

陶涛,汪国文,李其才,等. 人参皂苷 Rg3 通过 TGF- β 1/ERK 信号通路调控原位荷瘤人肺癌裸鼠的淋巴管生成的机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(11): 34-40.

Tao T, Wang GW, Li QC, et al. Mechanism of ginsenoside Rg3 regulation of lymphangiogenesis in nude mice bearing human lung cancer by the TGF- β 1/ERK signaling pathway [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(11): 34-40.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019. 11. 006

人参皂苷 Rg3 通过 TGF- β 1/ERK 信号通路调控原位荷瘤人肺癌裸鼠的淋巴管生成的机制

陶 涛,汪国文*,李其才,黎传奎

(蚌埠医学院第一附属医院,安徽 蚌埠 233004)

【摘要】 目的 探究人参皂苷 Rg3(GS-Rg3)通过转化生长因子- β 1(TGF- β 1)/细胞外调节蛋白激酶(ERK)信号通路调控原位荷瘤人肺癌裸鼠淋巴管生成的机制。**方法** 60 只裸鼠随机分为 3 组,即模型组、GS-Rg3 组和 ERK 抑制剂(SCH772984)组。GS-Rg3 组和 SCH772984 组建立人肺癌裸鼠原位移植模型,GS-Rg3 组小鼠使用 GS-Rg3 灌胃,SCH772984 组小鼠腹腔注射 ERK 抑制剂 SCH772984。观察各组小鼠建模和淋巴转移情况。并分析各组肿瘤组织中淋巴管生成情况、TGF- β 1/ERK 信号通路以及血管内皮生长因子(VEGF)表达情况。**结果** HE 染色病理学检查证实肺癌以及肺癌淋巴转移。GS-Rg3 组和 SCH772984 组小鼠出现淋巴转移的比例、肿瘤体积和肿瘤质量均显著低于模型组,GS-Rg3 组和 SCH772984 组无显著差异。使用 podoplanin 蛋白标记淋巴管,GS-Rg3 组和 SCH772984 组 podoplanin 蛋白表达水平和淋巴管相对密度显著低于模型组,GS-Rg3 组和 SCH772984 组无显著差异。GS-Rg3 和 SCH772984 可以显著抑制 TGF- β 1/ERK 通路的激活。GS-Rg3 组和 SCH772984 组的 VEGF-C、VEGF-3 表达水平较模型组低,GS-Rg3 组和 SCH772984 组无显著差异。**结论** GS-Rg3 可以通过下调 TGF- β 1/ERK 信号通路的转导水平抑制 VEGF-C、VEGF-3 蛋白的表达,从而抑制淋巴管的生成降低肺癌的淋巴转移率,其作用水平与 SCH772984 相似。

【关键词】 肺癌;人参皂苷 Rg3;转化生长因子- β 1/细胞外调节蛋白激酶;淋巴管生成;血管内皮生长因子;裸鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 11-0034-07

Mechanism of ginsenoside Rg3 regulation of lymphangiogenesis in nude mice bearing human lung cancer by the TGF- β 1/ERK signaling pathway

TAO Tao, WANG Guowen*, LI Qicai, LI Chuankui

(First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China)

【 Abstract 】 Objective To investigate the mechanism of ginsenoside Rg3 (GS-Rg3) regulation of lymphangiogenesis in nude mice bearing human lung cancer by the transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)/extracellular regulatory protein kinase (ERK) signaling pathway. **Methods** Sixty nude mice were randomly divided into three groups: model group, GS-Rg3 group and SCH772984 group. The orthotopic transplantation model of human lung cancer in nude

[作者简介] 陶涛 (1986—),男,住院医师,研究方向:普胸外科疾病。E-mail: jingqiao4242915@ 163.com

[通信作者] 汪国文 (1979—),男,副主任医师,研究方向:肺癌。E-mail: 33430687@ qq.com

mice was established in the GS-Rg3 and SCH772984 groups. The GS-Rg3 mice were gavaged with GS-Rg3. Mice in the SCH772984 group were intraperitoneally injected with the ERK inhibitor SCH772984. Modeling and lymphatic metastasis of each group of mice were observed. Lymphangiogenesis, TGF- β 1/ERK signaling pathway and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in tumor tissues of each group were analyzed. **Results** Pathological examination using HE staining confirmed the lung cancer and its lymphatic metastasis. The proportion of lymphatic metastasis, tumor volume and tumor mass in the GS-Rg3 group and the SCH772984 group were significantly lower than those in the model group. There was no significant difference between the GS-Rg3 group and the SCH772984 group. Podoplanin protein expression level and relative density of lymphatic vessels were significantly lower in the GS-Rg3 group and the SCH772984 group than in the model group when using the podoplanin protein to label lymphatic vessels. There was no significant difference between the GS-Rg3 group and the SCH772984 group. GS-Rg3 and SCH772984 significantly inhibited activation of the TGF- β 1/ERK pathway. The expression levels of VEGF-C and VEGF-3 in the GS-Rg3 group and the SCH772984 group were lower than those in the model group. There was no significant difference between the GS-Rg3 group and the SCH772984 group. **Conclusions** GS-Rg3 can inhibit the expressions of VEGF-C and VEGF-3 by downregulating the transduction level of the TGF- β 1/ERK signaling pathway, thereby inhibiting lymphangiogenesis and reducing the lymphatic metastasis rate of lung cancer.

【Keywords】 lung cancer; GS-Rg3; TGF- β 1/ERK; lymphangiogenesis; vascular endothelial growth factor; nude mouse

人参在我国具有悠久的历史,在抗肿瘤中也具有一定的功效,人参皂苷 Rg3(GS-Rg3)是一种从中药人参中提取的固醇类中药单体,具有多种生物学活性,包括对于肿瘤,GS-Rg3 具有抑制其增殖、促进细胞凋亡的作用,但是关于其具体机制尚不明确^[1]。最近有研究显示 GS-Rg3 也具有抑制淋巴管生成的作用,肿瘤细胞通过淋巴管进入淋巴结是肺癌淋巴转移的主要方式之一,有研究发现转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1,TGF- β 1)/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases,ERK)在肿瘤中过表达,发挥促增殖的作用,TGF- β 1/ERK 可以促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)的表达从而促进管生成^[2-3]。SCH772984 是一种新型特异性的 ERK 抑制剂,广泛应用于 ERK 相关信号通路的研究。因此本文主要分析人参皂苷 GS-Rg3 对荷瘤人肺癌裸鼠淋巴管生成的机制,并研究其对肿瘤组织 TGF- β 1/ERK 通路以及 VEGF 表达的影响,分析 GS-Rg3 的作用机制,为 GS-Rg3 在临床治疗肺癌提供理论依据和新的思路。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

4~5 周龄(体重 14 g~17 g)的 SPF 级 BALB/c 无胸腺雄性裸鼠 60 只,均购自华东师范大学科学实验动物中心闵行校区[SCXK(沪)2016-0004],饲养于

华东师范大学科学实验动物中心闵行校区[SYXK(沪)2015-0011]的独立通风笼盒中。

1.1.2 细胞系

人肺癌 A549 细胞购自 ATCC(美国)。

1.2 主要试剂与仪器

RPM1-1640 培养基以及胎牛血清等培养试剂购自 Gibco(美国);戊巴比妥购自 Sigma 公司(美国);GS-Rg3 购自齐一生物科技公司(中国,上海);ERK 抑制剂 SCH772984 购自 Selleck 公司;HE 染色试剂盒购自武汉华美公司(中国);逆转录试剂盒和 SYBR Prellix Ex TaqTM 实时 PCR 试剂盒购自 TaKaRa(日本);抗体 TGF- β 1、ERK、p-ERK、podoplanin、VEGF-C、VEGF-3 以及相关二抗均来自 Abcam 公司(美国);PVDF 膜(Bio-Rad,美国);PCR 引物由 Genewiz(中国)设计和合成。显微镜 Nikon(日本)。

1.3 实验方法

1.3.1 荷瘤裸鼠分组、建模及干预方法

将 60 只小鼠随机分为 3 组,各 20 只,即模型组、GS-Rg3 组和 ERK 抑制剂 SCH772984 组(以下简称为 SCH772984 组)。根据文献^[4]建立人肺癌裸鼠原位移植模型,将生长良好的 A549 细胞分裂并在新鲜培养基中再生长一天,皮下注射全部小鼠,注射细胞数为 5×10^6 个,待瘤体生长至 10 mm 使剥离瘤体移植至模型组、GS-Rg3 组和 SCH772984 组的小鼠肺组织。GS-Rg3 组小鼠在移植后第 3 天使用 GS-Rg3 灌胃,每只 0.8 mg/kg, SCH772984 组小鼠移植后第 3 天腹腔注射 SCH772984,每只 12.5

mg/kg,每 3 d 一次,饲养 28 d 后处死小鼠进行检验。实验过程遵循 3R 原则,并通过蚌埠医学院第一附属医院实验动物使用与管理委员会批准(H 2017123546)。

1.3.2 肿瘤生长情况以及病理学检查

戊巴比妥腹腔注射(60 mg/kg)麻醉后处死大鼠,打开胸腔,观察肺癌生长和转移情况,并取出肺组织,测量肿瘤体积,使用 HE 染色检测肺组组织学变化,按照试剂盒说明书操作。

1.3.3 免疫组化染色

肺癌原位移植瘤组织用甲醛和石蜡固定,将切片(4.0 μm)脱石蜡并再水合,抑制内源性过氧化物酶活性,首先封闭切片并在 4℃ 下用 VEGF-C、VEGF-3 或 podoplanin 抗体孵育过夜,然后在室温下与生物素化的抗小鼠 IgG 孵育 30 min,随后染色,显微镜观察,根据文献报道的方法^[5] 计算淋巴管密度。

1.3.4 qPCR

qPCR 用于检测肺癌原位移植瘤组织中 mRNA 水平,组织裂解后收集总 mRNA,通过 95℃ 激活 DNA 聚合酶 5 min 进行 PCR,然后进行 40 个循环的两步 PCR(95℃,10 s 和 60℃,30 s),最终 75℃ 延伸 10 min,保持在 4℃,GAPDH 作为内参,使用 2^{-ΔΔCT} 法分析 mRNA 水平。

1.3.5 Western blot

使用 Western blot 检测肺癌原位移植瘤组织中蛋白水平。在液氮的保护下裂解组织,在 12 000 r/min,4℃ 离心 15 min 收集上清液,使用 BCA 方法确

定蛋白质浓度。使用 10% 的 SDS-PAGE 凝胶用于电泳,电泳后使用 PVDF 膜转膜并在室温下用 5% 无脂牛奶封闭 2 h。加入一抗室温震荡 2 h,后在 4℃ 孵育过夜,加入二抗。使用 GAPDH 作为内参。

1.4 统计学方法

所有实验数据均以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。统计分析使用 SPSS 19(SPSS, Inc., Chicago, IL, USA)。计量资料进行单因素方差分析(ANOVA)以评估实验组之间的差异,组间两两比较采用 *t* 检验;计数资料进行卡方分析。*P* < 0.05 表示差异有显著性。

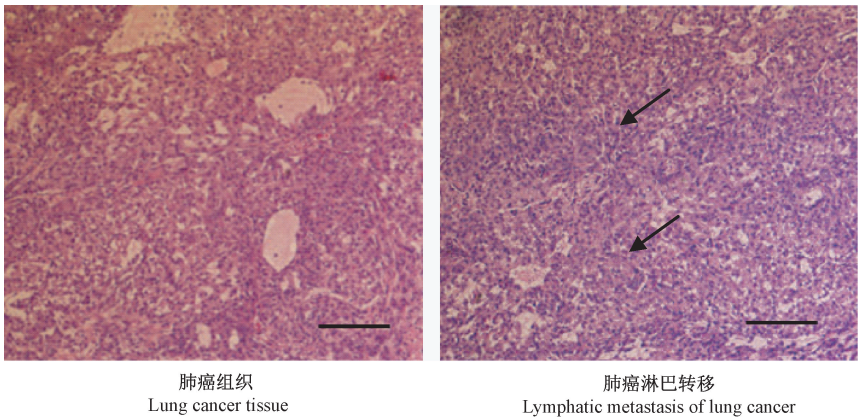
2 结果

2.1 建模及干预情况

模型组和各干预组小鼠肺癌模型均建立成功,并通过 HE 染色病理检查证实肺癌以及肺癌淋巴转移,见图 1。干预后 21 d 模型组小鼠死亡 1 只,其余小鼠无死亡。GS-Rg3 组和 SCH772984 组小鼠出现淋巴转移的比例、肿瘤体积和肿瘤质量均显著低于模型组,GS-Rg3 组和 SCH772984 组无显著差异,见表 1。

2.2 各组淋巴微管着色情况比较

本次研究使用 podoplanin 蛋白标记淋巴管,图 2 中褐色为 podoplanin 染色,可用于反映淋巴管生长情况。结果显示 GS-Rg3 组和 SCH772984 组 podoplanin 蛋白表达水平和淋巴管相对密度显著低于模型组,而 GS-Rg3 组和 SCH772984 组无显著差异,其免疫组化染色结果见图 2、表 2。



注:箭头指示淋巴转移。标尺=100 μm。

图 1 HE 染色检测肺癌组织和肺癌淋巴转移组织

Note. Arrows indicate lymph node metastasis. Bars = 100 μm.

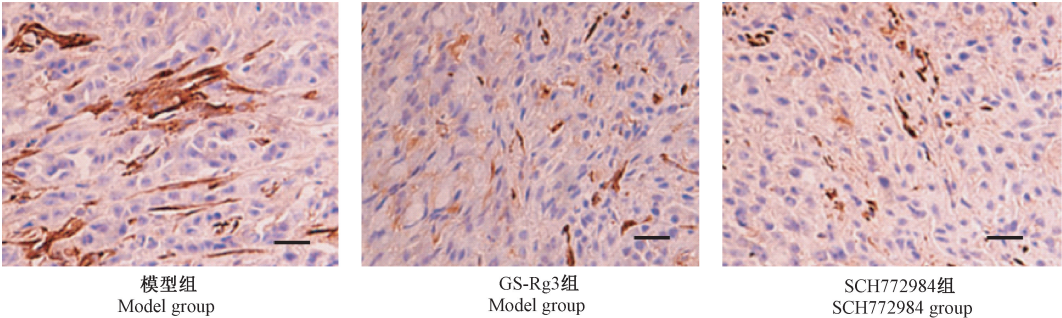
Figure 1 Pathological images of lung tissue and lymphatic metastasis of lung cancer. HE staining

表 1 各组小鼠淋巴转移情况和肺肿瘤体积比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of lymphatic metastases and lung tumor volumes of the mice in each group

组别 Groups	<i>n</i>	淋巴转移个数及百分比 Number and percentage of lymphatic metastases	肿瘤体积(mm ³) Tumor volume	肿瘤质量(g) Tumor mass
模型组 Model group	19	15(78.95%)	583.43±18.54	0.72±0.21
GS-Rg3 组 GS-Rg3 group	20	7(35.00%) **	302.93±17.51 **	0.29±0.17 **
SCH772984 组 SCH772984 group	20	5(25.00%) **	231.45±14.25 **	0.21±0.14 **

注:与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。
Note. Compared with the model group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.



注:箭头所示褐色为 podoplanin 染色。标尺=20 μm 。

图 2 免疫组化染色检测肿瘤组织中 podoplanin 蛋白表达水平和淋巴管生长情况

Note. Arrows indicate the staining of podoplanin protein. Bars=20 μm .

Figure 2 Podoplanin protein expression and lymphangiogenesis in tumor tissues. Immunohistochemical staining

表 2 各组小鼠 podoplanin 蛋白表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Expression levels of podoplanin protein of the mice in each group

组别 Groups	<i>n</i>	Podoplanin 蛋白表达水平 Expression levels of podoplanin protein
模型组 Model group	19	5.33±2.01
GS-Rg3 组 GS-Rg3 group	20	4.01±1.93 *
SCH772984 组 SCH772984 group	20	3.89±1.77 *

注:与模型组比较, * $P<0.05$ 。
Note. Compared with the model group, * $P<0.05$.

2.3 各组 TGF- β 1/ERK 通路表达水平比较

GS-Rg3 组和 SCH772984 组可以显著抑制 TGF- β 1 和 ERK mRNA 的表达,并且 GS-Rg3 组和 SCH772984 组的 p-ERK/ERK 水平显著低于模型组,而 GS-Rg3 组和 SCH772984 组无显著差异,说明 GS-Rg3 可抑制 TGF- β 1/ERK 通路的激活,见表 3 和图 3。

2.4 各组肿瘤组织中 VEGF-C、VEGF-3 表达水平比较

免疫组化检测结果显示 GS-Rg3 和 SCH772984 的 VEGF-C、VEGF-3 表达水平较模型组低,而 GS-Rg3 组和 SCH772984 组无显著差异,见图 4、图 5 和表 4。

表 3 各组小鼠 TGF- β 1、ERK mRNA 和蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of mRNA and protein expression levels of TGF- β 1 and ERK of the mice in each group

组别 Groups	mRNA		蛋白 Proteins	
	TGF- β 1	ERK	TGF- β 1	p-ERK/ERK
模型组 Model group	4.62±0.36	4.36±0.32	4.89±0.31	0.24±0.03
GS-Rg3 组 GS-Rg3 group	2.49±0.31 **	2.55±0.27 **	2.95±0.28 **	0.11±0.02 **
SCH772984 组 SCH772984 group	4.71±0.34	1.63±0.12 **	4.87±0.27	0.07±0.01 **

注:与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。
Note. Compared with the model group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

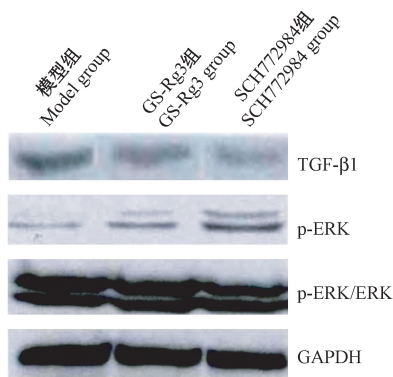


图 3 Western blot 检测各组小鼠中 TGF-β1、p-ERK 和 ERK 蛋白水平

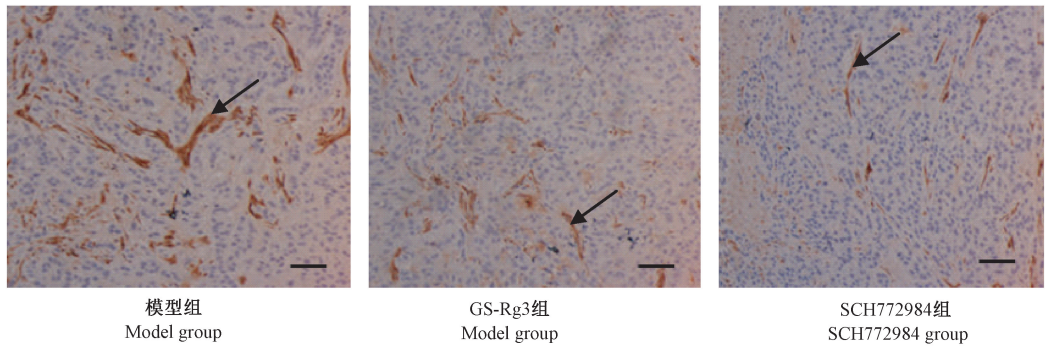
Figure 3 Western blot analysis of TGF-β1, p-ERK and ERK protein levels of the mice in each group

3 讨论

肺癌的发病率及病死率均高居首位,调查显示 2015 年我国肺癌新发病例数达到 73.3 万,死亡病

例高达 61 万,并且其发病率和死亡率仍呈现上升趋势^[6]。虽然随着新的激酶抑制剂药物、放疗新方法被不断应用于临床,肺癌患者的短期疗效有了显著的提升,但是肺癌的复发率和转移情况仍未得到显著的改善,并且对于化疗药物的耐药问题仍未得到有效的解决^[6]。

中药在治疗肿瘤中取得了一定的进展,可能成为治疗肺癌的新方法。人参在中国具有悠久的历史,已经有研究发现人参也具有较好的抗肿瘤作用,人参可以抑制胃癌细胞的生长并促进其凋亡^[7]。分析人参中的抗肿瘤活性成分并探究其抗肿瘤机制是研究的热点,也是将中药在临床上大范围推广的重要手段,GS-Rg3 是人参的主要活性成分之一,可以抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,从而抑制肿瘤生长和转移,但是关于其对肺癌作用的相关机制的研究还不足^[8-9]。血管以及淋巴管的形成是肿瘤向远端转移的主要途径,目前关于 GS-Rg3 在肿瘤管生成中的研究不多,最近的也有研究显示

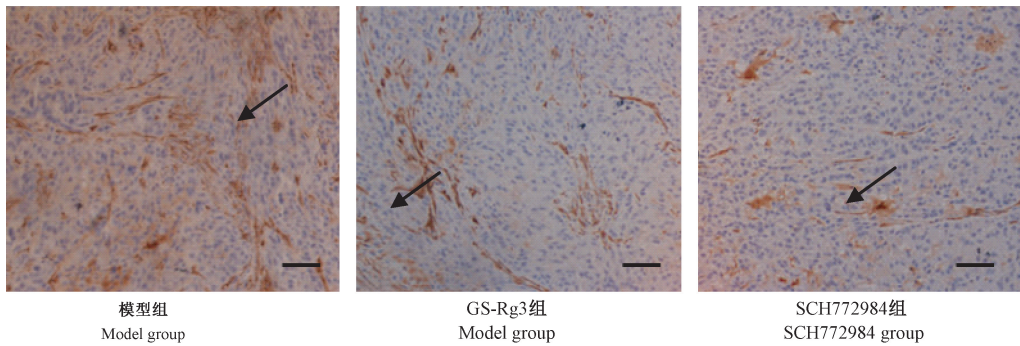


注:箭头所示褐色为 VEGF-C 阳性染色。标尺=20 μm。

图 4 免疫组化检测各组肿瘤组织中 VEGF-C 表达

Note. Arrows indicate the staining of VEGF-C. Bars=20 μm.

Figure 4 Immunohistochemical detection of VEGF-C expression in tumor tissues of each group



注:箭头所示褐色为 VEGF-3 阳性染色。标尺=20 μm。

图 5 免疫组化检测各组肿瘤组织中 VEGF-3 表达

Note. Arrows indicate the staining of VEGF-3. Bars=20 μm.

Figure 5 Immunohistochemical detection of VEGF-3 expression in tumor tissues of each group

表 4 各组小鼠肿瘤组织中 VEGF-C、VEGF-3 表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Expression levels of VEGF-C and VEGF-3 in tumor tissues of the mice in each group

组别 Groups	<i>n</i>	VEGF-C	VEGF-3
模型组 Model group	19	3. 91±1. 22	4. 11±1. 35
GS-Rg3 组 GS-Rg3 group	20	2. 35±1. 02 **	2. 67±1. 10 *
SCH772984 组 SCH772984 group	20	2. 19±0. 99 **	2. 53±1. 03 **

注:与模型组比较, * $P<0. 05$, ** $P<0. 01$ 。
Note. Compared with the model group, * $P<0. 05$, ** $P<0. 01$.

GS-Rg3 也具有抑制血管生成的作用^[10],关于 GS-Rg3 对肿瘤淋巴管形成的影响研究极少。肺癌细胞进入淋巴管是肺癌淋巴转移的主要途径,淋巴转移患者的预后较差,为研究 GS-Rg3 对淋巴管生成的影响,我们建立了人肺癌裸鼠原位移植模型,并分别使用 GS-Rg3 干预,通过 HE 染色监测肿瘤建模情况和淋巴转移情况。结果显示模型组淋巴转移率为 78. 95%,而 GS-Rg3 可显著抑制淋巴转移情况,并且 GS-Rg3 也显著抑制肿瘤的质量和体积。为进一步分析 GS-Rg3 对淋巴管生成的影响,我们使用 podoplanin 蛋白标记淋巴管,结果显示模型组淋巴管较为丰富,而 GS-Rg3 可抑制 podoplanin 蛋白表达水平,减少淋巴管生成。国内已有临床研究显示 GS-Rg3 在治疗中晚期肺癌中的作用^[11],并且也有动物体内实验证实通过纳米材料递送 GS-Rg3 可以抑制小鼠肺癌模型的生长^[12]。国外也有研究显示,GS-Rg3 在异种移植小鼠模型中可以降低肿瘤体积和重量,并通过尾静脉注射显著降低肺组织中的肿瘤转移结节,GS-Rg3 可通过下调 FUT4 介导的 EGFR 失活和阻断 MAPK 和 NF- κ B 信号通路来抑制上皮间充质转化过程和肺癌的侵袭,研究还认为 GS-Rg3 可能是治疗肺癌的潜在有效药物^[13]。此外,Rg3 在异种移植小鼠模型中降低肿瘤体积和重量,并通过尾静脉注射显著降低肺组织中的肿瘤转移结节。戴晓军等^[14]研究也发现了 GS-Rg3 对淋巴管生成中的抑制作用。这说明 GS-Rg3 可以通过抑制肺癌组织中淋巴管的生成抑制淋巴转移。这说明了 GS-Rg3 可以抑制肺癌的生长以及荷瘤裸鼠肿瘤组织中的淋巴管的生成,从而减少了肺癌的淋巴转移。为进一步分析 GS-Rg3 抑制淋巴管生成的机制,使用 ERK 抑制剂 SCH772984 作为阳性对照,分析其对 TGF- β 1/ERK 信号通路和 VEGF 的表达水平的影响。TGF- β 1/ERK 信号通路在肺癌组织中过表达,并可通过调节细胞周期、凋亡以及上皮间充质

转化等相关蛋白促进肺癌的增殖、转移并抑制其凋亡,而抑制 TGF- β 1/ERK 信号通路可有效的抑制肿瘤细胞的增殖并促进其凋亡,并且具有抑制肿瘤组织血管生成、淋巴管生成的作用^[15]。VEGF 可以高度特异性的促血管内皮细胞生长,不但可以促进肿瘤组织血管生长,还具有促进迁移侵袭的作用,此外,VEGF 也具有促进淋巴管内皮细胞生长的作用,几乎在所有的肿瘤组织中 VEGF 的表达水平均上调。上调 VEGF 的表达可促进血管和淋巴管的生长从而为肿瘤生长提供养分养料以及促进肿瘤的转移,并且抑制 VEGF 的表达也是有效减少肿瘤生长和抑制肿瘤转移的方法^[16]。本次研究结果显示 SCH772984 可以抑制肺癌原位移植瘤组织中的淋巴管生成,并且 GS-Rg3 和 SCH772984 可以显著抑制 TGF- β 1 和 ERK mRNA 的表达,并且 GS-Rg3 和 SCH772984 可以显著抑制 ERK 磷酸化,抑制 TGF- β 1/ERK 信号通路转导,并抑制 VEGF-C、VEGF-3 蛋白的表达。TGF- β 1/ERK 信号通路被激活后会促进多种肿瘤相关蛋白的表达,抑制 TGF β 信号通路抑制 VEGF 的表达,从而减少肿瘤细胞浸润^[17]。Liu 等^[18]的研究也发现抑制 ERK 通路也具有抑制 VEGF 表达的作用,从而抑制胰腺癌的血管生成。也有研究显示 VEGF 等蛋白的过表达也可以激活 ERK 等相关通路促进肿瘤细胞的迁移和侵袭引起肿瘤的转移和淋巴转移^[19]。Tang 等^[20]的研究显示 GS-Rg3 可通过抑制 TGF- β /Smad 和 ERK 信号通路在体外抑制瘢痕成纤维细胞增殖以及血管生成,说明 GS-Rg3 具有抑制制 TGF- β 以及 ERK 信号通路的作用。Cao 等^[21]的研究发现 GS-Rg3 可以抑制子宫内异位症大鼠 VEGF 的表达。国内也有研究显示在原代喉鳞癌细胞以及人喉鳞癌裸鼠移植瘤中,GS-Rg3 可以抑制 TGF- β 、VEGF-C 蛋白的表达^[22-23]。这提示在人肺癌裸鼠原位移植中,GS-Rg3 可能通过抑制 TGF- β 1/ERK 信号通路调节 VEGF 的

水平,从而抑制肿瘤组织中淋巴管的生成,从而减少肿瘤的淋巴转移。

综上所述,GS-Rg3 可以通过下调 TGF- β 1/ERK 信号通路的转导水平抑制 VEGF-C、VEGF-3 蛋白的表达,从而抑制淋巴管的生成降低肺癌的淋巴转移率,这提示 GS-Rg3 对于晚期或淋巴转移肺癌的治疗作用。但是关于 GS-Rg3 抑制淋巴管生成的机制和临床效果还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Zhang Y, Liu QZ, Xing SP, et al. Inhibiting effect of Endostar combined with ginsenoside Rg3 on breast cancer tumor growth in tumor-bearing mice [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(2): 180-183.
- [2] Sritananuwat P, Sueangoen N, Thummarati P, et al. Blocking ERK1/2 signaling impairs TGF- β 1 tumor promoting function but enhances its tumor suppressing role in intrahepatic cholangiocarcinoma cells [J]. *Cancer Cell Int*, 2017, 17: 85.
- [3] Park SJ, Choi YS, Lee S, et al. BIX02189 inhibits TGF- β 1-induced lung cancer cell metastasis by directly targeting TGF- β type I receptor [J]. *Cancer Lett*, 2016, 381(2): 314-322.
- [4] 魏淑珍, 孙宇, 杨志坚, 等. EGFP 标记的人肺癌裸鼠原位移植模型的建立 [J]. *中国肺癌杂志*, 2010, 13(7): 670-675.
- [5] 郑玲玲, 李兴普, 徐华, 等. 乳腺癌中 COX-2 表达与微血管密度及微淋巴管密度的相关性 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2018, 34(1): 98-100.
- [6] 兰蓝, 赵飞, 蔡玥, 等. 中国居民 2015 年恶性肿瘤死亡率流行病学特征分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2018, 39(1): 32-34.
- [7] 钱军, 刘元, 郭成旭, 等. 人参与胃癌 SGC-7901 侧群细胞裸鼠移植瘤生长及 Bcl-2、Bax 表达的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2016, 51(6): 773-777.
- [8] 严春花, 张大力, 安昌善. 人参皂苷 Rg3 诱导肺癌细胞株凋亡的机制研究 [J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(11): 2634-2637.
- [9] 王杰, 余方. 人参皂苷 Rg3 的抗乳腺癌转移作用研究 [J]. *湖北中医药大学学报*, 2017, 19(6): 12-14.
- [10] 刘军, 徐冉, 赵晓昆. 人参皂苷 Rg3 对膀胱癌细胞血管生成相关蛋白的表达及癌细胞生长和转移的影响 [J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(2): 219-225.
- [11] 梁俊燕, 韩秀文. 人参皂苷 Rg3 配合化疗对中晚期非小细胞肺癌患者血清中 TGF- α 、TGF- β 1 和 VEGF 的影响 [J]. *临床肺科杂志*, 2016, 21(9): 1675-1678.

- [12] 人参皂苷 Rg3 和 PEG-PLGA-Rg3 纳米微粒对 Lewis 肺癌小鼠的作用及其机制 [J]. *北京大学学报(医学版)*, 2016, 48(3): 496-501.
- [13] Tian L, Shen D, Li X, et al. Ginsenoside Rg3 inhibits epithelial-mesenchymal transition (EMT) and invasion of lung cancer by down-regulating FUT4 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(2): 1619-1632.
- [14] 戴小军, 陆建伟, 王珍, 等. 人参皂苷免疫纳米对人胃癌裸鼠移植瘤生长抑制机制探讨 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2014, 21(24): 1935-1939.
- [15] Wu L, Han L, Zhou C, et al. TGF- β 1-induced CK17 enhances cancer stem cell-like properties rather than EMT in promoting cervical cancer metastasis via the ERK1/2-MZF1 signaling pathway [J]. *FEBS J*, 2017, 284(18): 134-137.
- [16] 王来, 朱孟沙, 田君海, 等. Six1 和 TGF- β 及 VEGF-C 在人喉鳞状细胞癌裸鼠移植瘤淋巴转移中的作用 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016, 30(24): 1960-1964.
- [17] Carbone C, Tamburrino A, Piro G, et al. Combined inhibition of IL1, CXCR1/2, and TGF β signaling pathways modulates in-vivo resistance to anti-VEGF treatment [J]. *Anticancer Drugs*, 2016, 27(1): 29-40.
- [18] Liu Y, Li F, Gao F, et al. Periostin promotes tumor angiogenesis in pancreatic cancer via Erk/VEGF signaling [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(26): 40148-40159.
- [19] Andrikopoulos P, Eccles SA, Yaqoob MM. Coupling between the TRPC3 ion channel and the NCX1 transporter contributed to VEGF-induced ERK1/2 activation and angiogenesis in human primary endothelial cells [J]. *Cell Signal*, 2017, 37: 12-30.
- [20] Tang M, Bian W, Cheng L, et al. Ginsenoside Rg3 inhibits keloid fibroblast proliferation, angiogenesis and collagen synthesis in vitro via the TGF β /Smad and ERK signaling pathways [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(3): 1487-1499.
- [21] Cao Y, Ye Q, Zhuang M, et al. Ginsenoside Rg3 inhibits angiogenesis in a rat model of endometriosis through the VEGFR-2-mediated PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0186520.
- [22] 张继华, 陈帅, 董凯峰, 等. 人参皂苷 Rg3 对原代人喉鳞癌细胞 SIX1、TGF- β 、VEGF-C 表达的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(7): 1700-1703.
- [23] 张继华, 陈春菊, 宋冬梅, 等. 人参皂甙 Rg3 对人喉鳞癌裸鼠移植瘤中 SIX1、TGF- β 、VEGF-C 表达的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(2): 91-94.

[收稿日期]2019-04-22