

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2025.81029

# 甘草黄酮 A 通过 LncRNA-CDC42BPA-AMPK/mTOR 轴抑制肿瘤生长的机制研究

施 展<sup>1</sup> 姚美村<sup>2</sup> 石贤勇<sup>1</sup> 谭攀攀<sup>1</sup>

(1. 濮阳医学高等专科学校, 河南 濮阳 457000; 2. 中山大学药学院(深圳校区), 广东 深圳 518000)

**摘要:** [目的] 探讨甘草黄酮 A (licochalcone A) 通过长链非编码 RNA (LncRNA) 调控 AMPK/mTOR 信号轴抑制结直肠癌生长的分子机制。[方法] 以人结直肠癌细胞 HCT116 及裸鼠皮下成瘤模型为研究对象, 采用 CCK-8、EdU 检测细胞增殖, 划痕试验、Transwell 评估细胞迁移特性, 运用 qPCR 技术检测增殖及迁移标志物表达水平, Western blotting 法分析 AMPK/mTOR 通路相关蛋白表达模式。通过 LncRNA 测序筛选甘草黄酮 A 处理后 HCT116 细胞中的差异表达 LncRNAs, 再通过 GO、KEGG 富集分析其功能。借助裸鼠成瘤试验验证甘草黄酮 A 体内抗肿瘤效果, 整合多数据库挖掘甘草黄酮 A 与结直肠癌作用靶点, 构建蛋白质-蛋白质相互作用网络, 筛选核心靶点并进行 GO 功能注释与 KEGG 通路富集分析, 进一步通过上调 LncRNA-CDC42BPA 表达和 RNA pull-down 试验验证其功能和机制。[结果] 甘草黄酮 A 可呈剂量依赖性抑制 HCT116 细胞增殖, 抑制 DNA 合成和细胞迁移; 处理后共鉴定出 1 001 个差异 LncRNA (其中下调 556 个, 上调 445 个), GO/KEGG 分析显示富集于代谢及 AMPK/mTOR 通路。Western blotting 结果证实甘草黄酮 A 可激活 AMPK、抑制 mTOR。网络药理学筛选出 51 个交集靶点, PPI 网络显示 AKT1、CASP3 和 EGFR 为核心调控节点, 且 KEGG 再次确认 AMPK/mTOR 为关键通路。LncRNA-CDC42BPA 过表达可抑制 HCT116 细胞增殖和迁移, 其机制上通过与 PTBP1、FMR1 结合, 进而调控 AMPK/mTOR 信号通路。[结论] 甘草黄酮 A 可通过调控 LncRNA 介导的 AMPK/mTOR 信号轴, 抑制结直肠癌细胞增殖、迁移及体内肿瘤生长。

**关键词:** 甘草黄酮 A; 结直肠癌; 长链非编码 RNA; 网络药理学; AMPK/mTOR 信号轴; 抗肿瘤机制

## Mechanisms of licochalcone A in inhibiting tumor growth via LncRNA-CDC42BPA-AMPK/mTOR axis

SHI Zhan<sup>1</sup> YAO Meicun<sup>2</sup> SHI Xianyong<sup>1</sup> TAN Panpan<sup>1</sup>

(1. Puyang Medical College, Puyang, Henan 457000, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University (Shenzhen Campus), Shenzhen, Guangdong 518000, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the molecular mechanism by which licochalcone A inhibits colorectal cancer growth through regulation of the AMPK/mTOR signaling axis via long non-coding RNAs (LncRNAs). [Methods] Human colorectal cancer HCT116 cells and a nude mouse subcutaneous xenograft model were used. Cell proliferation was assessed by CCK-8 and EdU assays, and cell migration was evaluated by wound healing and Transwell assays. Quantitative PCR (qPCR) was employed to detect the expression levels of proliferation- and migration-related markers, and Western blotting was performed to analyze the expression of proteins related to the AMPK/mTOR pathway. Differentially expressed LncRNAs in HCT116 cells after licochalcone A treatment were identified by LncRNA sequencing, followed by Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses. The *in vivo* anti-tumor

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目 (编号: 23B350006)

通信作者: 施展 (1981—), 女, 濮阳医学高等专科学校讲师, 硕士。E-mail: shzh.wish@163.com

收稿日期: 2025-11-04 改回日期: 2026-02-12

引用格式: 施展, 姚美村, 石贤勇, 等. 甘草黄酮 A 通过 LncRNA-CDC42BPA-AMPK/mTOR 轴抑制肿瘤生长的机制研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(2): 139-151.

Citation: SHI Zhan, YAO Meicun, SHI Xianyong, et al. Mechanisms of licochalcone A in inhibiting tumor growth via LncRNA-CDC42BPA-AMPK/mTOR axis[J]. Food & Machinery, 2026, 42(2): 139-151.

effect of licochalcone A was validated using the nude mouse xenograft model. Multiple databases were integrated to identify potential targets of licochalcone A in colorectal cancer, and a protein-protein interaction (PPI) network was constructed to screen core targets, followed by GO functional annotation and KEGG pathway enrichment analysis. Furthermore, the function and mechanisms of LncRNA-CDC42BPA were verified by overexpression and RNA pull-down assays. **[Results]** Licochalcone A dose-dependently inhibited HCT116 cell proliferation, and suppressed DNA synthesis and cell migration. A total of 1 001 differentially expressed LncRNAs (556 downregulated and 445 upregulated) were identified after treatment, and GO/KEGG analyses showed enrichment in metabolic pathways and the AMPK/mTOR signaling pathway. Western blotting results confirmed that licochalcone A activated AMPK and inhibited mTOR. Network pharmacology identified 51 overlapping targets, and the PPI network indicated that AKT1, CASP3, and EGFR were core regulatory nodes. KEGG analysis further confirmed that the AMPK/mTOR pathway was a key pathway. Overexpression of LncRNA-CDC42BPA inhibited HCT116 cell proliferation and migration. Mechanistically, it regulated the AMPK/mTOR signaling pathway through binding to PTBP1 and FMR1. **[Conclusion]** Licochalcone A inhibits colorectal cancer cell proliferation, migration, and tumor growth *in vivo* by regulating the LncRNA-mediated AMPK/mTOR signaling axis.

**Keywords:** licochalcone A; colorectal cancer; long non-coding RNA; network pharmacology; AMPK/mTOR signaling axis; anti-tumor mechanism

恶性肿瘤是全球范围内严重威胁人类健康的重大疾病。据世界卫生组织 2023 年统计数据,全球每年新增病例约 2 000 万,死亡病例超 1 000 万,其中结直肠癌、肝癌等实体瘤的发病率仍呈持续上升趋势<sup>[1-3]</sup>。结直肠癌是全球发病率第三、致死率第二的恶性肿瘤,其高转移率与耐药性是临床治疗的主要挑战。尤其对于携带 *KRAS* 突变(约 40%~50%)或微卫星高度不稳定(microsatellite instability-high, MSI-H)亚型的患者对传统治疗响应有限,亟需新型干预策略<sup>[4-7]</sup>。天然产物因其多靶点调控特性与低毒性优势,已成为抗肿瘤药物研发的重要方向<sup>[8-10]</sup>。

甘草作为传统中药中的重要一员,其广泛的药理活性已得到现代科学研究的充分验证,包括显著的抗炎、抗氧化以及备受关注的抗肿瘤作用<sup>[11-15]</sup>。甘草黄酮 A 作为甘草的主要活性成分(异黄酮类化合物),对包括肝癌、乳腺癌在内的多种实体肿瘤具有显著的生长抑制作用,展现出成为新型抗癌药物的潜力<sup>[16-17]</sup>。Pan 等<sup>[18]</sup>揭示了甘草黄酮 A 可通过调节 miR-1270/ADAM9/Akt/NF- $\kappa$ B 信号轴,有效抑制结肠癌细胞的增殖和转移;Huang 等<sup>[19]</sup>研究表明,在乳腺癌中,甘草黄酮 A 可通过抑制 E-钙黏蛋白的表达及 MAPK 信号通路的激活,从而遏制癌细胞的迁移能力。然而,有关甘草黄酮 A 通过调控长链非编码 RNA(long non-coding RNA, LncRNA)这一关键分子层面发挥抗肿瘤作用的精细分子机制尚未见系统阐明。

LncRNA,通常定义为长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA 分子,已成为肿瘤生物学研究的前沿热点<sup>[20-22]</sup>。这类 RNA 能够通过 DNA、RNA 或蛋白质分子相互作用,在转录后的调控水平和表观遗传修饰水平发挥广泛的基因表达调控功能,深度参与肿瘤发生、发展、转移及耐药性产生的多个关键环节<sup>[23-25]</sup>。近年来,多项研究表明,LncRNA 为结直肠癌发生发展的关键调控因子,比如,

LncRNA-HMG 可通过抑制 p53 介导的铁死亡来激发结肠癌细胞产生化疗耐药性<sup>[26]</sup>;LncRNA-CCAT2 可通过调节 GNB2 表达,激活 ERK 和 Wnt 信号通路,促进结直肠癌的增殖和转移<sup>[27]</sup>。目前,有关甘草黄酮 A 作用于结直肠癌的 LncRNAs 调控网络研究尚未见报道。

研究拟以人结直肠癌细胞系 HCT116 及裸鼠皮下成瘤模型为对象,综合运用细胞生物学(CCK-8、EdU、划痕试验、Transwell)、分子生物学(qPCR、Western blotting)及 LncRNA 测序结合网络药理学,分析甘草黄酮 A 通过 LncRNAs 对结直肠癌的调控网络,进一步通过过表达上调 LncRNA-CDC42BPA 验证其功能及机制,旨在填补甘草黄酮 A 对结直肠癌 LncRNA 调控网络的研究空白,为结直肠癌的临床治疗提供新的分子靶点及理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂耗材

BALB/c 裸鼠:6 周龄,北京维通利华实验动物技术有限公司;

甘草黄酮 A:上海源叶生物科技有限公司;

HCT116 肠癌细胞系:实验室保藏;

总 RNA 提取试剂盒:天根生化科技(北京)有限公司;

反转录试剂盒、SYBR qPCR 试剂盒:南京诺唯赞生物科技股份有限公司;

qPCR 引物:北京擎科生物科技股份有限公司;

CCK-8 试剂盒、EdU 试剂盒、细胞小室、RIPA 裂解液、H&E 染色试剂盒、基质胶:上海碧云天生物技术有限公司;

GAPDH 抗体:上海雅酶生物医药科技有限公司;

AMPK 抗体、p-AMPK 抗体、mTOR 抗体、p-mTOR 抗体、PTBP1 抗体、FXR1 抗体、FMR1 抗体:武汉三鹰生物技术有限公司;

RNA pull-down 试剂盒:武汉金开瑞生物工程有限

公司。

## 1.2 仪器

微量分光光度计: NanoDrop 型, 赛默飞世尔科技公司;

控温离心机: Sorvall ST1 Plus 型, 赛默飞世尔科技公司;

全波长酶标仪: Multiskan Sky 型, 赛默飞世尔科技公司;

显微镜: CKX53 型, 奥林巴斯(中国)有限公司;

qPCR 仪: QuantStudio™5 型, 赛默飞世尔科技公司;

电泳仪: Mini Trans-Blot 型, 伯乐生命医学产品(上海)有限公司;

多功能成像仪: ChemiDoc MP 型, 伯乐生命医学产品(上海)有限公司。

## 1.3 数据库及软件

采用微生信在线平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>)、DAVID 数据库 (<https://david-d.ncifcrf.gov/>)、Genecards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、Incipedia 数据库 (<https://incipedia.org/>)、甘草黄酮 A 结合靶点预测数据库 PharmMapper (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)、PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)等。

## 1.4 引物列表

试验所用引物见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因名称	上游引物	下游引物
<i>Ki67</i>	TCGACCCTACAGAGTGCTCA	GTGGGGAGCAGAGGTTCTTC
<i>PCNA</i>	AACCTGCAGAGCATGGACTC	TCATTGCCGGCGCATTTTAG
<i>E-cadherin</i>	GCTGGACCGAGAGATTTCC	CAAAATCCAAGCCCGTGGTG
<i>Vimentin</i>	GGACCAGCTAACCAACGACA	AAGGTCAAGACGTGCCAGAG
<i>GAPDH</i>	GAGAAGGCTGGGGCTCATT	AGTGATGGCATGGACTGTGG
<i>LncRNA-CDC42BPA</i>	ATGCTGAAATTGAGGTTTCGCT	TCCTGGACAAGAGAAGCTGG

## 1.5 试验方法

1.5.1 HCT116 细胞培养 采用高糖 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清), 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱中培养, 待贴壁后, 用不同浓度的甘草黄酮 A (10, 20, 40 μmol/L) 处理细胞, 对照组加入等量 DMSO (终浓度为 0.05%)。

### 1.5.2 细胞增殖检测

(1) CCK-8 检测试验: HCT116 细胞以  $1 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板, 分别培养 24, 48, 72 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 继续孵育 2 h, 用酶标仪检测 450 nm 处 OD 值, 并绘制增殖曲线。

(2) EdU 检测试验: 将细胞以  $5 \times 10^4$  个/孔接种于 24 孔板, 用甘草黄酮 A 及其对照处理 48 h, 加入 EdU 试剂, 孵育 2 h; 用 4% 多聚甲醛固定 30 min, 0.5% Triton X-100 透化 15 min; 之后严格按照使用说明书进行荧光染色, 使用 Image J 软件计数 EdU 阳性细胞率。

(3) 增殖标志物检测: 将细胞以  $1 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板, 用甘草黄酮 A 及其对照处理 48 h, 使用总 RNA 提取试剂盒提取 RNA 后反转成 cDNA, 以 *GAPDH* 为内参, 检测增殖标志物 *PCNA* 和 *Ki67* 的表达量。

### 1.5.3 细胞迁移检测

(1) Transwell 迁移试验: 准备 Transwell 小室, 上室加入含不同浓度甘草黄酮 A 无血清 DMEM 培养基, 下室加入含 10% FBS 的 DMEM 培养基; 将细胞以  $5 \times 10^4$  个/孔接

种于上室, 培养 24 h; 取出小室, 用 4% 多聚甲醛固定 30 min, 0.1% 结晶紫染色 15 min; 用棉签擦去上室未穿膜的细胞, 显微镜拍照后计数穿膜细胞数。

(2) 细胞划痕试验: 取对数生长期的 HCT116 细胞, 以  $2 \times 10^5$  个细胞/孔接种于 6 孔板培养至细胞 100% 融合, 弃去旧培养基, 用无菌 PBS 缓冲液轻柔洗涤细胞 2 次以去除残留血清。使用 200 μL 枪头垂直于孔板底部快速划出直线划痕, 再次用 PBS 洗涤 2 次以清除脱落的细胞碎片。随后加入含不同浓度甘草黄酮 A 的 DMEM 培养基(含 10% 血清)继续培养细胞, 分别在 0 h 和 24 h 时, 在倒置显微镜下同一视野拍照记录划痕愈合情况, 并使用 Image J 软件计算划痕面积变化率。

(3) 迁移标志物检测: 将细胞以  $1 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板, 用甘草黄酮 A 及其对照处理 48 h, 使用总 RNA 提取试剂盒提取 RNA 后反转成 cDNA, 以 *GAPDH* 为内参, 检测迁移标志物 *E-cadherin* 和 *Vimentin* 的表达量。

1.5.4 裸鼠皮下成瘤试验 使用 6 周龄 BALB/c 裸鼠进行成瘤试验, 取对数生长期的 HCT116 细胞悬液与基质胶按体积比 1:1 于冰上混匀(终浓度为  $5 \times 10^6$  cells/100 μL), 于右腋后线皮进行注射, 根据剂量换算, 高剂量组甘草黄酮 A 用量为 40 mg/kg, 对照组使用相同体积的 0.05% DMSO。接种 4 周后, 完整剥离肿瘤组织, 称重并拍照。取组织按照说明书进行 H&E 染色和 Ki67 蛋白免疫组化

染色。

1.5.5 差异 LncRNA 分析 将处理后的细胞进行总 RNA 提取,使用试剂盒去除核糖体 RNA 并富集非编码转录本,有效捕获 LncRNA。构建链特异性文库,并通过 Illumina 平台进行双端测序。原始数据经过 FastQC 质量控制和 Trimmomatic 过滤后,使用 STAR 比对人类参考基因组 (GRCh38)。通过 StringTie 完成转录本组装,结合 GENCODE 数据库注释筛选 LncRNA,并通过 NONCODE 数据库对 LncRNA 进行验证。差异分析包含顺式调控分析 (co-location, 定位与 LncRNA 基因组位置邻近 100 kb 范围内的蛋白编码基因) 和反式调控分析 (co-expression, 基于表达相关性 Pearson  $|r| > 0.9$  筛选共表达 mRNA) 两类,差异靶基因通过 DAVID 工具进行 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析。

1.5.6 网络药理学分析

(1) 甘草黄酮 A 靶点收集:通过 PubChem 获取甘草黄酮 A 化学结构,上传至 PharmMapper (阈值:Fit Score  $\geq 0.7$ )、SwissTargetPrediction (物种:Homo sapiens) 预测潜在作用靶点。去除重复靶点,建立甘草黄酮 A 靶点库。

(2) 结直肠癌靶点收集:以“Colorectal Cancer”“Tumor Growth”“Neoplasm”为关键词,检索 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>) 数据库,收集肿瘤发生发展相关靶点,去重后建立结直肠癌靶点库。

(3) 交集靶点筛选与 PPI 网络构建:使用 Venny 2.1 在线工具绘制甘草黄酮 A 靶点与结直肠癌靶点的 Venn 图,获取两者交集靶点;将交集靶点导入 STRING 数据库,导出蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 数据;使用 Cytoscape 3.9.1 软件构建 PPI 网络,通过“Network Analyzer”插件计算网络拓扑参数,以 Degree 值排序筛选 Top 10 核心靶点,明确关键调控节点。

(4) GO 功能注释与 KEGG 通路富集分析:将交集靶点导入 DAVID 6.8 数据库,设置物种为“Homo sapiens”,进行 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析。

1.5.7 LncRNA 过表达 将适量质粒 DNA (2  $\mu\text{g}$ ) 与 Lipo2000 在无血清培养基中稀释后混匀,室温孵育 10 min,随后将复合物加至 6 孔板中培养的 HCT-116 细胞中;转染 6 h 后更换为新鲜含血清培养基,继续培养 48 h。

1.5.8 RNA pull down 试验 收集过表达 LncRNA-CDC42BPA 的 HCT116 细胞,使用 RNA pull-down 试剂盒提供的非变性裂解缓冲液提取总蛋白。将 RNA 探针与细胞裂解液于 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育 4 h,使 RNA 探针与互作蛋白结合。结合完毕,加入链霉亲和素包被的磁珠,继续孵育 2 h 以捕获 RNA-蛋白复合物。用洗涤缓冲液多次清洗磁珠,去除非特异性结合蛋白。最后,将磁珠煮沸洗脱结合蛋白,通过 Western blotting 检测 PTBP1、FXR、FMR1 的表达。

1.5.9 Western blotting 检测 收集处理后的 HCT116 细胞,加入 RIPA 裂解液,冰上裂解 30 min 后离心,收集上清,加入 SDS 变性处理液。取 20  $\mu\text{g}$  样品上样至 10% 分离胶进行电泳,130 V 恒压电泳至溴酚蓝迁移至胶底部。冰浴转膜后,用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h。按体积比 1:1 000 稀释一抗,4  $^{\circ}\text{C}$  过夜孵育,洗膜,加入 HRP 标记的二抗 (1:5 000),室温孵育 1 h 后显色,通过化学发光成像系统检测信号。

1.5.10 数据统计与分析 所有试验均至少重复 3 次 (生物学重复),单因素方差分析使用 one-way ANOVA,多重比较使用 Duncan 法。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。采用 GraphPad Prism 6.0 软件进行数据可视化处理,\*为  $P < 0.05$ ,\*\*为  $P < 0.01$ ,\*\*\*为  $P < 0.001$ 。

2 结果与分析

2.1 甘草黄酮 A 抑制肿瘤细胞 HCT-116 增殖

由图 1(a) 可知,随着培养时间的延长,空白组和 DMSO 组 OD<sub>450</sub> 值持续升高,而甘草黄酮 A 处理组的升高趋势明显放缓,且剂量越高,抑制效果越显著。72 h 时高剂量组 OD<sub>450</sub> 值较空白组降低 56.27%,充分证明其对细胞增殖的强抑制作用。由图 1(b) 可知,高剂量甘草黄酮 A 使 PCNA 和 Ki67 表达分别降低 52.31% 和 64.12%,二者的

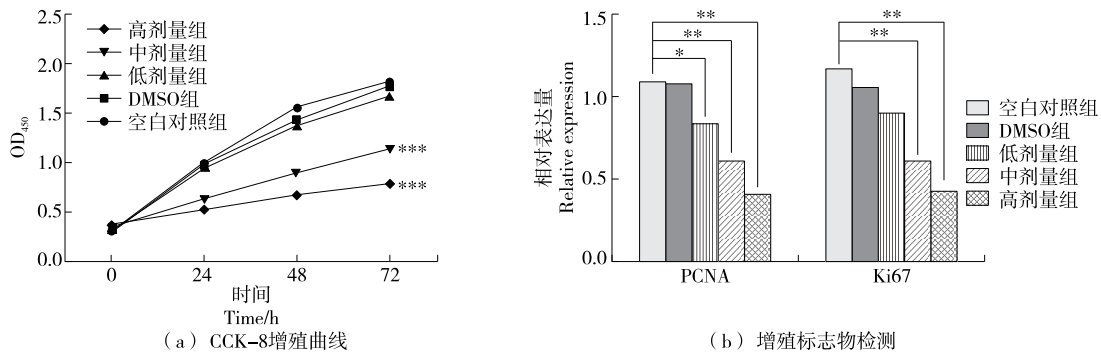


图 1 CCK-8 和 qPCR 试验检测甘草黄酮 A 对肿瘤细胞 HCT-116 增殖的影响

Figure 1 Effects of licochalcone A on the proliferation of HCT-116 tumor cells by CCK-8 and qPCR assays

显著下调进一步从分子层面证实甘草黄酮A对细胞增殖的抑制效应,与董煊成等<sup>[28]</sup>的研究结果相符。由图2可知,高剂量组EdU阳性率降至28.70%,表明甘草黄酮A可能通过抑制DNA复制相关酶的活性或破坏染色质稳定性,阻断细胞进入S期,与Qiu等<sup>[29]</sup>的研究结论一致。综合来看,甘草黄酮A可通过多层面调控细胞增殖关键过程,实现剂量依赖性的HCT-116细胞增殖抑制。

## 2.2 甘草黄酮A抑制肿瘤细胞HCT-116迁移

由图3(a)可知,高剂量组划痕愈合率较空白组降低

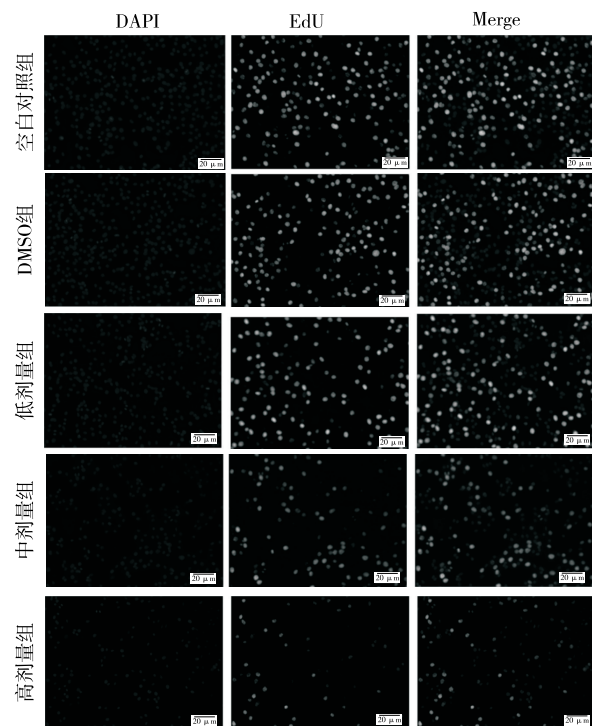


图2 EdU试验检测甘草黄酮A对肿瘤细胞HCT-116增殖的影响

Figure 2 Effects of licochalcone A on the proliferation of HCT-116 tumor cells by EdU assay

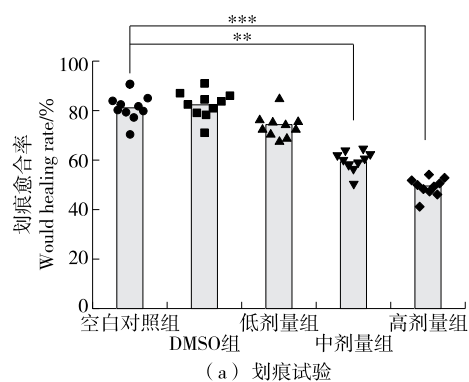


图3 划痕试验和qPCR试验检测甘草黄酮A对肿瘤细胞HCT-116迁移的影响

Figure 3 Effects of licochalcone A on the migration of HCT-116 tumor cells by scratch and qPCR assays

42.81%,且呈现明显剂量依赖性。甘草黄酮A上调上皮标志物 *E-cadherin* 并下调间质标志物 *Vimentin* 的表达 [图3(b)]。经甘草黄酮A处理后, *E-cadherin* 表达随剂量的增加而显著升高,高剂量组较空白组升高177.45% ( $P < 0.001$ ); *Vimentin* 表达随剂量的增加而显著降低,高剂量组为  $0.39 \pm 0.04$  ( $P < 0.01$ )。这与众多天然产物可通过调控EMT标志物发挥抗肿瘤转移作用的研究规律一致,进一步证实了EMT在肿瘤转移中的核心地位及甘草黄酮A对该过程的调控作用<sup>[10]</sup>。

如图4所示,高剂量组迁移细胞数较空白组减少76.27%,直观反映了甘草黄酮A对细胞迁移能力的强效抑制。结合EMT标志物的表达变化可以推断,甘草黄酮A可通过调控EMT相关基因表达,改变细胞表型,从而抑制细胞的迁移能力。

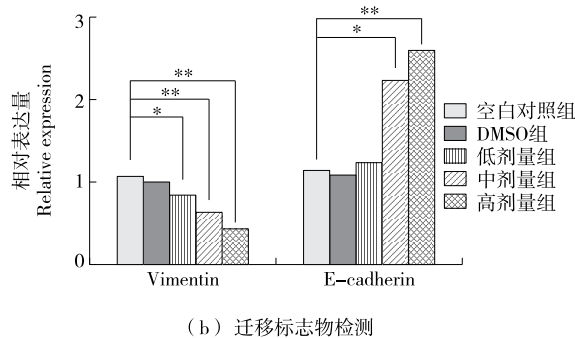
## 2.3 甘草黄酮A高剂量组对裸鼠皮下肿瘤生长的抑制作用

体内试验结果与体外细胞试验结果一致,证实了甘草黄酮A的体内抗肿瘤活性。与范晓丽等<sup>[30]</sup>的研究结果相比,试验进一步拓展了其抗肿瘤谱,证实其对结直肠癌也具有显著的体内抑制效果。

H&E染色结果[图5(a)]显示,与对照组相比,甘草黄酮A处理组肿瘤细胞排列紊乱、密度降低,细胞核异型性减轻,病理性核分裂象减少,且可见散在分布的凝固性坏死灶。免疫组化结果[图5(b)]显示,甘草黄酮A处理组Ki67阳性细胞数量显著减少、染色强度降低。核异型性是肿瘤细胞恶性程度的重要标志,其减轻表明甘草黄酮A可能降低肿瘤细胞的恶性表型;有丝分裂现象减少则直接对应了细胞增殖活性的降低,与体外qPCR和EdU检测结果形成完整的证据链。

## 2.4 甘草黄酮A处理后差异长链非编码RNA分析

由图6可知,LncRNAs的外显子数量主要集中在2~5个,长度集中在3 000~7 000 nt,而mRNA的外显子数量更多、长度更短。这一结构差异符合LncRNA的典型特



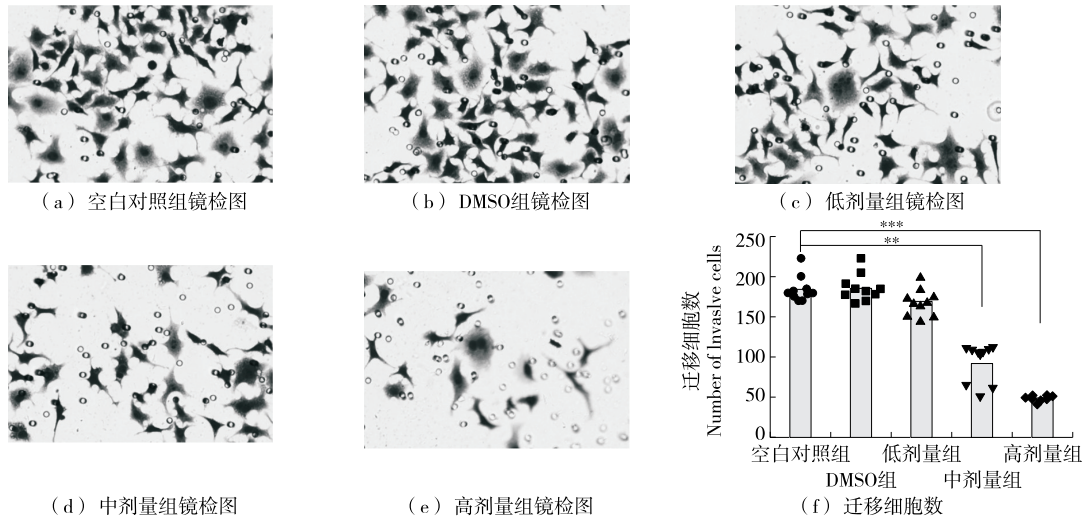


图 4 Transwell 迁移试验检测甘草黄酮 A 对肿瘤细胞 HCT-116 迁移的影响

Figure 4 Effects of licochalcone A on the migration of HCT-116 tumor cells by Transwell assay

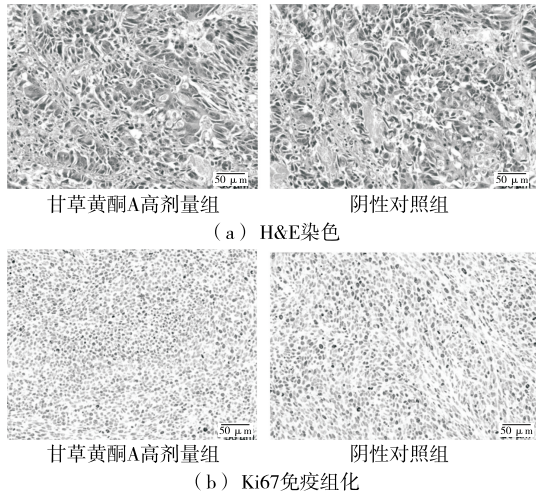


图 5 甘草黄酮 A 高剂量组显著抑制裸鼠皮下肿瘤生长  
Figure 5 High-dose licochalcone A group significantly inhibited subcutaneous tumor growth in nude mice

征(外显子数量少、转录本长度较长)<sup>[24]</sup>。

以  $|\log_2 \text{Fold Change}| \geq 1.3$  且  $P < 0.05$  为阈值,共筛选出 1 001 个显著差异 lncRNA,其中下调 556 个、上调 445 个,无显著差异的共 34 476 个。对照组与甘草黄酮 A 处理组的 lncRNA 表达谱完全分离,表明其表达模式具有明显的组间特异性和组内一致性。

### 2.5 差异长链非编码 RNA 的 KEGG 分析与 GO 分析

研究通过 GO 功能富集与 KEGG 通路富集分析,系统阐明差异表达 lncRNA 顺式(cis-)与反式(trans-)调控靶 mRNA 的潜在生物学功能与相关通路。GO 分析显示,顺式调控靶基因[图 7(a)]在生物过程中主要富集于染色质

重塑、DNA 模板化转录的正向调控、RNA 聚合酶 II 介导的转录、细胞分裂与 DNA 修复等过程;在细胞组分中主要富集于细胞核、核质、细胞质溶胶与线粒体等结构;在分子功能上则显著富集于蛋白质结合、DNA 结合、RNA 结合及锌离子结合等功能。反式调控靶基因[图 7(c)]则在生物过程中主要涉及 RNA 聚合酶 II 介导的转录、神经系统发育、细胞黏附、信号转导与细胞迁移等;在细胞组分中主要分布于细胞质、细胞膜、细胞骨架、高尔基体与内质网等部位;在分子功能上富集于蛋白质结合、钙离子结合、序列特异性 DNA 结合、RNA 结合等。KEGG 通路分析表明,顺式调控靶基因[图 7(b)]显著富集于代谢通路、细胞周期、内质网中的蛋白质加工、自噬、AMPK 信号通路、mTOR 信号通路、阿尔茨海默病与产热等通路;反式调控靶基因[图 5(c)]除代谢通路外,亦显著富集于 MAPK 信号通路、癌症相关通路、细胞骨架相关通路、黏着斑、钙信号通路、PI3K-Akt 与 mTOR 信号通路等。综上所述,顺式调控更集中于转录调控、染色质重构与基础代谢过程,反式调控则更广泛参与信号转导、细胞黏附迁移、癌症通路与神经系统发育等复杂生物学过程,而两者均显著富集于代谢通路,提示 lncRNA 可通过不同调控模式共同参与细胞代谢重编程。

### 2.6 甘草黄酮 A 抗结直肠癌的网络药理学分析

甘草黄酮 A 的 SMILES 为 CC(C)(C=C)C1=CC(C=C(C(C=C1)/C=C/C(=O)C2=CC=C(C=C2)O)OC)O, 3D 分子构象如图 8(a)所示。通过 PharmMapper 数据库预测,共有 74 个靶点  $\text{Fit Score} \geq 0.7$ ;SwissTargetPrediction 数据库共获取 100 个靶点。去除重复靶点后,共获得 171 个作为甘草黄酮 A 候选靶点库。将结直肠癌靶点 1 714 个(其中 DisGeNET 获取 987 个、Genecards 共 791 个)记为候选靶

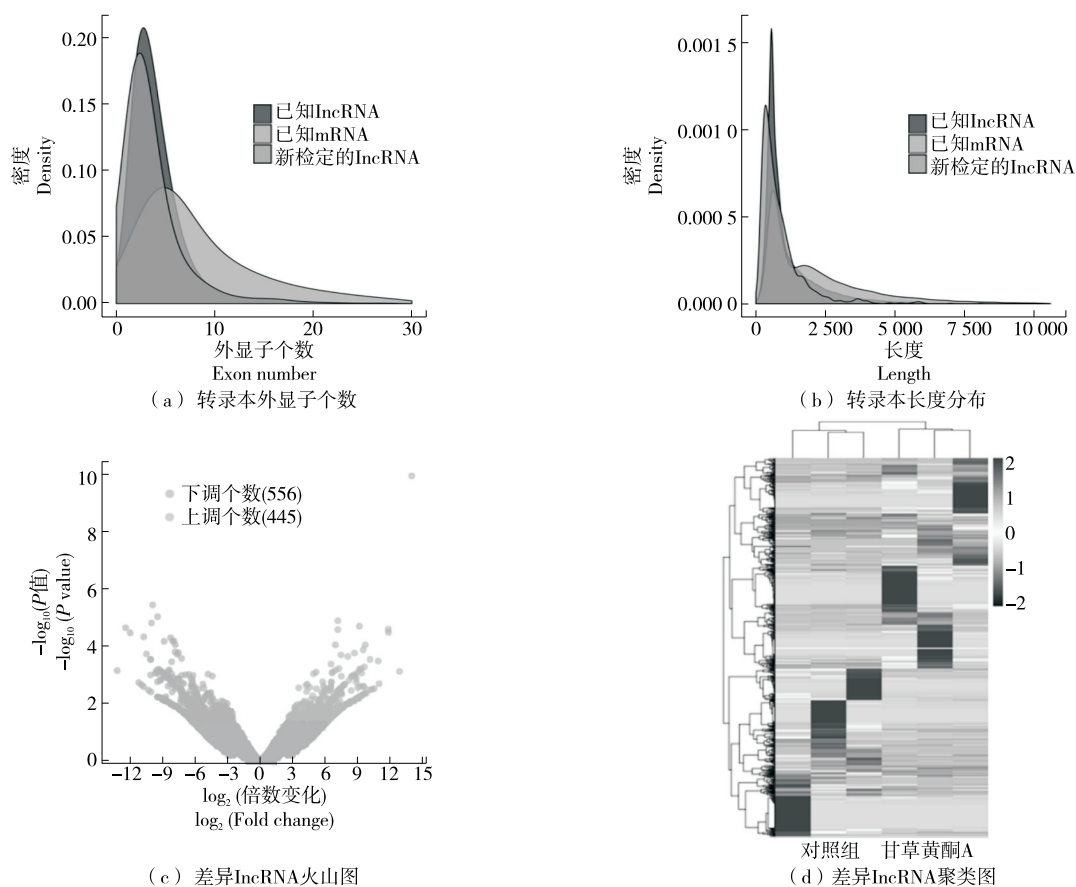


图6 甘草黄酮A处理后差异长链非编码RNA分析

Figure 6 Differentially expressed LncRNA analysis after licochalcone A treatment

点库。将二者进行分析,共获得交叉靶点51个[图8(b)]。

由图9可知,将51个交集靶点导入STRING数据库构建PPI网络,获得包含49个节点的网络。将其导入Cytoscape软件,通过“Network Analyzer”计算拓扑参数, Degree值排名前3的核心靶点为AKT1(Degree值33)、CASP3(Degree值29)和EGFR(Degree值25)。

由图10可知,交集靶点在细胞组分中主要富集于蛋白激酶复合物、转移酶复合体等,分子功能中富集于蛋白丝氨酸激酶活性、核受体活性等,生物过程中富集于TOR信号、肽基丝氨酸磷酸化等。这些功能注释表明,交集靶点主要参与信号转导、磷酸化修饰等关键细胞过程,而这些过程均与肿瘤细胞的增殖、迁移和存活密切相关。

如图11所示,KEGG通路富集主要涉及急性髓系白血病、AMPK信号通路、自噬、细胞衰老、癌症中的胆碱代谢、FoxO信号通路、胰岛素信号通路、长寿调节通路、mTOR信号通路。

与lncRNAs相关的KEGG通路进行对比,共同影响的通路包括AMPK信号通路、mTOR信号通路等。AMPK/mTOR信号轴是细胞感知能量状态并协调代谢与增殖的核心调控网络,其功能失衡与肿瘤发生发展密切

相关<sup>[31]</sup>。在结直肠癌中,AMPK/mTOR通路的失调尤为显著,在KRAS突变(约40%~50%)中,持续激活PI3K/Akt/mTOR轴,导致代谢重编程和化疗耐药;MSI-H亚型则是DNA修复缺陷使mTOR通路过度活化,加速肿瘤增殖;缺氧和营养匮乏诱导AMPK代偿性激活,但长期应激可触发mTOR反馈性再激活,促进转移<sup>[32]</sup>。

## 2.7 甘草黄酮A调节AMPK/mTOR信号通路的磷酸化水平

由图12可知,甘草黄酮A处理组的p-AMPK条带明显深于空白组和DMSO组,而p-mTOR条带明显浅于对照组,表明甘草黄酮A能够显著促进AMPK的磷酸化激活,同时抑制mTOR的磷酸化激活。AMPK作为细胞能量感受器,其激活可促进分解代谢、抑制合成代谢,维持细胞能量稳态<sup>[33]</sup>;而mTOR作为营养与生长因子整合器,其激活可驱动蛋白质合成和细胞增殖,二者在肿瘤细胞中常呈现反向调控关系<sup>[34]</sup>。Xue等<sup>[35]</sup>研究表明,甘草黄酮A能够抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路的激活,进而诱导乳腺癌细胞发生自噬。

## 2.8 LncRNA-CDC42BPA(TCONS\_00026701)在甘草黄酮A处理组中高表达

由图13可知,筛选的10个差异LncRNA(5个上调、

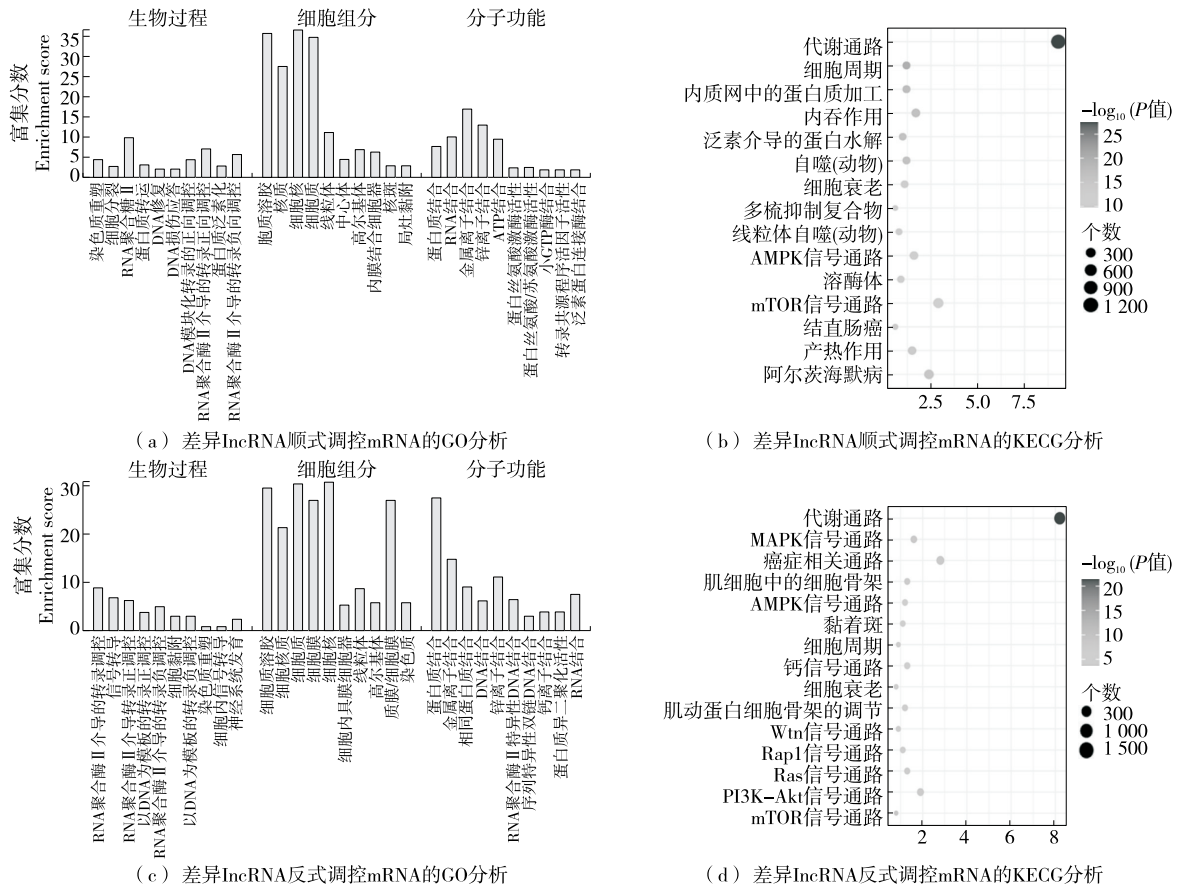


图 7 差异长链非编码RNA的KEGG分析与GO分析

Figure 7 KEGG and GO analyses of differentially expressed LncRNAs

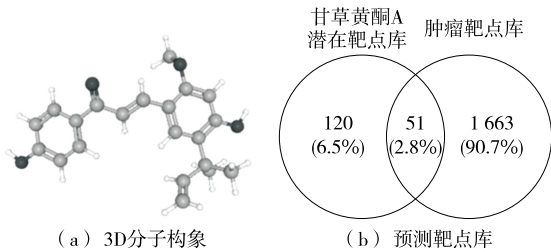


图 8 甘草黄酮A潜在作用靶点库和结肠直肠癌靶点库交集靶点筛选

Figure 8 Screening of intersection targets between the potential target library of licochalcone A and the colorectal cancer target library

5个下调)的表达趋势与测序结果完全一致,表明LncRNA测序数据具有高度的可靠性和准确性。LncRNA-CDC42BPA (TCONS\_00026701)在甘草黄酮A处理组中显著高表达,且过表达载体在HCT-116细胞中能够有效实现其过表达。该LncRNA位于CDC42BPA基因间,长度为2 169 bp,在国家生物信息中心(<https://ngdc.cncb.ac.cn/>)中编号为HSA LNG0011144。CDC42BPA是Rho家族小GTP酶CDC42的关键效应器,属于丝氨酸/苏

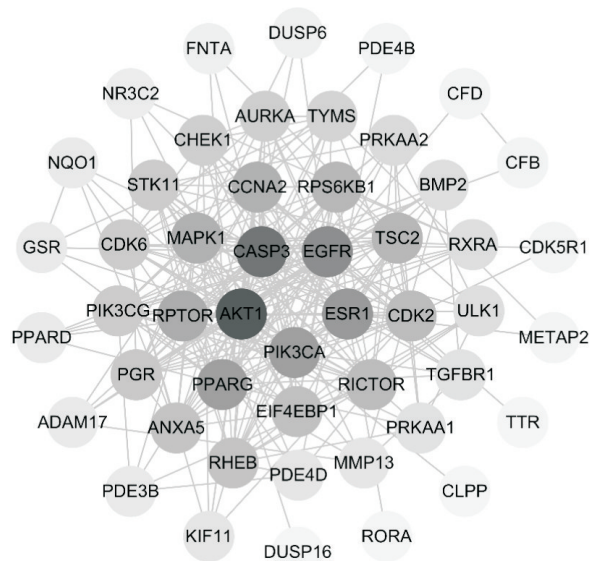


图 9 交集靶点PPI网络

Figure 9 PPI network for intersection targets

氨酸激酶家族<sup>[36]</sup>。其核心功能是通过调控细胞骨架动态,参与细胞运动、增殖、极性建立等生理过程,同时与癌

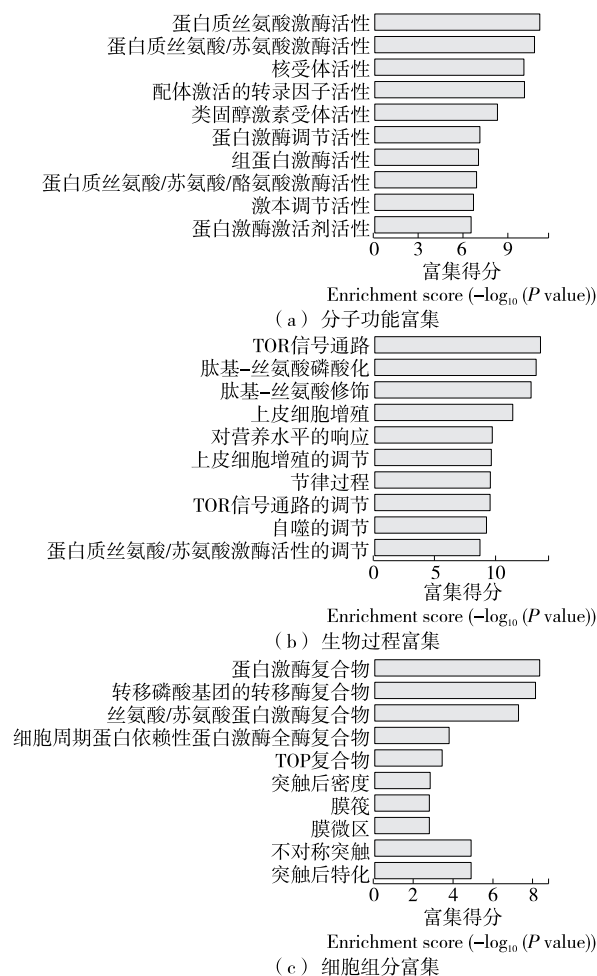


图 10 甘草黄酮A潜在作用靶点库和结直肠癌靶点库交集靶点GO功能注释

Figure 10 GO functional annotation of the intersection of the potential target library of licochalcone A and the colorectal cancer target library

症、神经退行性疾病等病理状态密切相关<sup>[37]</sup>。LncRNA-CDC42BPA可能与CDC42BPA基因存在调控关联,进而参与肿瘤细胞的生物学行为调控。

### 2.9 LncRNA-CDC42BPA抑制肿瘤细胞HCT-116增殖

由图14可知,与NC组相比,甘草黄酮A处理组和LncRNA过表达组的EdU阳性细胞数量显著降低,说明LncRNA-CDC42BPA过表达抑制细胞进入S期。CCK-8试验[图15(a)]表明,培养72h后,甘草黄酮A处理组和LncRNA-CDC42BPA过表达组的OD值显著低于NC组( $P < 0.001$ ),说明LncRNA-CDC42BPA过表达与甘草黄酮A处理趋势一致,均可抑制细胞活力。HCT-116细胞增殖标志物检测也证明了这一现象[图15(b)],增殖基因(*Ki67/PCNA*)下调,进一步说明LncRNA-CDC42BPA过表达发挥增殖抑制作用。

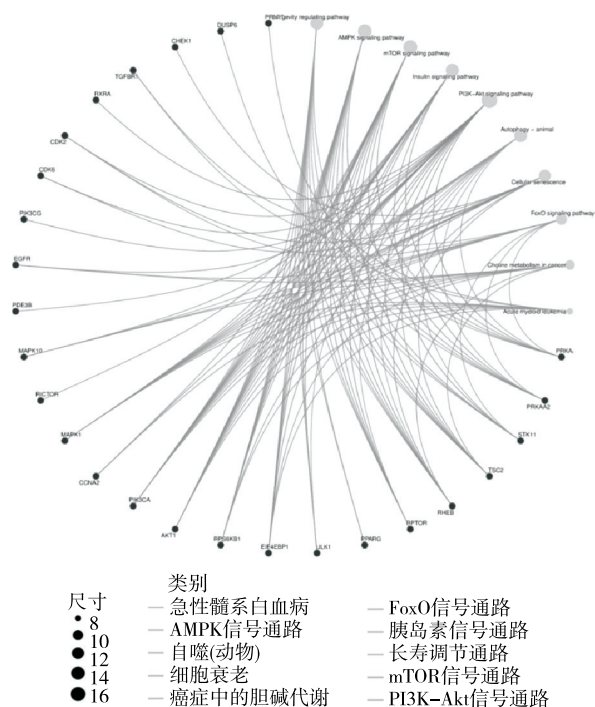
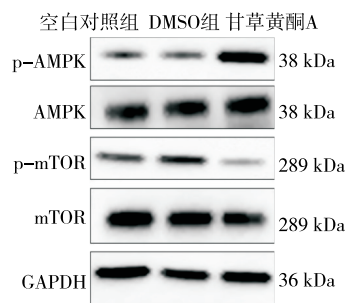
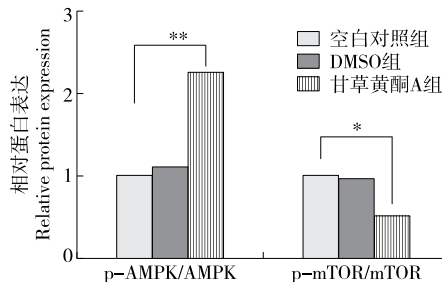


图 11 甘草黄酮A潜在作用靶点库和结直肠癌靶点库交集靶点KEGG通路分析

Figure 11 KEGG pathway analysis of the intersection of potential target library of licochalcone A and colorectal cancer target library



(a) Western blot验证



(b) 相对蛋白表达

图 12 甘草黄酮A调节AMPK/mTOR信号通路的磷酸化水平

Figure 12 Licochalcone A modulates the phosphorylation levels of the AMPK/mTOR signaling pathway

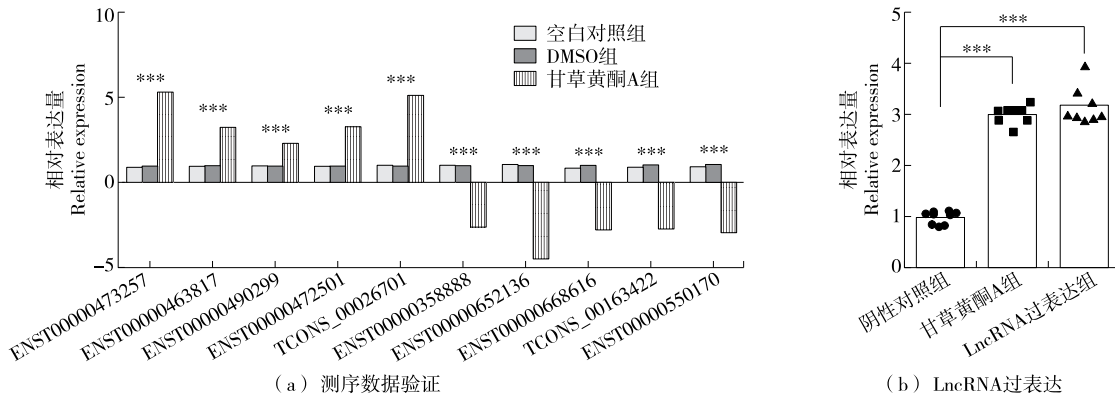


图 13 LncRNA-CDC42BPA 在甘草黄酮 A 处理组中高表达

Figure 13 High expression of LncRNA-CDC42BPA in the licochalcone A-treated group

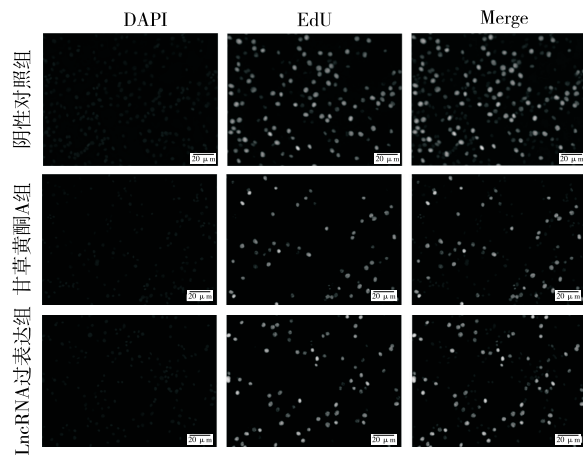


图 14 EdU 检测 LncRNA-CDC42BPA 对肿瘤细胞 HCT-116 增殖的影响

Figure 14 Effects of LncRNA-CDC42BPA on the proliferation of HCT-116 tumor cells by EdU assay

2.10 LncRNA-CDC42BPA 抑制肿瘤细胞 HCT-116 迁移

由图 16 可知,与对照组相比,甘草黄酮 A 处理组和 LncRNA-CDC42BPA 过表达组的迁移细胞数量显著减少,分布稀疏,其中 LncRNA-CDC42BPA 过表达组较 NC

组减少 54.37% ( $P < 0.01$ ),表明 LncRNA-CDC42BPA 过表达抑制细胞迁移;划痕试验进一步证明了这一结果 [图 17(a)],LncRNA-CDC42BPA 过表达组划痕愈合率显著降低,较空白组降低 44.78% ( $P < 0.01$ )。LncRNA-CDC42BPA 过表达与甘草黄酮 A 处理对迁移标志物水平的影响趋势一致 [图 17(b)],均上调 *E-cadherin* 并下调 *Vimentin* 的表达,表明过表达 LncRNA-CDC42BPA 可模拟甘草黄酮 A 效应,抑制细胞增殖和迁移。

2.11 LncRNA-CDC42BPA 激活 AMPK/mTOR 信号通路

为验证 LncRNA-CDC42BPA 对 AMPK/mTOR 信号通路的影响,在蛋白表达水平检测了 AMPK、mTOR 表达量及其磷酸化激活情况。由图 18 可知,LncRNA-CDC42BPA 过表达组的 p-AMPK 磷酸化水平显著上调,p-mTOR 激活水平降低,而非磷酸化蛋白表达水平无显著差异,表明 LncRNA-CDC42BPA 可通过激活 AMPK 来抑制 mTOR。

为进一步揭示其分子机制,利用 catRAPID 数据库对 LncRNA-CDC42BPA 可能结合的 RNA 结合蛋白(RBPs) 进行预测分析。结果显示,PTBP1、FMR1 和 FXR1 是最可能与其相互作用的候选蛋白,且这些蛋白均富含经典

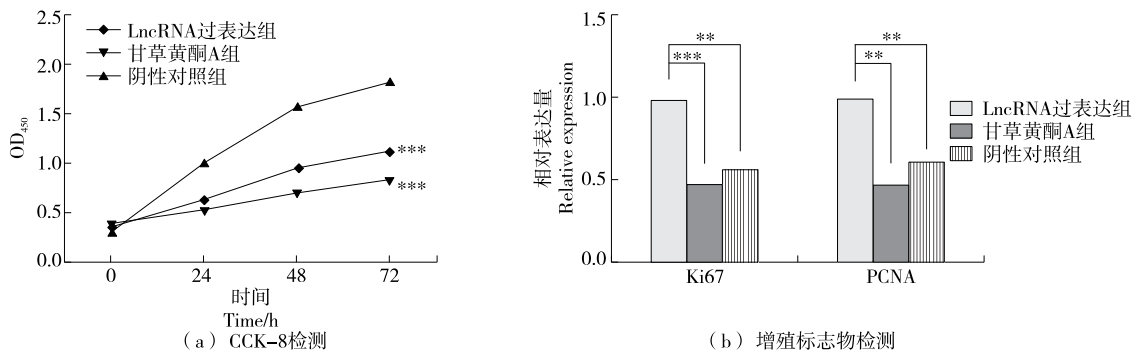


图 15 CCK-8 和 qPCR 试验检测 LncRNA-CDC42BPA 对肿瘤细胞 HCT-116 增殖的影响

Figure 15 Effects of LncRNA-CDC42BPA on the proliferation of HCT-116 tumor cells by CCK-8 and qPCR assay

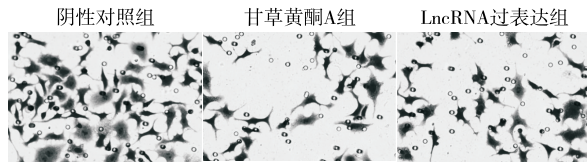
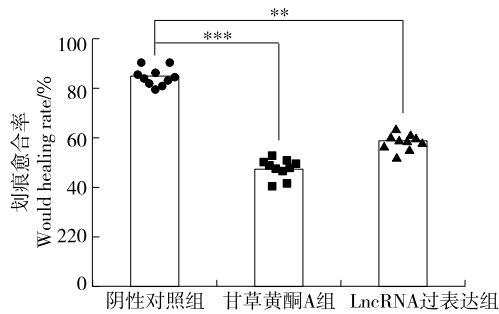
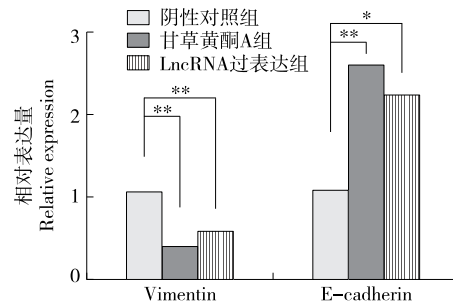


图 16 Transwell 迁移试验检测 LncRNA-CDC42BPA 对肿瘤细胞 HCT-116 迁移的影响

Figure 16 Effects of LncRNA-CDC42BPA on the migration of HCT-116 tumor cells by Transwell assay



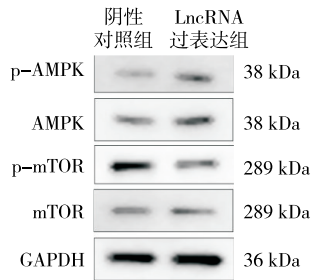
(a) 划痕试验



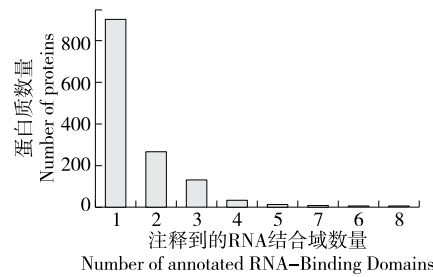
(b) 迁移标志物检测

图 17 划痕试验和 qPCR 试验检测 LncRNA-CDC42BPA 对肿瘤细胞 HCT-116 迁移的影响

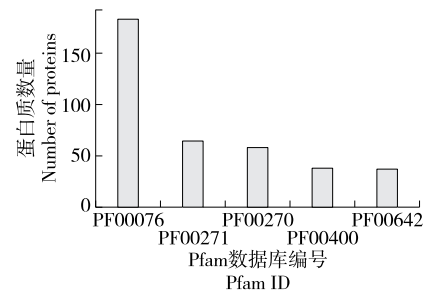
Figure 17 Effects of LncRNA-CDC42BPA on the migration of HCT-116 tumor cells by scratch and qPCR assays



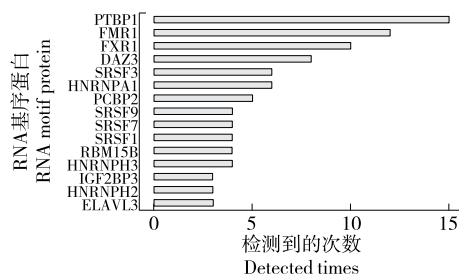
(a) Western blot试验



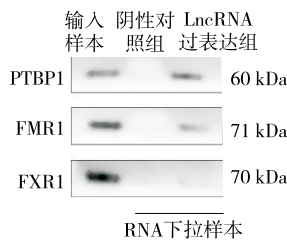
(b) RNA结合域分布



(c) 最多的RNA结合域



(d) 最多的RNA结合基序



(e) RNA-pull down试验

图 18 LncRNA-CDC42BPA 激活 AMPK/mTOR 信号通路

Figure 18 LncRNA-CDC42BPA activated the AMPK/mTOR signaling pathway

### 3 结论

研究通过体外细胞试验、体内动物试验及网络药理学分析,系统阐明了甘草黄酮A通过调控LncRNA-CDC42BPA-AMPK/mTOR轴抑制结直肠癌生长的分子机制,并首次明确了LncRNA-CDC42BPA是其抗肿瘤作用

RNA结合结构域(如RRM、KH等),具有较强的RNA结合能力。RNA pull-down试验结果显示,在LncRNA-CDC42BPA拉下组中可特异性富集PTBP1和FMR1,表明LncRNA-CDC42BPA可直接与PTBP1和FMR1结合。

综上,LncRNA-CDC42BPA可通过与PTBP1和FMR1等RNA结合蛋白相互作用,进而实现对AMPK的激活和mTOR的抑制,最终影响肿瘤细胞的能量代谢与增殖进程。

的关键下游效应分子。功能验证发现,过表达LncRNA-CDC42BPA可显著抑制HCT116细胞的增殖与迁移,并能重现甘草黄酮A对AMPK/mTOR通路的调控作用。RNA pull-down试验进一步揭示,该LncRNA可特异性结合PTBP1和FMR1两种RNA结合蛋白,初步解析了其分子作用基础。

然而,该研究仍存在一定局限性:① 机制验证仅基于 HCT116 细胞系和裸鼠皮下成瘤模型,尚未在其他结直肠癌细胞系或原位模型中验证,其普适性有待考察;② 未评估甘草黄酮 A 与现有化疗或靶向药物的联合治疗效果,其协同潜力尚不明确;③ 虽然甘草黄酮 A 作为天然产物可能具有低毒优势,但研究尚未对其体内安全性进行系统评价。未来研究需补充急性和亚慢性毒性实验,综合评估其对主要脏器功能、血液学指标及组织病理学的影响,以明确其治疗窗口与潜在风险。在此基础上,可进一步扩展细胞与动物模型,深入揭示 LncRNA-CDC42BPA 与 AMPK/mTOR 通路的调控网络,并开展联合用药及系统的安全性及有效性评价,从而为甘草黄酮 A 的临床转化提供更充分的试验依据。

### 参考文献

- [1] 孙志颖, 吴云峰, 董文辉, 等. 恶性肿瘤在体检中的检出情况分析及防癌体检策略[J]. 中国病案, 2025, 26(10): 97-100.  
SUN Z Y, WU Y F, DONG W H, et al. Analysis on the detection of malignant tumor in physical examination and the preventive physical examination strategy of cancer[J]. Chinese Medical Record, 2025, 26(10): 97-100.
- [2] CHEN M T, JIANG Y D, ZHOU X H, et al. Dual-energy computed tomography in detecting and predicting lymph node metastasis in malignant tumor patients: a comprehensive review [J]. Diagnostics, 2024, 14(4): 377.
- [3] SUN M F, WANG J, ZHANG Q F, et al. SMARCA4-deficient sinonasal malignant tumor with striated muscle and neuroendocrine differentiation: a case report and letter to the editor[J]. The American Journal of Surgical Pathology, 2024, 48 (4): 497-499.
- [4] SHIN A E, GIANCOTTI F G, RUSTGI A K. Metastatic colorectal cancer: mechanisms and emerging therapeutics[J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2023, 44(4): 222-236.
- [5] LI J X, MA X D, CHAKRAVARTI D, et al. Genetic and biological hallmarks of colorectal cancer[J]. Genes & Development, 2021, 35(11/12): 787-820.
- [6] JIANG L J, LU X Z, LI W. circFADS2 inhibits ferroptosis associated with IGF2BP2-dependent SLC7A11 m6A modification in colorectal cancer cells[J]. Journal of Gastrointestinal Oncology, 2025, 16(2): 503-516.
- [7] 付若楠, 魏岱, 吕思臻, 等. 结直肠癌中 POLR2M 表达及其对结直肠癌细胞生物学特性的影响[J]. 临床与实验病理学杂志, 2025, 41(7): 876-885.  
FU R N, WEI D, LÜ S Z, et al. POLR2M expression in colorectal cancer and its effect on biological characteristics of colorectal cancer cells[J]. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2025, 41(7): 876-885.
- [8] 王旖雪, 覃思, 周润泽, 等. 铁皮石斛典型黄酮抗氧化活性及分子机制研究[J]. 食品与机械, 2025, 41(7): 130-136.  
WANG Q X, QIN S, ZHOU R Z, et al. Antioxidant activity and molecular mechanisms of typical flavonoids in *Dendrobium officinale*[J]. Food & Machinery, 2025, 41(7): 130-136.
- [9] 李文文. 中药外用治疗癌痛的用药规律[J]. 光明中医, 2025, 40(6): 1 063-1 067.  
LI W W. Medication rules of topical traditional Chinese medicine in cancer pain management[J]. Guangming Journal of Chinese Medicine, 2025, 40(6): 1 063-1 067.
- [10] 刘禄阳, 吴思琦, 赵丽凤, 等. 抗肝癌中药物质基础研究进展 [J]. 国外医药(抗生素分册), 2025, 46(3): 145-153.  
LIU L Y, WU S Y, ZHAO L F, et al. Advances in the basic research of traditional Chinese medicine for anti-liver cancer [J]. World Notes on Antibiotics, 2025, 46(3): 145-153.
- [11] 褚红丹, 梁正, 徐敬茹, 等. 甘草黄酮通过 PI3K/AKT 信号通路激活 Runx2 促进成骨细胞增殖分化[J]. 食品科学, 2025, 46 (20): 188-198.  
CHU H D, LIANG Z, XU J R, et al. Glycyrrhiza flavonoids promote osteoblast proliferation and differentiation by activating Runx2 via the PI3K/AKT Signaling Pathway[J]. Food Science, 2025, 46(20): 188-198.
- [12] 宋晓慧, 朱珺珂, 李智, 等. 中药复方提取物对槟榔所致大鼠急性炎症的影响[J]. 食品与机械, 2023, 39(8): 142-146, 226.  
SONG X H, ZHU J D, LI Z, et al. Effects of plant extract and betel nut on acute inflammation in rats[J]. Food & Machinery, 2023, 39(8): 142-146, 226.
- [13] DORADO R G, OCEGUERA NAVA E I, CHEN G L, et al. Licochalcone A-inspired chalcones: synthesis and their antiproliferative potential in prostate cancer cells[J]. Molecules, 2024, 29(24): 6 023.
- [14] HAN P P, WEI S H, WANG H Y, et al. Licochalcone A decreases cancer cell proliferation and enhances ferroptosis in acute myeloid leukemia through suppressing the IGF2BP3/MDM2 cascade[J]. Annals of Hematology, 2024, 103(11): 4 511-4 524.
- [15] YUAN L W, JIANG X M, XU Y L, et al. Licochalcone A inhibits interferon-gamma-induced programmed death-ligand 1 in lung cancer cells[J]. Phytomedicine, 2021, 80: 153394.
- [16] WANG S, FU J L, HAO H F, et al. Metabolic reprogramming by traditional Chinese medicine and its role in effective cancer therapy[J]. Pharmacological Research, 2021, 170: 105728.
- [17] CHEN G X, LUO S X, GUO H D, et al. Licochalcone A alleviates ferroptosis in doxorubicin-induced cardiotoxicity via the PI3K/AKT/MDM2/p53 pathway[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2024, 397(6): 4 247-4 262.
- [18] PAN C H, CHEN H J, YANG B L. Licochalcone a inhibits proliferation and metastasis of colon cancer by regulating miR-1270/ADAM9/Akt/NF-κB axis[J]. Iranian Journal of Public Health, 2023, 52(9): 1 962-1 972.
- [19] HUANG W C, SU H H, FANG L W, et al. Licochalcone a inhibits cellular motility by suppressing E-cadherin and MAPK signaling in breast cancer[J]. Cells, 2019, 8(3): 218.

- [20] 游赣花, 安群英, 鲍海龙. lncRNA TUG1对ox-LDL诱导的内皮细胞损伤模型的抗炎作用及机制[J]. 贵州医科大学学报, 2025, 50(7): 965-972.  
YOU G H, AN Q Y, BAO H L. The anti-inflammatory effect and mechanism of silencing lncRNA TUG1 in ox-LDL-induced endothelial cell injury model[J]. Journal of Guizhou Medical University, 2025, 50(7): 965-972.
- [21] 王青, 程超. LncRNA ASB16-AS1调节miR-221-3p/KPNA2轴对三阴乳腺癌细胞增殖、迁移和化疗敏感性的影响[J]. 中国药理学杂志, 2025, 60(17): 1 827-1 834.  
WANG Z, CHENG C. Effects of LncRNA ASB16-AS1 on proliferation, migration and chemosensitivity of triple negative breast cancer cells by regulating miR-221-3p/KPNA2 axis[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2025, 60(17): 1 827-1 834.
- [22] 盘琳琳, 万佳明, 李越, 等. 自噬相关LncRNA是头颈部鳞状细胞癌的预后指标[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2025, 39(6): 97-107.  
PAN L L, WAN J M, LI Y, et al. Autophagy-related long noncoding RNA is a prognostic indicator for head and neck squamous cell carcinoma[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2025, 39(6): 97-107.
- [23] 张彤, 平胜, 李贞贞, 等. 肝细胞肝癌患者长链非编码RNA SH<sub>3</sub>BP<sub>5</sub>-AS1和微小RNA-6838-5p的表达及临床意义研究[J]. 中国医药, 2025, 20(7): 1 031-1 036.  
ZHANG T, PING S, LI Z Z, et al. Expression and clinical significance of long non-coding RNA SH<sub>3</sub>BP<sub>5</sub>-AS1 and microRNA-6838-5p in hepatocellular carcinoma patients[J]. China Medicine, 2025, 20(7): 1 031-1 036.
- [24] 顾喆赟, 陶健, 王铃. LncRNA KCNQ1OT1靶向miR-148a-3p对弥漫大B细胞淋巴瘤细胞增殖、侵袭、多柔比星耐药的影响[J]. 中国细胞生物学学报, 2025, 47(7): 1 553-1 561.  
GU Z Y, TAO J, WANG L. Impacts of LncRNA KCNQ1OT1 on proliferation, invasion, and doxorubicin resistance of diffuse large B-cell lymphoma cells by targeting miR-148a-3p[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2025, 47(7): 1 553-1 561.
- [25] 陈海洋, 王春梅, 石金升, 等. LncRNA PRR34-AS1调节miR-296-5p/DDI2轴对结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 中国细胞生物学学报, 2025, 47(7): 1 593-1 603.  
CHEN H Y, WANG C M, SHI J S, et al. Effects of LncRNA PRR34-AS1 on the proliferation, migration, and invasion of colorectal cancer cells by regulating the miR-296-5p/DDI2 axis[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2025, 47(7): 1 593-1 603.
- [26] XIN Z C, HU C Y, ZHANG C F, et al. LncRNA-HMG incites colorectal cancer cells to chemoresistance *via* repressing p53-mediated ferroptosis[J]. Redox Biology, 2024, 77: 103362.
- [27] TIAN J H, CAO X, JIANG Z Y, et al. RETRACTED: LncRNA CCAT2 promotes the proliferation and metastasis of colorectal cancer through activation of the ERK and Wnt signaling pathways by regulating GNB2 expression[J]. Cancer Medicine, 2024, 13(17): e70169.
- [28] 董焕成, 苏韫, 龚红霞, 等. 甘草黄酮A对低氧条件下胃癌细胞增殖和糖酵解的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(13): 120-127.  
DONG H C, SU Y, GONG H X, et al. Effect of licoflavone a on proliferation and glycolysis of gastric cancer cells under hypoxic conditions[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2024, 30(13): 120-127.
- [29] QIU C Y, ZHANG T T, ZHANG W X, et al. Licochalcone a inhibits the proliferation of human lung cancer cell lines A549 and H460 by inducing G2/M cell cycle arrest and ER stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(8): 1 761.
- [30] 范晓丽, 王娟, 王黎明. 甘草查尔酮A通过调控PI3K/AKT信号通路诱导肺鳞癌细胞周期阻滞[J]. 南方医科大学学报, 2023, 43(1): 111-116.  
FAN X L, WANG J, WANG L M. Licochalcone A induces cell cycle arrest in human lung squamous carcinoma cells *via* the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Journal of Southern Medical University, 2023, 43(1): 111-116.
- [31] 尼坤洋, 李建厂. 中药及其有效成分通过调控MAPK信号通路治疗癌症的应用研究进展[J]. 中国处方药, 2025, 23(7): 120-126.  
NI K Y, LI J C. To explore the research progress of the role of traditional Chinese medicine and its active components in cancer based on MAPK signaling pathway[J]. Journal of China Prescription Drug, 2025, 23(7): 120-126.
- [32] ZHOU Y, ZHANG Y, BOTCHWAY B O A, et al. Sestrin2 can alleviate endoplasmic reticulum stress to improve traumatic brain injury by activating AMPK/mTORC1 signaling pathway[J]. Metabolic Brain Disease, 2024, 39(3): 439-452.
- [33] 唐强, 彭冉东, 张彦军, 等. MAPK/AMPK/mTOR信号通路在自噬中的作用机制研究进展[J]. 山东医药, 2025, 65(11): 153-158.  
TANG Q, PENG R D, ZHANG Y J, et al. Research progress on mechanisms of MAPK/AMPK/mTOR signaling pathways in autophagy[J]. Shandong Medical Journal, 2025, 65(11): 153-158.
- [34] 晋程妮, 李洋, 闫帅帅, 等. 3-氯-1,2-丙二醇通过线粒体途径诱导HK2细胞凋亡[J]. 食品与机械, 2024, 40(11): 5-11.  
JIN C N, LI Y, YAN S S, et al. 3-Monochloropropane-1,2-diol induced cell apoptosis in HK2 cells *via* mitochondrial mitochondria-dependent pathway[J]. Food & Machinery, 2024, 40(11): 5-11.
- [35] XUE L, ZHANG W J, FAN Q X, et al. Licochalcone A inhibits PI3K/Akt/mTOR signaling pathway activation and promotes autophagy in breast cancer cells[J]. Oncology Letters, 2018, 15(2): 1 869-1 873.
- [36] EAST M P, ASQUITH C R M. CDC42BPA/MRCK $\alpha$ : a kinase target for brain, ovarian and skin cancers[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2021, 20(3): 167.
- [37] RICHARD C, VIRET S, CANTERO AGUILAR L, et al. Myotonic dystrophy kinase-related CDC42-binding kinase  $\alpha$ , a new transferrin receptor type 2-binding partner, is a regulator of erythropoiesis[J]. American Journal of Hematology, 2021, 96(4): 480-492.