亡、代谢、炎症等^[20,21]。已有研究表明 MAPK 通路与卵巢癌、乳腺癌、肝癌、胃癌等多种恶性肿瘤的发生发展相关^[22]。ERK 通路是 MAPK 信号通路中的经典通路,细胞外信号逐步激活 ERK 之后,磷酸化 ERK 到达细胞核激活 c-Fos 等转录因子,从而在细胞生长、增殖、分化、形态维持等生物学行为方面起到调节作用^[20,23]。磷酸化 ERK 通过活化细胞凋亡蛋白抑制剂 IAPs 间接抑制 Caspase-3 活性,抑制宫颈癌细胞凋亡,进而促进宫颈癌的发展^[24]。

研究表明,天然冰片可通过抑制核转录因子 NF- κ B 抑制肿瘤增殖侵袭。除了调节 P-gp 影响血脑屏障外,同时也可能与多种正常或疾病状态相关联,如免疫障碍、炎症、肿瘤等^[25]。NF- κ B 被激活可能会导致弥散性胶质瘤的扩散和转移。实验表明,喹唑啉(quinazoline, QNZ)作为 NF- κ B 的抑制剂,抑制 NF- κ B 激活和 TNF- α 产生,并可明显抑制层粘连蛋白诱导的轴突生长,具有可抑制体外胶质瘤细胞增殖侵袭、及促进其细胞凋亡的作用^[26]。此外,本研究转录组测序结果显示,天然冰片处理后影响 SiHa 的生物学过程主要涉及神经活性配体-受体的相互作用、朊病毒病、MAPK 信号通路、心律失常性右心室心脏等,可以推测天然冰片有潜在的抗肿瘤作用。同时,用天然冰片处理 SiHa 与 HeLa 细胞后 Erk1/2 蛋白显著下调,提示天然冰片可通过影响 MAPK 级联调节通路起到抑制宫颈癌细胞的增殖和诱导宫颈癌细胞凋亡的作用。

本研究发现天然冰片能抑制锌指转录因子 Snail 与间质标志物 N-cadherin 的表达,提示天然冰片可抑制 SiHa 与 HeLa 细胞的间质转化,进而抑制肿瘤细胞的迁移,与 Ali 等研究结果一致^[26]。另外,天然冰片能够下调 HIF-1 α 的表达,HIF-1 α 的下调抑制癌基因并激活肿瘤抑制基因^[27]。Bcl-2 蛋白家族是一类通过改变线粒体外膜的通透性,参与线粒体凋亡途径,Bcl-2 蛋白家族在细胞凋亡中发挥重要作用^[28]。Bcl-2 可阻止线粒体细胞色素 c 的释放,改变线粒体膜电位变化,从而抑制细胞凋亡^[29]。本研究发现,天然冰片处理 HeLa 细胞后 Bcl-2 蛋白显著下调,这表明天然冰片可通过下调抗凋亡蛋白 Bcl-2,来促进细胞凋亡,从而起到抗癌作用。综上所述,本研究发现天然冰片存在抗肿瘤的潜在作用,

其作用机制可能与影响 MAPK 信号通路级联反应和下调 Bcl-2 蛋白抑制宫颈癌细胞的增殖和诱导细胞凋亡相关。该研究为开发宫颈癌病变的临床治疗药物提供了新的发现。

参考文献

- 1 Jimenez AMJ, Moulick A, Bhowmick S, et al. One-step detection of human papilloma viral infection using quantum dot-nucleotide interaction specificity [J]. *Talanta*, 2022, 242: 123172.
- 2 Murillo R, Ordóñez-Reyes C. Human papillomavirus (HPV) vaccination: from clinical studies to immunization programs [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2019, 29: 1317-1326.
- 3 Zuo P, Li XP. Current status of gene detection, targeted therapy and immunotherapy for gynecological malignant tumors [J]. *Chin J Clinicians (中国临床医师杂志)*, 2023, 51: 271-275.
- 4 Musunuru HB, et al. Advances in management of locally advanced cervical cancer [J]. *Indian J Med Res*, 2021, 154: 248-261.
- 5 Pan LL, Wu SH. Current research advances of borneol in plant resources and new product developments advances of borneol [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2014, 26: 166-175.
- 6 Xiao SS. The prediction and verification of anti-inflammation, analgesic, anti-blood stasis and anti-acne functions of borneol essential oil [D]. Wuxi: Jiangnan University (江南大学), 2021.
- 7 Wang S, Zhang D, Hu J, et al. A clinical and mechanistic study of topical borneol induced analgesia [J]. *EMBO Mol Med*, 2017, 9: 802-815.
- 8 He LH. Nanolization of borneol and its apoptosis-inducing ability and enhancement effects on Sorafenib's anticancer activity [D]. Guangzhou: Jinan University (暨南大学), 2019.
- 9 Kulkarni M, et al. Borneol: a promising monoterpenoid in enhancing drug delivery across various physiological barriers [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2021, 22: 145.
- 10 Sun SP, Du YY, Suo XG, et al. Effect of borneol on lipopolysaccharide-induced RAW264. 7 macrophage inflammation model [J]. *J Tonghua Norm Univ (通化师范学院学报)*, 2019, 40: 61-68.
- 11 Zou L, Zhang Y, Li W, et al. Comparison of chemical profiles, anti-inflammatory activity, and UPLC-Q-TOF/MS-based metabolomics in endotoxic fever rats between synthetic borneol and natural borneol [J]. *Molecules*, 2017, 22: 1446.
- 12 Cao W, Li Y, Hou Y, et al. Enhanced anticancer efficiency of doxorubicin against human glioma by natural borneol through

- triggering ROS-mediated signal [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118:109261.
- 13 Su J, Lai H, Chen J, et al. Natural borneol, a monoterpenoid compound, potentiates selenocystine-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells by enhancement of cellular uptake and activation of ROS-mediated DNA damage [J]. *PLoS One*, 2017, 8: e63502.
- 14 Wang F, Hu Q, Feng Y, et al. Hypoaconitine regulates proliferation, migration, invasion and immune escape of gastric cancer cells through cGAS/STING pathway [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 2023, 39: 2178-2183.
- 15 Xu L, Lu X, Li T, et al. Effects of dehydrocostus lactone on proliferation, metastasis and invasion of laryngeal carcinoma cells via PI3K/Akt pathway [J]. *J Med Res* (医学研究杂志), 2023, 52: 108-112.
- 16 Wu LB. Research progress of traditional Chinese medicine and its monomer in treating cervical cancer infected by human papilloma virus [J]. *Mod J Integr Tradit Chin Western Med* (现代中西医结合杂志), 2020, 29: 1593-1595.
- 17 Chen ST, Hua BJ. Research progress of traditional Chinese medicine in prevention and treatment of human papilloma virus infection of cervical cancer [J]. *Jilin J Chin Med* (吉林中医药), 2020, 40: 275-277.
- 18 Zhao Q, Huang W, Peng C, et al. Research progress on the regulation of autophagy by the active components of traditional Chinese medicine to prevent and cure cancer [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm* (中华中医药杂志), 2021, 36: 663-666.
- 19 Park JI, Choi HS, Jeong JS, et al. Involvement of p38 kinase in hydroxyurea-induced differentiation of K562 cells [J]. *Cell Growth Differ*, 2001, 12: 481-486.
- 20 Dhillon AS, et al. MAP kinase signalling pathways in cancer [J]. *Oncogene*, 2007, 26: 3279-3290.
- 21 Zhang LN, Zhang DD, Zhao L, et al. Effects of fusion between breast cancer cells and macrophages on PI3K/AKT and MAPK/ERK signaling pathways [J]. *J Biol* (生物学杂志), 2021, 38: 25-30.
- 22 Burotto M, et al. The MAPK pathway across different malignancies: a new perspective [J]. *Cancer*, 2014, 120: 3446-3456.
- 23 Plotnikov A, Zehorai E, Procaccia S, et al. The MAPK cascades: signaling components, nuclear roles and mechanisms of nuclear translocation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813: 1619-1633.
- 24 Iva P, Ivana G, Robert D. Carvacrol induces cytotoxicity in human cervical cancer cells but causes cisplatin resistance: involvement of MEK-ERK activation [J]. *Phytother Res*, 2018, 32: 1090-1097.
- 25 Bertrand MJ, Milutinovic S, Dickson KM, et al. cIAP1 and cIAP2 facilitate cancer cell survival by functioning as E3 ligases that promote RIP1 ubiquitination [J]. *Mol Cell*, 2008, 30: 689-700.
- 26 Liu C, Xu YJ, Cao L, et al. The effects of NF- κ B inhibitor QNZ on the biological function of human glioma cell [J]. *J Mod Oncol* (现代肿瘤医学), 2018, 26: 664-667.
- 27 Zhang Y, Cheng Y, Zhang Z, et al. CDCA2 inhibits apoptosis and promotes cell proliferation in prostate cancer and is directly regulated by HIF-1 α pathway [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 725.
- 28 Wang Y, Wang C, Liu N, et al. HOXC6 promotes cervical cancer progression via regulation of Bcl-2 [J]. *FASEB J*, 2019, 33: 3901-3911.
- 29 Turpin J, Frumence E, Despres P, et al. The ZIKA virus delays cell death through the anti-apoptotic Bcl-2 family proteins [J]. *Cells*, 2019, 8: 1338.