

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20250826

·人工智能+医学科研·

## 人工智能驱动的抗三阴性乳腺癌及骨转移的双功能小分子药物识别

庄冰苗<sup>1</sup>, 梁逸雪<sup>2</sup>, 梁蔚珊<sup>2</sup>, 古文静<sup>1</sup>, 郭城杨<sup>1,3\*</sup>, 田赛赛<sup>1,3\*</sup>

1. 福建中医药大学, 福州 350000

2. 广东药科大学, 广州 510000

3. 海军军医大学(第二军医大学)药理学系, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 基于人工智能(AI)驱动驱动基因识别与转录组差异表达基因分析策略进行药物识别,旨在发现具有同步调控三阴性乳腺癌(TNBC)原发肿瘤及骨转移相关分子特征的候选双功能药物。**方法** 从复旦大学附属肿瘤医院(FUSCC)TNBC队列及癌症细胞系百科全书(CCLE)数据库获取相关数据,通过表达相关性分析方法剔除异常样本后,按照研究目的构建2个比较组:骨转移组织比较组(BMTG),包括骨转移患者的肿瘤组织( $n=17$ )与癌旁正常组织( $n=6$ );原发肿瘤比较组(PTG),包括原发肿瘤样本中的骨转移组( $n=17$ )与非骨转移组( $n=271$ )。在FUSCC TNBC队列中,采用PhenoDriver方法在BMTG中鉴定潜在驱动基因,采用差异表达分析方法在PTG中获得差异表达基因,将两者分别与基于集成网络的细胞特征文库(LINCS)2020的Landmark基因取交集,构建疾病特征基因集。在BMTG中通过FUSCC TNBC队列、癌症基因组图谱(TCGA)-TNBC和基因表达汇编(GEO)的3个数据集进行迭代筛选及ROC曲线分析评估,PTG则基于FUSCC TNBC队列进行ROC曲线分析验证,获得稳健的核心疾病基因集用于药物预测。随后基于连通性图谱(CMap)计算连通性得分并通过综合排序指标筛选双功能候选药物,结合既往文献与化合物的商业可获得性,优先选择SB-590885和PF-431396进行细胞实验验证。使用TNBC细胞系MDA-MB-231和TNBC骨转移细胞系MDA-BoM-1833,通过CCK-8实验和细胞划痕实验验证2种候选药物的抑制活性。**结果** 共剔除72个异常样本,最终确定26个BMTG驱动基因和62个PTG差异表达基因作为核心疾病基因集。基于LINCS药物扰动谱的药物重定位分析,筛选出46种潜在双功能药物。SB-590885和PF-431396在体外实验中对TNBC细胞系和TNBC骨转移细胞系的增殖和迁移表现出显著的剂量依赖性抑制作用。**结论** 本研究鉴定出2种具有潜在的双功能治疗价值的候选药物(SB-590885和PF-431396),为TNBC骨转移治疗提供了新的研究方向和潜在选择。

**[关键词]** 人工智能; 药物发现; 双功能药物; 三阴性乳腺癌; 骨转移

**[引用本文]** 庄冰苗, 梁逸雪, 梁蔚珊, 等. 人工智能驱动的抗三阴性乳腺癌及骨转移的双功能小分子药物识别[J]. 海军军医大学学报, 2026, 47(4): 447-459. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20250826.

### Artificial intelligence-driven identification of bifunctional small-molecule therapeutics for triple-negative breast cancer and bone metastasis

ZHUANG Bingmiao<sup>1</sup>, LIANG Yixue<sup>2</sup>, LIANG Weishan<sup>2</sup>, GU Wenjing<sup>1</sup>, GUO Chengyang<sup>1,3\*</sup>, TIAN Saisai<sup>1,3\*</sup>

1. Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350000, Fujian, China

2. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510000, Guangdong, China

3. School of Pharmacy, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To identify candidate bifunctional drugs that simultaneously modulate molecular features associated with primary triple-negative breast cancer (TNBC) and bone metastasis based on an artificial intelligence (AI)-driven strategy integrating driver gene identification and transcriptomic differentially expressed gene analysis. **Methods** Based on the Fudan University Shanghai Cancer Center (FUSCC) TNBC cohort and Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) data, after eliminating the aberrant samples through expression correlation analysis, 2 comparison groups were established according to the research objectives: bone metastasis tissue group (BMTG), including tumor tissue

[收稿日期] 2025-12-02 [接受日期] 2026-01-29

[基金项目] 创新药物研发国家科技重大专项(2025ZD1803300), 国家自然科学基金(82574713, 82430119, 82273810), 上海市科学技术委员会计算生物学项目(25JS2830400), 上海市自然科学基金(25ZR1402574), 上海市晨光计划(23CGA45). Supported by Innovative Drug Research and Development-National Science and Technology Major Project (2025ZD1803300), National Natural Science Foundation of China (82574713, 82430119, 82273810), Computational Biology Program of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (25JS2830400), Natural Science Foundation of Shanghai (25ZR1402574), and Chenguang Program of Shanghai (23CGA45).

[作者简介] 庄冰苗, 硕士生. E-mail: zhuangbm926@163.com

\*通信作者( Corresponding authors ). E-mail: gcy970114@126.com; saisai\_tian@foxmail.com

from patients with bone metastasis ( $n=17$ ) and the adjacent normal tissue ( $n=6$ ); primary tumor group (PTG), including patients with bone metastasis ( $n=17$ ) and those without bone metastasis ( $n=271$ ) among primary tumor samples. In the FUSCC TNBC cohort, potential driver genes were identified using PhenoDriver in the BMTG and differentially expressed genes were obtained using differential gene analysis in the PTG, and the intersection of both was taken with Landmark genes from the Library of Integrated Network-Based Cellular Signatures (LINCS) 2020 to establish disease-specific gene sets. BMTG was iteratively screened and evaluated by receiver operating characteristic (ROC) curve analysis using the FUSCC TNBC cohort, The Cancer Genome Atlas (TCGA)-TNBC and 3 Gene Expression Omnibus (GEO) datasets; while PTG was validated by ROC curve analysis using FUSCC TNBC cohort. Robust core disease gene sets were obtained for drug reversal prediction. Subsequently, connectivity scores were calculated based on the Connectivity Map (CMap), and candidate bifunctional drugs were screened using a comprehensive ranking metric. Combined with previous literatures and commercial availability of compounds, SB-590885 and PF-431396 were prioritized for cell experimental validation. TNBC cell line MDA-MB-231 and TNBC bone metastatic cell line MDA-BoM-1833 were used to verify the inhibitory activities of the 2 candidate drugs by cell counting kit 8 assay and cell wound-healing assay. **Results** A total of 72 aberrant samples were excluded. Ultimately, 26 BMTG driver genes and 62 PTG differentially expressed genes were identified as the core disease gene sets. Based on drug repositioning of LINCS perturbation profiles, 46 potential bifunctional drugs were screened. SB-590885 and PF-431396 demonstrated significant dose-dependent inhibitory effects on the proliferation and migration of TNBC cell lines and TNBC bone metastatic cell lines *in vitro*. **Conclusion** This study has identified SB-590885 and PF-431396 as potential bifunctional therapeutic candidates, providing new research directions and potential treatment options for TNBC with bone metastasis.

[ **Key words** ] artificial intelligence; drug discovery; bifunctional drugs; triple-negative breast neoplasms; bone metastasis

[ **Citation** ] ZHUANG B, LIANG Y, LIANG W, et al. Artificial intelligence-driven identification of bifunctional small-molecule therapeutics for triple-negative breast cancer and bone metastasis[J]. Acad J Naval Med Univ, 2026, 47(4): 447-459. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20250826.

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤之一,据WHO及GLOBOCAN最新统计,2022年全球乳腺癌新发病例约230万例,死亡约67万例,且乳腺癌相关死亡主要与疾病复发和远处转移相关,尤其是在晚期患者中预后显著降低<sup>[1-2]</sup>。21世纪以来,乳腺癌的发病率呈缓慢上升趋势,年增长率约为1%,且这一趋势主要受生育率下降和肥胖率上升的双重影响<sup>[3]</sup>。在多种转移部位中,骨骼是乳腺癌最常见的远处转移靶器官,约占转移性乳腺癌患者的70%<sup>[4-5]</sup>。骨转移不仅加速了疾病进展,还常引发骨质破坏、病理性骨折、剧烈疼痛及高钙血症等严重并发症,影响患者的生活质量和预后<sup>[6-7]</sup>。

在乳腺癌的分子分型中,三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是指雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)和人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)均为阴性表达的类型<sup>[8-9]</sup>。TNBC通常具有侵袭性强、复发风险高、缺乏明确靶向治疗手段且整体预后较差等特点,是乳腺癌中恶性程度最高的亚型之一<sup>[10-11]</sup>。TNBC具有很高的转移倾向,易转移至脑、骨、肝、肺等重要器官,其中骨转移最为多发<sup>[12]</sup>。目前, TNBC的骨转移机制尚未完全阐

明,其发生、发展涉及肿瘤细胞内在侵袭性、骨微环境重塑及多条信号通路异常激活等复杂过程,临床上仍缺乏能够兼顾原发肿瘤抑制与骨转移控制的有效治疗手段<sup>[13]</sup>。因此,系统识别兼具抗肿瘤活性和抗骨转移潜力的候选药物,对于改善TNBC患者的治疗效果和长期预后具有重要的理论价值与临床意义。

抗癌药物的发现涉及多种计算方法,这些方法在药物开发过程的不同阶段发挥着至关重要的作用<sup>[14]</sup>。近年来,人工智能(artificial intelligence, AI)在靶点识别、肿瘤新抗原鉴定和药物重定位方面展现出了巨大潜力<sup>[15-18]</sup>。相比传统的药物发现方式, AI赋能的药物重定位策略显著提高了药物发现的效率和准确性<sup>[19]</sup>,也为骨转移型TNBC提供了新的治疗思路与潜在干预策略。本研究利用癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)、癌症细胞系百科全书(Cancer Cell Line Encyclopedia, CCLE)和基于集成网络的细胞特征文库(Library of Integrated Network-Based Cellular Signatures, LINCS)等公共数据库,整合TNBC与骨转移相关的基因特征,结合机器学习与大数据挖掘方法,通过疾病转录组特征与药物诱导表达谱的反向匹配,筛选兼具抑制TNBC和阻断骨转移潜力

的候选药物,为未来 TNBC 骨转移的精准治疗研究提供参考。

## 1 材料和方法

**1.1 数据的获取与处理** TNBC 肿瘤样本及正常乳腺组织样本转录组数据来源于复旦大学附属肿瘤医院 (Fudan University Shanghai Cancer Center, FUSCC) TNBC 队列<sup>[20]</sup>和 TCGA 数据库的 TNBC 数据集<sup>[21]</sup>,以及基因表达汇编 (Gene Expression Omnibus, GEO) 数据库中的 3 个数据集 GSE38959<sup>[22]</sup>、GSE65194<sup>[23]</sup>和 GSE65212<sup>[24]</sup>。共获得 692 例 TNBC 肿瘤样本及 136 例正常乳腺组织样本的转录组数据,包括来自 FUSCC TNBC 队列的 360 个肿瘤样本和 88 个癌旁正常组织样本,来自 TCGA 乳腺癌数据集的 192 个肿瘤样本和 13 个正常样本,以及来自 GEO 3 个数据集的 140 个肿瘤样本和 35 个正常样本。肿瘤和正常组织类型均根据各数据库提供的样本注释进行标注。其中 FUSCC TNBC 队列包括 23 个骨转移样本,含有 17 个肿瘤样本和 6 个癌旁正常组织样本,用于后续疾病分型相关分析。使用 R 4.4.1 软件对所有数据进行一致性处理,包括:(1)质量控制,去除重复基因及低表达基因;(2)样本间比较的标准化;(3)利用主成分分析法对数据进行降维;(4)使用 Limma 3.60.2 软件包进行差异表达分析。

药物扰动谱数据来源于新发布的连通性图谱 (Connectivity Map, CMap) 数据库 LINCS2020 数据集 (<https://clue.io/data/CMap2020#LINCS2020>)。基于已有的研究<sup>[24-25]</sup>,本研究分析流程采用 LINCS 标准的 978 个 Landmark 基因,并重点关注在 10  $\mu\text{mol/L}$  浓度和 24 h 暴露的标准化条件下药物诱导的基因表达谱,所选时间点和浓度代表了数据集中最常见的处理条件。

细胞系基因表达数据来源于 CCLE<sup>[26]</sup>,该数据库涵盖了多种人类癌症细胞系的转录组及分子特征信息。利用 CCLE 的转录组表达谱对 TNBC 相关性进行评估,用于剔除异常样本并筛选与 TNBC 特征高度相关的细胞系,为后续候选药物筛选与验证提供生物学参考框架。

**1.2 潜在驱动基因的鉴定** 为系统鉴定与 TNBC 相关的潜在驱动基因,本研究采用 PhenoDriver 0.2.1 软件包进行分析<sup>[27]</sup>。该软件通过整合多组学数据与蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein

interaction, PPI) 网络,从通路与网络调控层面推断候选基因的致病潜力。整体分析流程 (图 1) 如下:(1)基于转录组数据进行差异表达分析,筛选获得上调与下调表达基因;(2)结合 Reactome 数据库开展通路富集分析,识别与疾病表型密切相关的异常通路集合;(3)将上述异常通路映射至信号调控网络,挖掘其直接上游调控基因,通过计算这些候选基因相对于异常通路的富集显著性 ( $P$  值)与因果性评分 ( $Z$  分数),并利用网络传播算法整合全局调控信息,量化各基因的驱动能力;(4)将驱动能力较高的基因定义为候选驱动基因,用于后续功能注释与网络分析。

**1.3 基于 CMap 的药物发现** 匹配疾病与药物基因表达特征的方法最早由 Lamb 等<sup>[28]</sup>提出,用于评估小分子药物对疾病相关转录特征的逆转潜力。本研究基于 CMap LINCS2020 数据集开展药物再利用分析,以衡量药物扰动表达谱与疾病特征基因表达模式之间的一致性 or 逆转关系。CMap 数据库整合了小分子化合物、基因过表达及基因敲除等多种扰动条件在不同细胞系中产生的基因表达谱,使其成为药物机制与疾病状态对应分析的重要资源。本研究基于 CMap 的富集分析方法,将获得的疾病上调和下调基因集作为输入基因签名,与 LINCS 参考表达谱进行比对;通过 Kolmogorov-Smirnov 统计方法计算药物与疾病差异表达基因之间的连通性得分 (connectivity score),如图 2 所示。连通性得分取值范围为  $-1\sim 1$ ,反映药物诱导的转录变化相对于疾病转录模式的相似性或相反性。其正值表示药物诱导的表达改变与疾病转录模式方向一致,提示作用机制相似;负值则表示药物作用趋势与疾病状态相反,提示其可能具有逆转疾病状态的潜力。

**1.4 细胞与试剂** TNBC 细胞系 MDA-MB-231 (目录号 TCHu227) 购自中国科学院典型培养物宝藏委员会细胞库;TNBC 骨转移细胞系 MDA-BoM-1833 由上海中医药大学附属曙光医院未来健康实验室栾鑫研究员惠赠;高糖 DMEM (货号 610502) 购自深圳逗点生物技术有限公司;FBS (货号 C04001-500) 购自以色列 Bioind 公司;青霉素-链霉素混合液 (货号 15140-122) 购自美国 Gibco 公司;0.25% 胰酶消化液 (含 EDTA) (货号 MA0233-3) 购自大连美仑生物技术有限公司;SB-590885 (质量分数  $\geq 99\%$ , 货号 HY-10966) 和

PF-431396 (质量分数≥99%, 货号 HY-10460) 购自美国 MCE 公司; DMSO (货号 ST038-500) 和

CCK-8 试剂盒购自上海碧云天生物科技股份有限公司。

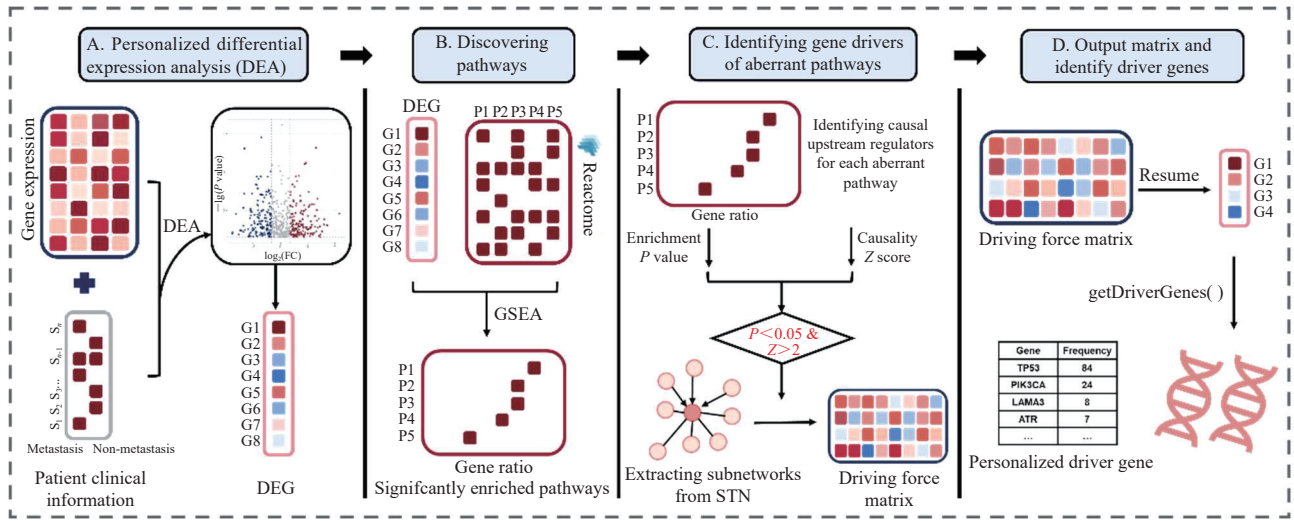


图 1 潜在驱动基因的整体分析流程

Fig 1 Overall analysis process of potential driver genes

A: DEA was performed by combining gene expression data with patient clinical information to identify differentially expressed genes (DEGs; the red represents upregulated gene, and the blue represents downregulated gene); B: Reactome pathways significantly enriched in individualized DEGs were defined as individualized aberrant pathways; C: Assuming that driver genes associated with aberrant pathways were located upstream of DEGs, their regulatory causal relationship with DEGs was assessed using enrichment  $P$  values and causality  $Z$  scores, and subnetworks were extracted from the signaling transmission network (STN), with the driving force of each gene being calculated based on network propagation; D: Individualized driver genes were screened based on the driving force matrix.  $S_1, S_2, \dots, S_{n-1}, S_n$  represent the grouping IDs for samples;  $G1, G2, \dots, G8$  represent the grouping IDs for genes in the analysis pipeline;  $P1, P2, \dots, P5$  denote the IDs of enriched signaling pathways. FC: Fold change; GSEA: Gene Set Enrichment Analysis; TP53: Tumor protein 53; PIK3CA: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha; LAMA3: Laminin subunit alpha 3; ATR: ATM and Rad 3-related kinase.

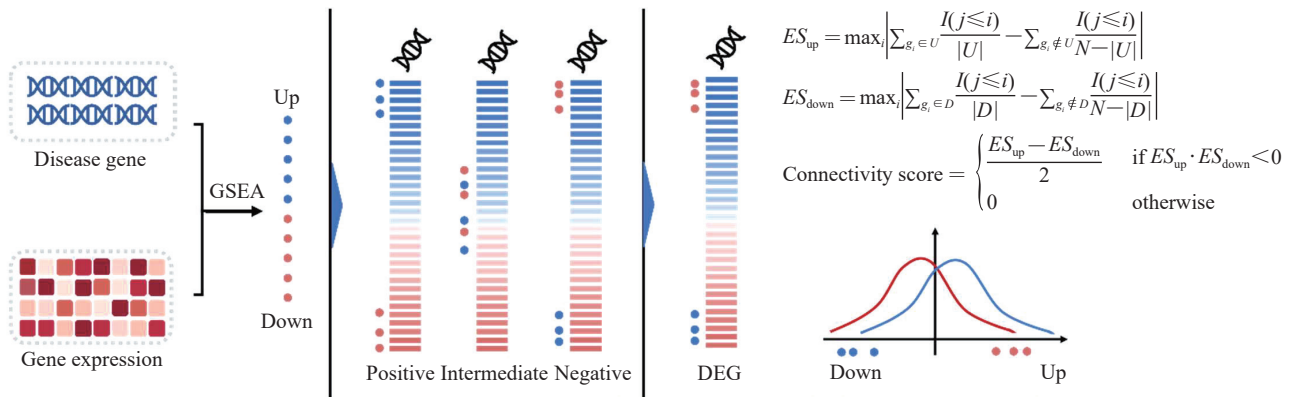


图 2 CMap 富集分析方法的原理

Fig 2 Principle of enrichment analysis in CMap

CMap calculated a connectivity score by comparing disease-specific genes with drug-induced expression profiles to identify potential therapeutic agents that could reverse disease states. In the formulas,  $ES_{up}$  stands for enrichment score for the upregulated gene set,  $ES_{down}$  stands for enrichment score for the downregulated gene set;  $N$  denotes the total number of genes and  $g_i$  represents the  $i$ -th gene ranked by the expression changes induced by the drugs;  $U$  and  $D$  stand for the upregulated and downregulated gene sets characterized in the disease, respectively, with  $|U|$  and  $|D|$  indicating the number of genes in the corresponding gene sets;  $I(j \leq i)$  is an indicator function that takes the value of 1 if the  $j$ -th gene is among the top  $i$  ranked genes, and 0 otherwise. CMap: Connectivity Map; GSEA: Gene Set Enrichment Analysis; DEG: Differentially expressed gene.

1.5 细胞活力检测 MDA-MB-231 细胞和 MDA-BoM-1833 细胞用含 FBS 及青霉素-链霉素混合液的高糖 DMEM 培养至对数生长期,经胰酶消化、计数后,以每孔  $5 \times 10^3$  个细胞的密度接种于 96 孔板。过夜培养至细胞贴壁后,分别加入不同浓度 (MDA-MB-231 细胞: 0、2.5、5、10、20  $\mu\text{mol/L}$ ; MDA-BoM-1833 细胞: 0、2.5、5、7.5、10  $\mu\text{mol/L}$ ) 的 SB-590885 和 PF-431396 处理,同时设置阴性对照组 (加入不含药物的高糖 DMEM) 和空白对照组 (加入 PBS)。培养 48 h 后,弃原培养基和 PBS,每孔加入 100  $\mu\text{L}$  CCK-8 混合液 (CCK-8 试剂与高糖 DMEM 按 1:10 比例配制),在  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养 2.5 h 后,用酶标仪检测 450 nm 波长处光密度值 ( $D_{450}$ )。根据以下公式计算细胞存活率: 细胞存活率 (%) = (给药组  $D_{450}$  - 空白对照组  $D_{450}$ ) / (阴性对照组  $D_{450}$  - 空白对照组  $D_{450}$ )  $\times 100\%$ 。通过 GraphPad Prism 9.5.1 软件分别计算药物对 MDA-MB-231 和 MDA-BoM-1833 细胞的  $\text{IC}_{50}$ 。

1.6 细胞划痕实验 取处于对数生长期的 MDA-MB-231 和 MDA-BoM-1833 细胞消化、计数,并以每孔  $1.5 \times 10^5$  个细胞的密度接种于 6 孔板。待细胞生长至 90%~100% 融合度后,使用 10  $\mu\text{L}$  无菌枪头在细胞单层表面划出直线状划痕,每孔加入 1 mL PBS 清洗 2 次后,分别加入不同浓度 (0、2.5、5  $\mu\text{mol/L}$ ) 的 SB-590885 和 PF-431396 处理细胞,并设置阴性对照组 (加入等量无血清高糖 DMEM)。于处理后 0 h 及 24 h 在倒置显微镜下拍摄相同视野的划痕图像,根据以下公式计算细胞迁移率: 细胞迁移率 (%) = (0 h 划痕宽度 - 24 h 划痕宽度) / 0 h 划痕宽度  $\times 100\%$ 。通过 GraphPad Prism 9.5.1 软件进行数据分析。

1.7 统计学处理 细胞实验数据的统计方法见 1.5 节和 1.6 节。除细胞实验部分外,所有计算分析均采用 R 4.4.1 软件完成。肿瘤组织和癌旁正常组织之间、骨转移与非骨转移组之间的差异表达基因均采用 Limma 3.60.2 软件包进行鉴定。采用 Benjamini-Hochberg (BH) 方法控制错误发现率 (false discovery rate, FDR),  $\text{FDR} < 0.05$  的基因被认为是具有统计学意义的差异表达基因。模型预测性能评估中,利用 predict 函数计算预测概率分值,并采用 pROC 1.18.5 软件包绘制 ROC 曲线,计

算 AUC 值作为综合评价指标。

## 2 结果

2.1 异常样本的识别与 TNBC 模型细胞系的筛选分析 为提升后续驱动基因识别和药物重定位分析的准确性,需先评估 TNBC 肿瘤样本与细胞模型的分子一致性。由于肿瘤组织受微环境、取样和批次效应等因素影响,其表达谱存在一定异质性,因此在跨队列整合前有必要识别并剔除潜在异常样本 (outlier),以减少偏离样本对整体分析的干扰。本研究结合 FUSCC 与 CCLE 的基因表达数据,首先根据基因表达变异度筛选得到 TNBC 中差异最显著的 5 000 个高变基因,并采用 Spearman 秩相关分析 TNBC 肿瘤样本与细胞系之间的相关性。结果显示,部分肿瘤样本与 TNBC 细胞系的基因表达相关性较弱。经 Wilcoxon 秩和检验并结合 FDR 校正,共鉴定出 72 个表达模式显著偏离主群体的异常样本,提示这些样本可能具有独特分子亚型或受到肿瘤微环境的显著影响。

在剔除上述异常样本后,进一步采用 Spearman 秩相关评估 FUSCC TNBC 肿瘤样本与 CCLE 细胞系之间的基因表达相关性。结果显示,不同组织来源的肿瘤细胞系与 TNBC 原发肿瘤之间的基因表达相关性显著。其中,乳腺来源细胞系的中位相关系数 (0.293) 位居前列,明显高于大多数非乳腺组织细胞系,支持其作为 TNBC 模型的合理性。为了进一步聚焦潜在的 TNBC 代表性模型,筛选出与 TNBC 呈显著正相关的乳腺细胞系,并对其进行亚群分析。结果显示,这些细胞系与大多数肿瘤样本基因表达表现出一致且显著的强相关性,具有跨患者样本的稳定性和可重复性。最终,基于中位相关系数的分位数阈值,确定了 24 个与 TNBC 肿瘤样本显著匹配的强相关性细胞系。

在剔除 72 个异常样本后,获得了更具生物学代表性的 FUSCC TNBC 转录组数据。基于该表达谱,按照研究目的构建了 2 对比较组: (1) 骨转移组织比较组 (bone metastasis tissue group, BMTG),包括骨转移患者的肿瘤组织 ( $n=17$ ) 与癌旁正常组织 ( $n=6$ ); (2) 原发肿瘤比较组 (primary tumor group, PTG),包括原发肿瘤样本中的骨转移组 ( $n=17$ ) 与非骨转移组 ( $n=271$ )。BMTG 与 PTG 的后续分析流程图如图 3 所示。

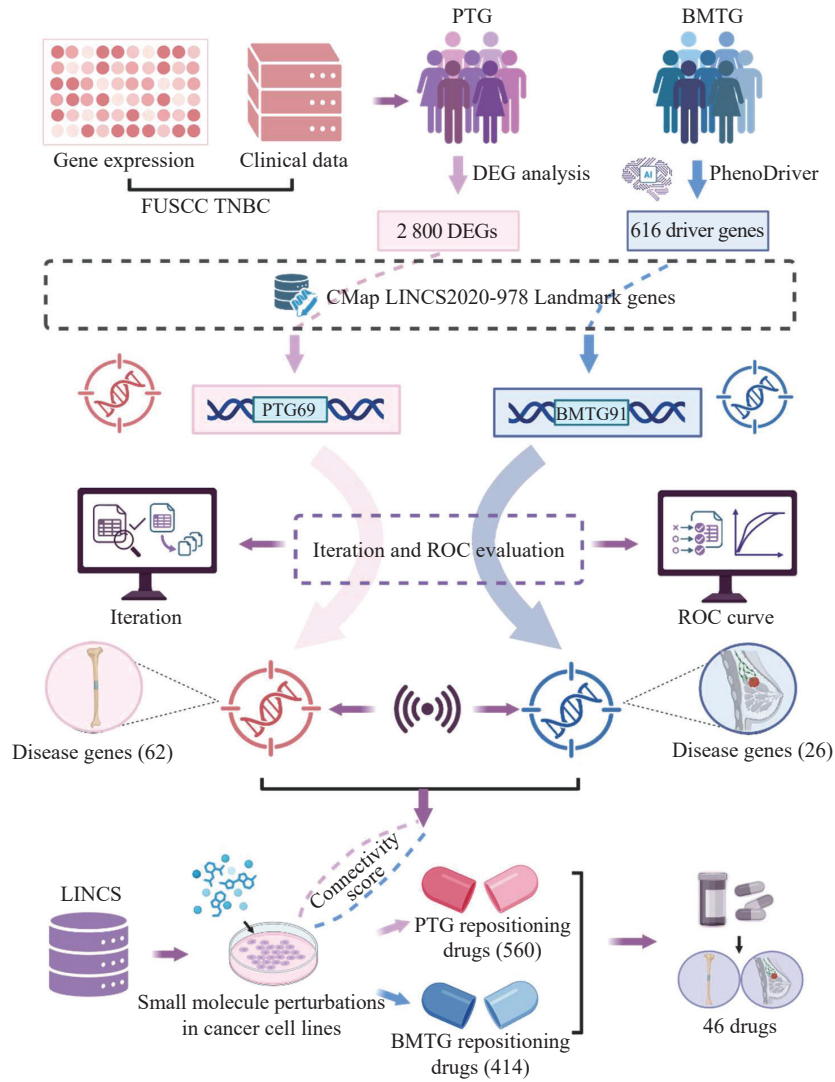


图3 BMTG与PTG的后续分析流程图

Fig 3 Flowchart of subsequent analysis of BMTG and PTG

A systematic screening, validation, and functional evaluation process based on BMTG and PTG was used to identify key genes and potential therapeutics closely related to TNBC bone metastasis. BMTG: Bone metastasis tissue group; PTG: Primary tumor group; TNBC: Triple-negative breast cancer; FUSCC: Fudan University Shanghai Cancer Center; DEG: Differentially expressed gene; AI: Artificial intelligence; CMap: Connectivity Map; ROC: Receiver operating characteristic; LINCS: Library of Integrated Network-Based Cellular Signatures.

2.2 AI识别BMTG与差异表达基因鉴定PTG后结合Landmark交集的疾病基因集构建 通过PhenoDriver的AI驱动基因推断模型,在BMTG中识别到616个高置信度的候选驱动基因。这些基因不仅反映了TNBC发生骨转移过程中的潜在关键上游调控异常,也为理解其分子机制提供了新的线索。对已鉴定的616个BMTG驱动基因与其差异表达基因进行交集分析,获得614个TNBC相关的差异表达驱动基因。进一步结合药物基因表达矩阵与对应注释信息,在处理时间为24 h、浓度为10 μmol/L的条件下筛选出符合标准的药物

表达谱,保留通过质量控制的药物表达谱。随后,将BMTG的614个差异表达驱动基因与LINCS数据库中的978个Landmark基因进行交集分析,最终获得91个BMTG疾病基因(BMTG91),其中上调基因62个、下调基因29个。对于PTG,基于FUSCC TNBC转录组数据进行分析,以 $P < 0.1$ 为阈值鉴定出2800个差异表达基因,同样与Landmark基因进行交集分析,最终获得69个PTG疾病基因(PTG69),其中上调基因55个、下调基因14个。

2.3 基于BMTG91/PTG69的核心疾病基因集筛选与性能评估 为筛选能够有效区分TNBC及骨

转移的核心疾病基因集,基于BMTG91和PTG69开展系统性分析,并在5个独立队列(FUSCC TNBC、TCGA-TNBC及GEO数据库的GSE38959、GSE65194、GSE65212数据集)中进行性能验证。在分析过程中,根据 $\log_2(FC)$ (FC为差异倍数)对BMTG91和PTG69基因集进行升序排列,并采用逐步累积上调基因数量的策略筛选核心疾病基因集。随后通过主成分分析对每一组基因进行降维,使用第一主成分作为分类指标,以ROC曲线AUC值评估不同规模基因集所构建模型的判别性能,并绘制AUC值随基因数量变化的趋势曲线。

在BMTG91分析中,将5个队列的ROC曲线分析结果整合,构建以基因数量( $n$ )为横坐标的综合性能矩阵。结果显示,随着上调基因数量的增加,模型分类性能持续提升,并在 $n=13$ 处达到最佳水平( $AUC=0.7515$ ,图4A),对骨转移TNBC患者的肿瘤组织与癌旁正常组织表现出最高的区分能力。基于此结果,从上调与下调基因中各选取13个差异最显著的基因,构建包含26个基因的BMTG核心疾病基因集。该基因集在多队列验证中均表现出稳定、显著的分类性能,在降低冗余的同时保留了关键疾病信号。

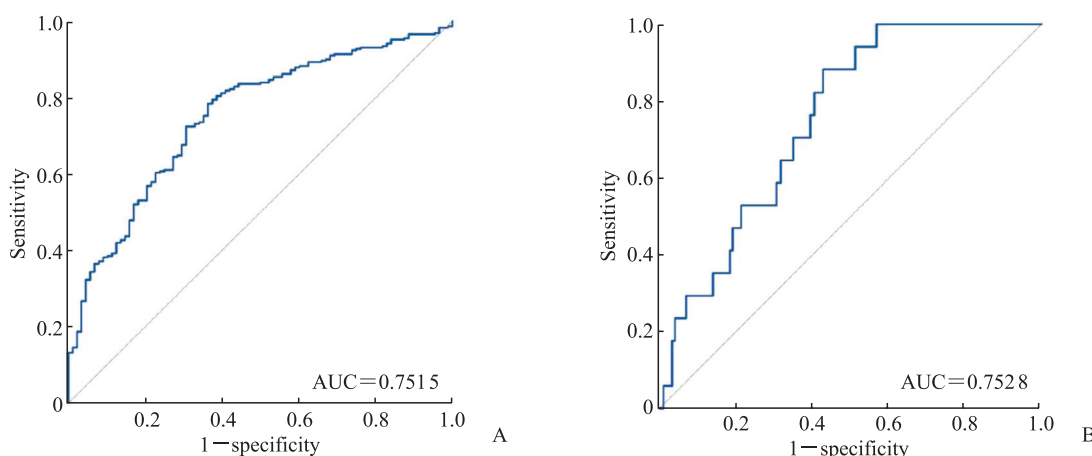


图4 最佳基因数模型在FUSCC TNBC队列中的ROC曲线

Fig 4 ROC curves of model with optimal number of genes in FUSCC TNBC cohort

BMTG (A, gene number=13) and PTG (B, gene number=48) both achieved the highest AUC values at their respective optimal number of upregulated genes. FUSCC: Fudan University Shanghai Cancer Center; TNBC: Triple-negative breast cancer; ROC: Receiver operating characteristic; BMTG: Bone metastasis tissue group; PTG: Primary tumor group; AUC: Area under curve.

在PTG69分析中,基于FUSCC TNBC队列数据进行ROC曲线验证,结果显示随着上调基因数量逐步增加,分类性能持续提升。当基因数量达到48个时,模型AUC值最高( $AUC=0.7528$ ,图4B),能够有效区分骨转移与非骨转移TNBC样本。基于此结果,最终选取48个上调基因及14个下调基因构建包含62个基因的PTG核心疾病基因集。

2.4 能够逆转PTG和BMTG相关转录特征的候选化合物鉴定 为解析BMTG和PTG核心疾病基因集分子特征的可逆性并识别潜在干预化合物,基于2个比较组疾病特征开展CMap分析。将上、下调基因集分别与药物扰动表达谱进行比对,并计算每种化合物的连通性得分以量化其对疾病相关表型

的逆转能力。将药物预测结果按照连通性得分的升序排列,由于连通性得分为负值表示药物与疾病特征基因表达模式呈反向相关性,因此排名靠前的药物被预测为最有可能逆转疾病相关基因表达变化的候选化合物。该排序策略优先筛选出具有最强潜在治疗或免疫调节作用的药物。

进一步利用Landmark基因集与LINCS药物诱导转录组数据,以BMTG与PTG疾病基因集作为参考计算药物-疾病的连通性得分。为确保结果的统计稳健性,构建10000次随机抽样的空分布以估计经验 $P$ 值与 $Q$ 值,并实施多重检验校正。在此基础上,筛选出具有统计学意义( $P<0.05$ )且效应方向相反(连通性得分 $<-0.600$ )的药物扰动实验,并对同一药物仅保留反向效应最强的实验(图5A)。

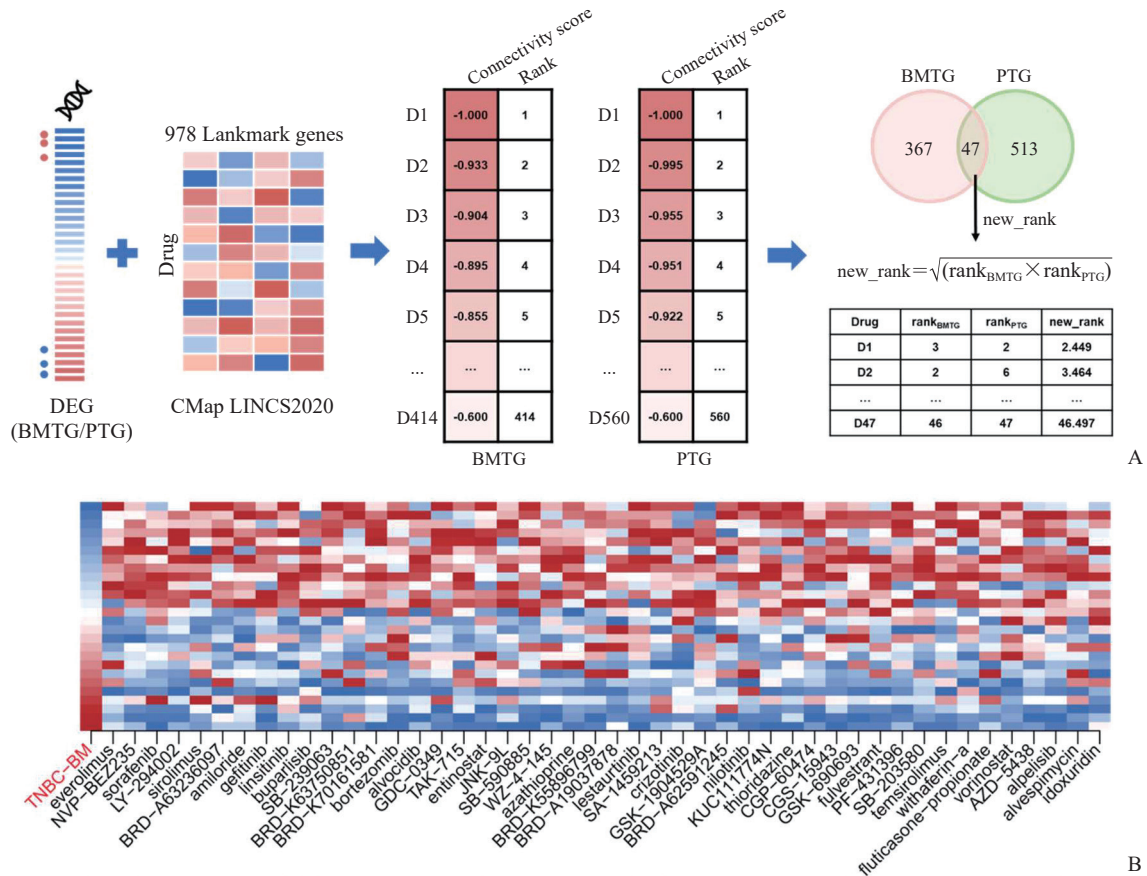


图5 药物发现流程与筛选出的双功能药物

Fig 5 Drug discovery process and the screened bifunctional drugs

A: CMap comprehensive ranking of candidate drugs. Drugs in the BMTG and PTG were ranked separately, and the intersection was taken to re-rank them based on new\_rank value. The smaller the new\_rank value, the greater the drug’s reversal potential. B: Heatmap of candidate drugs’ reversal potential against the TNBC-BM disease characteristics. The darker the color, the more significant the reversal effect. Drugs were arranged from left to right according to new\_rank value. D1, D2, ..., D560 represent the grouping IDs for candidate drugs. DEG: Differentially expressed gene; BMTG: Bone metastasis tissue group; PTG: Primary tumor group; CMap: Connectivity Map; TNBC: Triple-negative breast cancer; BM: Bone metastasis; LINCS: Library of Integrated Network-Based Cellular Signatures.

为识别在 BMTG 和 PTG 中均表现出一致治疗潜力的候选药物, 鉴定出 414 个与 BMTG 特征呈显著反向相关的候选化合物, 以及 560 个与 PTG 特征呈显著反向相关的化合物。通过交集分析获得 47 个在 2 个比较组中均具有逆转潜力的共同候选化合物。根据其在各自组内的相对排序结果, 分别赋予排序值 (rank<sub>BMTG</sub> 和 rank<sub>PTG</sub>)。为进一步整合 2 个比较组的分析结果, 定义综合排序指标 new\_rank 为

$$new\_rank = \sqrt{rank_{BMTG} \times rank_{PTG}}$$

该指标通过几何平均对 BMTG 与 PTG 的独立排序结果赋予同等权重, 使在 2 类表型中均表现突出的化合物获得更高的一致性评分, 从而增强候选药物优先级评估的稳定性与可信度。按 new\_rank 值进行升序排列, new\_rank 值越小代表逆转能力越强, 排名靠前的化合物具有较高的双靶点治疗潜力, 提

示其可能作用于 TNBC 进展及骨转移形成的核心调控轴。进一步行热图分析时, 考虑到同一药物在不同实验条件下可能对应多条记录, 本研究对重复药物进行整合并保留其作用最强的一条记录, 最终获得 46 种唯一候选化合物。热图分析结果显示, 46 种化合物所诱导的基因表达变化均与 TNBC 骨转移特征呈显著负相关 (图 5B), 再次表明预测的双功能药物可以逆转 TNBC-骨转移基因表达特征, 与分析预期完全一致。其中, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白抑制剂 everolimus 在综合评分中表现出最强的逆转作用。

2.5 双功能药物在细胞中的抑制作用评估 通过检索既往文献发现, 基于 CMap 分析获得的 46 个候选双功能药物中有 11 个尚未在 TNBC 或骨转移背景下被报道, 因而具有潜在的新药物价值。结合

药物数据库信息,依据化合物的商业可获得性筛选出能够用于实验验证的候选集合,并对这些可获得的化合物开展初步的体外功能评估,以验证其在TNBC相关表型中的干预潜力。在这些可获得的化合物中,SB-590885与PF-431396在多指标初筛中均展现出最为一致且显著的生物学效应,包括对细胞存活和增殖的抑制趋势,与预测的逆转方向高度一致。因此,这2种化合物被优先选择用于后续的

CCK-8实验和划痕实验,以进一步验证模型预测的可靠性及其潜在的治疗价值。

2.5.1 增殖抑制作用 对TNBC细胞系MDA-MB-231和TNBC骨转移细胞系MDA-BoM-1833分别采用不同浓度SB-590885和PF-431396处理48h,使用CCK-8方法检测细胞活力并计算IC<sub>50</sub>,结果显示SB-590885和PF-431396对2种细胞均有较好的增殖抑制作用,且呈现浓度依赖性(图6)。

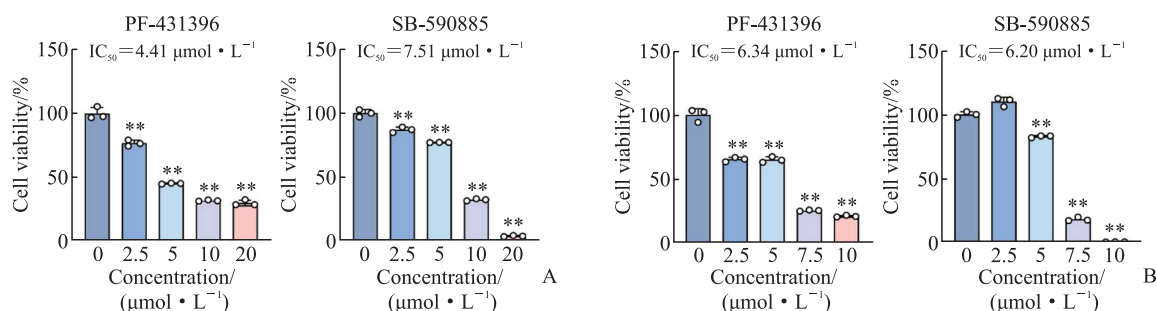


图6 2种候选化合物对MDA-MB-231细胞(A)和MDA-BoM-1833细胞(B)增殖的影响

Fig 6 Effects of 2 candidate compounds on proliferation of MDA-MB-231 cells (A) and MDA-BoM-1833 cells (B)

Cell viability was assessed using cell counting kit 8 assay. \*\**P*<0.01 vs control (0 μmol/L) group. *n*=3,  $\bar{x} \pm s$ . IC<sub>50</sub>: Half inhibitory concentration.

2.5.2 迁移抑制作用 对MDA-MB-231和MDA-BoM-1833细胞分别给予SB-590885和PF-431396处理并进行细胞划痕实验。结果显示,与对照组(0 μmol/L)相比,SB-590885和PF-431396处理24h均能抑制2种细胞向划痕区域迁移,且随着药物浓度的升高细胞迁移抑制作用增强(图7)。

### 3 讨论

本研究围绕TNBC高侵袭性及其骨转移这一重要临床难题,提出了一个融合驱动基因识别、疾病特征解析与药物基因表达逆转分析的AI驱动药物发现框架。通过构建BMTG和PTG驱动基因特征,获得包含26个基因的BMTG核心疾病基因集及包含62个基因的PTG核心疾病基因集,并结合LINCS药物扰动表达谱与CMap分析,最终获得46种潜在的双功能候选药物。值得注意的是,排名最高的everolimus已被既往研究证实可同时抑制TNBC生长与溶骨性骨转移<sup>[29]</sup>,在一定程度上验证了本研究策略的可靠性与临床相关性。此外,SB-590885和PF-431396在实验中表现出对TNBC细胞与骨转移细胞的剂量依赖性抑制作用,表明该综合筛选策略为TNBC及骨转移治疗提供了新的研究方向。

传统药物筛选多依赖单一差异表达基因或单一靶点策略,在肿瘤高度异质性与表型可塑性并存的背景下,往往存在疗效不稳定及耐药等问题<sup>[30]</sup>。已有研究指出,单基因或单靶点驱动的筛选方法难以全面反映肿瘤多层次、网络化的生物学特征,从而限制其预测能力和临床转化潜力<sup>[14]</sup>。因此,越来越多的研究从分子功能模块及网络关联层面评估药物效应,为多通路协同作用导向的药物筛选提供了新的思路<sup>[31]</sup>。本研究通过AI驱动的多队列一致性分析,并引入原发肿瘤特征及骨转移特征的双维度筛选框架,在一定程度上降低了样本异质性对TNBC骨转移研究的影响。同时,结合LINCS药物扰动谱的表达逆转模型,将药物筛选从单靶点层面拓展至系统网络调控层面,有助于提高筛选结果在不同数据集中的一致性和稳定性。这一策略与已有通过功能模块或通路活性表征药物效应以降低噪声的研究思路一致<sup>[32]</sup>。从更广泛的方法学视角来看,本研究通过整合驱动基因特征、疾病相关表达模式以及药物扰动响应信息,系统刻画药物对原发TNBC及骨转移相关分子特征的综合调控潜力。本质上,这一策略体现了一种“多功能协同”的系统调控思想,与近年来药物化学领域提出的“双功能分子”策略在理念上具有相通之处,即通过在单一

系中整合多重功能模块,以增强整体调控效率并克服单一靶点策略的局限性<sup>[33-34]</sup>。因此,该AI驱动

多特征整合框架为TNBC骨转移相关药物筛选提供了一种具有系统优势的研究思路。

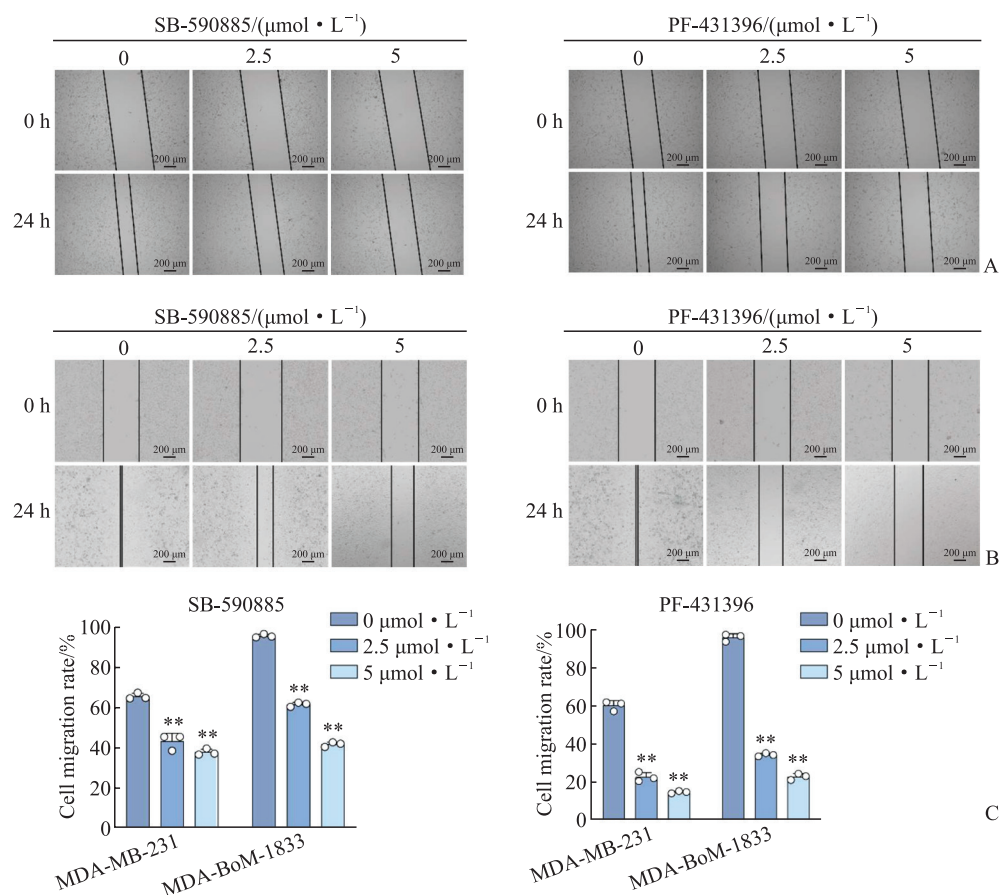


图7 2种候选化合物对MDA-MB-231细胞和MDA-BoM-1833细胞的迁移抑制作用

Fig 7 Migration-inhibiting effects of 2 candidate compounds on MDA-MB-231 cells and MDA-BoM-1833 cells

Cell migration was evaluated using scratch wound healing assay. A: Representative images showing wound closure in MDA-MB-231 cells following 24 h treatment with SB-590885 or PF-431396; B: Representative images showing wound closure in MDA-BoM-1833 cells following 24 h treatment with SB-590885 or PF-431396; C: Quantitative analysis of cell migration rate. **\*\****P*<0.01 vs control (0 μmol/L) group. *n*=3,  $\bar{x} \pm s$ .

既往研究表明,在同一干预体系中整合多种作用机制,有助于提升抗肿瘤疗效并缓解耐药性,例如双功能抗体或融合蛋白通过同时介入肿瘤靶向与免疫调节达到协同作用<sup>[35-36]</sup>。本研究所采用的系统性筛选策略在理念上与此相通,即通过整合多维疾病特征识别具有综合调控潜力的候选药物。本研究筛选的候选药物中,SB-590885是B-Raf原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(B-Raf proto-oncogene serine/threonine kinase, BRAF)抑制剂,其靶向的BRAF-MAPK信号通路在TNBC中普遍呈现高活化状态<sup>[37-39]</sup>;PF-431396是黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)/富含脯氨酸的酪氨酸激酶2(proline-rich tyrosine kinase 2, Pyk2)抑制剂<sup>[40]</sup>,

可干预骨微环境相关细胞黏附与迁移的关键过程。上述研究结果表明SB-590885和PF-431396在靶向TNBC及骨转移相关通路上具有生物学合理性,同时也为本研究所构建筛选框架的生物学合理性提供了机制层面的支持。

本研究在计算预测与体外实验层面获得初步验证,但仍存在一定局限性:(1)本研究中“双功能”概念主要用于描述候选药物在分子特征层面及体外表型层面对原发TNBC与骨转移相关特征的同步调控作用,并不等同于对肿瘤骨转移全过程(如迁移、定植及骨重塑等动态过程)的直接刻画,其临床意义仍有待进一步系统验证。(2)目前的实验验证主要基于TNBC细胞系及骨转移衍生株的体

外活性检测,尚未在动物模型中系统评估候选药物对原发肿瘤生长、骨转移负荷及骨微环境重塑的综合影响。后续仍需通过原位或骨转移动物模型,对其体内疗效与安全性进行验证。(3) 候选药物的毒性特征、靶向特异性及潜在治疗窗口仍需谨慎评估。其中,SB-590885尚缺乏系统的临床毒性数据,但作为选择性BRAF抑制剂,其安全性可参考同类药物的既往研究。已有研究表明,BRAF抑制剂可能由于MAPK/ERK信号在正常上皮细胞及免疫细胞中的生理作用,会引发皮肤毒性、关节不适、疲劳及通路旁路激活等不良反应<sup>[41-42]</sup>。PF-431396靶向的FAK/Pyk2信号轴亦参与骨稳态及免疫调控,其系统性抑制可能产生非靶向效应<sup>[43-44]</sup>。这提示上述候选药物在临床转化过程中仍需在疗效与安全性之间取得平衡。此外,当前分析未探讨候选药物在联合治疗中的协同效应,也未直接整合药代动力学与毒理学信息。基于分子网络的药物重定位策略可在系统层面揭示药物与疾病相关通路之间的潜在关联,为候选药物的功能预测提供计算依据<sup>[45]</sup>。未来可在此基础上结合多组学数据与分子网络分析,构建更全面的药物评价体系,从而进一步提升筛选结果的临床相关性。

尽管存在上述局限,从更广泛的生物医学研究视角来看,多功能整合已被证明是一种有效的系统调控策略。“双功能”理念在材料科学、药物递送及生物工程等领域已得到广泛应用<sup>[46-48]</sup>,本研究在药物筛选层面引入该思想,为同时刻画原发肿瘤与转移灶相关特征提供了方法学参考。

综上所述,本研究提出了一种AI驱动的双功能药物发现策略,通过驱动基因识别、跨数据集一致性分析及药物基因表达逆转模型,为TNBC骨转移治疗提供了新的候选药物与研究思路。随着多组学数据及药物扰动数据库的不断完善,该策略有望扩展至其他肿瘤类型及复杂转移模型,为精准治疗策略研究提供支持。

#### [参考文献]

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263. DOI: 10.3322/caac.21834.
- [2] 莫森,王泽洲,郑莹,等. 2022年全球及中国乳腺癌流

- 行病学特征分析[J]. *海军军医大学学报*, 2025, 46(4): 497-503. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20240649.
- [3] SIEGEL R L, KRATZER T B, GIAQUINTO A N, et al. Cancer statistics, 2025[J]. *CA Cancer J Clin*, 2025, 75(1): 10-45. DOI: 10.3322/caac.21871.
- [4] HARBECK N, PENAULT-LLORCA F, CORTES J, et al. Breast cancer[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 66. DOI: 10.1038/s41572-019-0111-2.
- [5] WEILBAECHER K N, GUISE T A, MCCAULEY L K. Cancer to bone: a fatal attraction[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(6): 411-425. DOI: 10.1038/nrc3055.
- [6] 刘柳,张娜贤,李刚,等. 外泌体miR-21及miR-184与乳腺癌骨转移的相关性[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2020, 34(8): 763-767. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2020.08.003.
- [7] BAA A K, NAIK R D, VANIDASSANE I, et al. Unusual gastric metastasis in triple-negative (estrogen receptor/progesterone receptor/HER2neu negative) GATA-binding protein 3-positive breast cancer[J]. *Indian J Nucl Med*, 2020, 35(1): 82-83. DOI: 10.4103/ijnm.IJNM\_156\_19.
- [8] LEON-FERRE R A, GOETZ M P. Advances in systemic therapies for triple negative breast cancer[J]. *BMJ*, 2023, 381: e071674. DOI: 10.1136/bmj-2022-071674.
- [9] 进淑娟,刘晓静,孟迪,等. PD-1抑制剂在三阴性乳腺癌新辅助治疗中的疗效及影响因素[J]. *海军军医大学学报*, 2025, 46(9): 1217-1222. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20250143.
- [10] LIU X, ZHANG G, YU T, et al. Exosomes deliver lncRNA DARS-AS1 siRNA to inhibit chronic unpredictable mild stress-induced TNBC metastasis[J]. *Cancer Lett*, 2022, 543: 215781. DOI: 10.1016/j.canlet.2022.215781.
- [11] 夏坤健,王琳,唐娜,等. 三阴性乳腺癌患者新辅助化疗后行保乳手术的可行性分析[J]. *海军军医大学学报*, 2025, 46(1): 141-146. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20230307.
- [12] RATHORE D, JAIN S, PATEL S, et al. MicroRNA-driven organ-specific metastasis in triple-negative breast cancer: biogenesis, mechanisms, and therapeutic approaches[J]. *Med Oncol*, 2025, 42(8): 296. DOI: 10.1007/s12032-025-02846-7.
- [13] 中国抗癌协会骨肿瘤和骨转移瘤专业委员会. 乳腺癌骨转移临床诊疗专家共识[J]. *中国肿瘤临床*, 2022, 49(13): 660-669. DOI: 10.12354/j.issn.1000-8179.2022.20211783.
- [14] IWALOYE O, OTTU P O, OLAWALE F, et al. Computer-aided drug design in anti-cancer drug discovery: what have we learnt and what is the way forward? [J]. *Inform Med Unlocked*, 2023, 41: 101332. DOI: 10.1016/j.imu.2023.101332.

- [15] GARG P, SINGHAL G, KULKARNI P, et al. Artificial intelligence-driven computational approaches in the development of anticancer drugs[J]. *Cancers (Basel)*, 2024, 16(22): 3884. DOI: 10.3390/cancers16223884.
- [16] 《人工智能辅助乳腺结节超声管理专家共识》制定小组. 人工智能辅助乳腺结节超声管理专家共识[J]. *海军军医大学学报*, 2026, 47(1): 19-27. DOI: 10.16781/j.cn31-2187/R.20250610.
- [17] 吴柯廷, 赵海潮. 以肿瘤新抗原为核心的肿瘤免疫疗法: 从分子机制到人工智能辅助抗原鉴定和TCR识别[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2025, 32(10): 993-1009. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.10.001.
- [18] 杨雪婷, 杜宇, 刁雪红, 等. 常规超声联合超声造影与人工智能在乳腺结节良恶性鉴别中的诊断效能对比研究[J]. *海军军医大学学报*, 2026, 47(1): 53-60. DOI: 10.16781/j.cn31-2187/R.20250575.
- [19] WANG L, SONG Y, WANG H, et al. Advances of artificial intelligence in anti-cancer drug design: a review of the past decade[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(2): 253. DOI: 10.3390/ph16020253.
- [20] JIANG Y Z, MA D, SUO C, et al. Genomic and transcriptomic landscape of triple-negative breast cancers: subtypes and treatment strategies[J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(3): 428-440.e5. DOI: 10.1016/j.ccell.2019.02.001.
- [21] Cancer Genome Atlas Research Network, WEINSTEIN J N, COLLISSON E A, et al. The Cancer Genome Atlas Pan-cancer Analysis Project[J]. *Nat Genet*, 2013, 45(10): 1113-1120. DOI: 10.1038/ng.2764.
- [22] KOMATSU M, YOSHIMARU T, MATSUO T, et al. Molecular features of triple negative breast cancer cells by genome-wide gene expression profiling analysis[J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(2): 478-506. DOI: 10.3892/ijo.2012.1744.
- [23] MAIRE V, NÉMATI F, RICHARDSON M, et al. Polo-like kinase 1: a potential therapeutic option in combination with conventional chemotherapy for the management of patients with triple-negative breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(2): 813-823. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2633.
- [24] CHEN B, GREENSIDE P, PAIK H, et al. Relating chemical structure to cellular response: an integrative analysis of gene expression, bioactivity, and structural data across 11, 000 compounds[J]. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 2015, 4(10): 576-584. DOI: 10.1002/psp4.12009.
- [25] VIDOVIĆ D, KOLETI A, SCHÜRER S C. Large-scale integration of small molecule-induced genome-wide transcriptional responses, Kinome-wide binding affinities and cell-growth inhibition profiles reveal global trends characterizing systems-level drug action[J]. *Front Genet*, 2014, 5: 342. DOI: 10.3389/fgene.2014.00342.
- [26] BARRETINA J, CAPONIGRO G, STRANSKY N, et al. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity[J]. *Nature*, 2012, 483(7391): 603-607. DOI: 10.1038/nature11003.
- [27] LI Y, ZHANG S W, XIE M Y, et al. PhenoDriver: interpretable framework for studying personalized phenotype-associated driver genes in breast cancer[J]. *Brief Bioinform*, 2023, 24(5): bbad291. DOI: 10.1093/bib/bbad291.
- [28] LAMB J, CRAWFORD E D, PECK D, et al. The Connectivity Map: using gene-expression signatures to connect small molecules, genes, and disease[J]. *Science*, 2006, 313(5795): 1929-1935. DOI: 10.1126/science.1132939.
- [29] SIMONE V, CIAVARELLA S, BRUNETTI O, et al. Everolimus restrains the paracrine pro-osteoclast activity of breast cancer cells[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 692. DOI: 10.1186/s12885-015-1717-8.
- [30] DOOSTMOHAMMADIA, JOOYA H, GHORBANIAN K, et al. Potentials and future perspectives of multi-target drugs in cancer treatment: the next generation anti-cancer agents[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 228. DOI: 10.1186/s12964-024-01607-9.
- [31] TIAN S, LI Y, XU J, et al. COIMMR: a computational framework to reveal the contribution of herbal ingredients against human cancer via immune microenvironment and metabolic reprogramming[J]. *Brief Bioinform*, 2023, 24(6): bbad346. DOI: 10.1093/bib/bbad346.
- [32] TIAN S, LIAO X, CAO W, et al. GSFM: a genome-scale functional module transformation to represent drug efficacy for in silico drug discovery[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2025, 15(1): 133-150. DOI: 10.1016/j.apsb.2024.08.017.
- [33] 段海婷, 李林洁, 董晓武, 等. 基于蛋白降解靶向嵌合体/免疫调节药物的双功能降解剂研究进展[J]. *药学进展*, 2025, 49(7): 514-523. DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.202505300346.
- [34] 郭宗儒. 药物化学视角的双功能分子[J]. *药学报*, 2024, 59(10): 2677-2696. DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0529.
- [35] 李锋, 黎晓维, 沈倍奋. 双功能抗体药物研究进展[J]. *中国医药生物技术*, 2014, 9(4): 291-293. DOI: 10.3969/cmba.j.issn.1673-713X.2014.04.009.
- [36] 李君, 王学浩, 王小明. 抗乳腺癌导向药物-人源化抗p185单链抗体/hIL-2双功能融合蛋白的制备[J]. *武警医学*, 2003, 14(7): 387-389. DOI: 10.14010/j.cnki.wjyx.2003.07.002.
- [37] 李飞. SB-590885合成工艺的优化研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2019.

- [38] 黄朋越,朱雄,赵永利,等. SB-590885 的合成工艺研究[J]. 化学研究与应用,2020,32(6):1094-1099. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1656.2020.06.029.
- [39] KING A J, PATRICK D R, BATORSKY R S, et al. Demonstration of a genetic therapeutic index for tumors expressing oncogenic *BRAF* by the kinase inhibitor SB-590885[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(23): 11100-11105. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2554.
- [40] CHEN J J, ZHANG L N, WANG H N, et al. FAK inhibitor PF-431396 suppresses IgE-mediated mast cell activation and allergic inflammation in mice[J]. *Biochem Pharmacol*, 2021, 192: 114722. DOI: 10.1016/j.bcp.2021.114722.
- [41] HOLDERFIELD M, DEUKER M M, MCCORMICK F, et al. Targeting RAF kinases for cancer therapy: *BRAF*-mutated melanoma and beyond[J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(7): 455-467. DOI: 10.1038/nrc3760.
- [42] SAMATAR A A, POULIKAKOS P I. Targeting RAS-ERK signalling in cancer: promises and challenges[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(12): 928-942. DOI: 10.1038/nrd4281.
- [43] SATO T, VERMA S, ANDRADE C D C, et al. A FAK/HDAC5 signaling axis controls osteocyte mechanotransduction[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3282. DOI: 10.1038/s41467-020-17099-3.
- [44] MURPHY J M, JEONG K, RODRIGUEZ Y A R, et al. FAK and Pyk2 activity promote TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ -mediated pro-inflammatory gene expression and vascular inflammation[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 7617. DOI: 10.1038/s41598-019-44098-2.
- [45] TIAN S, XU M, GENG X, et al. Network medicine-based strategy identifies maprotiline as a repurposable drug by inhibiting PD-L1 expression via targeting SPOP in cancer[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, 12(1): e2410285. DOI: 10.1002/adv.202410285.
- [46] 杨仁龙. 双功能型MONOLITH材料的制备及其在重组蛋白质药物分离、提纯和定点修饰方面的应用[D]. 镇江:江苏大学,2021.
- [47] 秦丽. 基于纤维素纳米晶核双功能靶向纳米药物递送系统的构建及其评价[D]. 郑州:郑州大学,2021.
- [48] 郭利成,曹雪玮,傅龙云,等. 一种用于药物蛋白亲和纯化和跨膜转运的双功能标签的开发[J]. *中国生物工程杂志*, 2020, 40(6):40-52. DOI: 10.13523/j.cb.2001036.

[本文编辑] 孙岩