

尤江莲,郭治,孙爱学. 参一胶囊联合 5-氟尿嘧啶对小鼠结肠癌血管生成抑制作用的机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(1): 54-59.

You JL, Guo Z, Sun AX. Inhibitory effect of Shenyi capsule combined with 5-fluorouracil on the angiogenesis in mouse colon cancer [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(1): 54-59.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.01.009

参一胶囊联合 5-氟尿嘧啶对小鼠结肠癌血管生成抑制作用的机制研究

尤江莲, 郭 治, 孙爱学

(河北省邢台市人民医院肿瘤内一科, 河北 邢台 054000)

【摘要】 目的 探讨参一胶囊联合 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 对结肠癌生长、血管生成的抑制作用及可能的机制。方法 建立 BALB/c 小鼠 LoVo 结肠癌模型 50 只, 随机分为 5 组, 根据处理方式的不同分为模型组、5-FU 组、参一胶囊低剂量组、参一胶囊高剂量组、参一胶囊+ 5-FU 组。检测记录各组小鼠肿瘤体积、肿瘤微血管密度 (microvessel density, MVD)、免疫器官变化, 采用 Western -Blot 法检测瘤体 Gli1、VEGF 蛋白表达。结果 (1) 与模型组相比, 各治疗组小鼠的肿瘤体积均受到明显抑制。参一胶囊高剂量组、参一胶囊+5-FU 组的抑瘤率最高, 且随着给药时间的延长, 这种抑制优势愈加明显。(2) 与模型组比较, 5-FU 组小鼠的免疫器官质量及指数出现降低, 其余各治疗组均有不同程度提高。参一胶囊+5-FU 组的胸腺质量、胸腺指数、脾质量、脾指数改善最为显著, 明显好于所有其他治疗组 ($P < 0.05$)。(3) 参一胶囊+5-FU 组对 MVD 的抑制作用最明显, 参一胶囊高剂量组次之, 低剂量组抑制更弱, 单纯 5-FU 组对肿瘤 MVD 无明显影响。(4) 与模型组相比, 5-FU 组、参一胶囊低剂量组小鼠各种类型的结肠癌转移均未表现出明显的抑制作用 ($P > 0.05$)。高剂量参一胶囊组、参一胶囊+5-FU 组小鼠的结肠癌各器官转移率均显著降低 ($P < 0.05$)。(5) Western blot 检测结果显示, 与模型组相比, 5-FU 组及参一胶囊低剂量组小鼠的 Gli1 蛋白、VEGF 蛋白表达量均较低, 但差异无显著性 ($P > 0.05$)。参一胶囊高剂量组、参一胶囊+5-FU 组的 Gli1 蛋白、VEGF 蛋白表达量则显著降低 ($P < 0.05$)。结论 参一胶囊对结肠癌细胞的生长及血管生成均有明显的抑制作用, 这种抑制作用在于 5-FU 配伍应用时更为显著, Hedgeog-Gli1 信号通路相关的 VEGF 表达可能是其主要的靶点。

【关键词】 结肠癌; 参一胶囊; 血管生成; 小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 01-0054-06

Inhibitory effect of Shenyi capsule combined with 5-fluorouracil on the angiogenesis in mouse colon cancer

YOU Jianglian, GUO Zhi, SUN Aixue

(Department of Oncology, Xingtai People's Hospital in Hebei Province, Xingtai 054000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the inhibitory effect of Shenyi capsules combined with 5-FU on the growth and angiogenesis of colon cancer and its possible mechanism. **Methods** Fifty BALB/c mice with LoVo colon cancer were randomly divided into five groups: model group, 5-FU group, Shenyi capsule low-dose group, Shenyi capsule high-dose

group, and Shenyi capsule+5-FU group. Differences in disease indicators were compared. **Results** 1) The Shenyi capsule high-dose and Shenyi capsule+5-FU groups had the highest inhibition rate, and with the extension of administration time, the inhibition was more marked. (2) The thymus mass, thymus index, spleen mass and spleen index of the Shenyi capsule +5-FU group were improved significantly ($P<0.05$). (3) The inhibitory effect in the Shenyi capsule+5-FU group on MVD was the most obvious, followed by the Shenyi capsule high-dose group and low-dose group. An inhibitory effect of Shenyi capsule+5-FU group on the MVD of tumor was not observed. (4) Compared with the model group, the metastasis rates in various organs in the high dose Shenyi capsule group and Shenyi capsule+5-FU group were significantly lower ($P<0.05$). (5) Compared with the model group, the expressions of Gli1 protein and VEGF protein were decreased significantly ($P<0.05$) in the Shenyi capsule high-dose group and Shenyi capsule+5-FU group. **Conclusions** Shenyi capsule inhibits the growth and angiogenesis of colon cancer cells, and VEGF may be its main target.

【Keywords】 colon cancer; Shenyi capsule; angiogenesis; mouse

结肠癌最常见的消化道恶性肿瘤之一,随着我国社会经济的发展,人们的生活习惯、食物谱发生了巨大变化,结肠癌的发生率也呈明显的上升趋势^[1]。局部复发与转移仍然是导致患者预后不佳的主要原因,血管生成是肿瘤组织保持高指数生长的营养前提,也是许多靶向药物作用的靶点^[2-3]。结肠癌的化疗研究已达到了瓶颈期^[4],如何进一步提高化疗疗效,充分发掘祖国医药在结肠癌中的应用价值是一项严峻的课题。参一胶囊主要由人参皂苷 Rg3 成分组成,多项研究证实,其与传统化疗药物配合,可增强对实体瘤的抑制作用^[5-6]。但目前,关于参一胶囊在结肠癌中的研究报道极少。因此,本研究建立了 BALB/c 小鼠 LoVo 结肠癌模型,旨在探讨参一胶囊对结肠癌生长及血管生成的抑制作用及可能的机制,以期为日后的临床应用提供实验基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

50 只 SPF 级 BALB/c 雄性小鼠,4~6 周龄,体质量约 23~27 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0001]。实验在河北省人民医院实验动物中心进行[SYXK(冀)2013-0056],温度 21℃~25℃,自由饮食饮水,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道主义关怀。河北医科大学动物伦理委员会批准同意,审查编号:20170816。

1.1.2 细胞株

LoVo(人结肠癌细胞株)购于上海细胞生物学研究所。

1.2 主要试剂与仪器

VEGFA 多克隆抗体、Gli1 多克隆抗体购于美国

Abcam 公司。5-氟尿嘧啶注射液(5-FU)购于天津金耀氨基酸有限公司(批号 0404281),参一胶囊购于吉林亚泰制药股份有限公司(批号:国药准字 Z20030044)。Western blot 化学发光成像系统购于天能科技有限公司(Tanon4200SF),微量移液器购于美国 BD 公司;-80℃超低温冰箱(美国 Thermo 公司);-20℃冰箱和 4℃冰箱(中国海尔公司)。

1.3 结肠癌小鼠模型构建及分组

1.3.1 结肠癌小鼠模型的制备

采用细胞悬液接种液,收集对数生长期 LoVo 细胞,稀释浓度为 1×10^7 个/mL,在小鼠前肢腋下皮下接种 2×10^7 个细胞。注射后按压数秒,5 天后建模成功者作为实验小鼠。(2)分组标准:造模成功后,将 50 只小鼠随机分为 5 组,根据处理方式的不同分别定义为:①模型组:仅予以 0.3 mL 生理盐水灌胃。②5-FU 组:采用腹腔注射 5-FU,剂量为 30 mg/kg。③参一胶囊低剂量组:灌服参一胶囊 2 g/kg。④参一胶囊高剂量组:灌服参一胶囊 4 g/kg。⑤参一胶囊+5-FU 组:腹腔注射 5-FU(30 mg/kg)+灌服参一胶囊 4 g/kg。以上治疗措施均为每日一次,共用 25 d。

1.3.2 观察指标

(1)肿瘤体积:根据公式: $V = 0.5 \times \text{肿瘤长径} \times (\text{与长径垂直的短径})^2$,根据测量结果绘制肿瘤体积变化的折线图。(2)肿瘤微血管密度(MVD):在第 25 天时处死小鼠,取肿瘤组织切片脱蜡,胰酶消化,PBS 及 H_2O_2 冲洗,牛血清蛋白封闭,滴加 CD34 单抗,PBS 冲洗后滴加羊抗兔 IgG,苏木素染色,脱水,二甲苯透明。在低倍镜下选择一个微血管最多的区域,再调整至 200 倍视野计算微血管均数。(3)结肠癌转移情况:处死小鼠后,取淋巴结、腹膜、肝、肺等部位的组织标本,甲醛固定,HE 染色,行病

理学检查。

1.3.3 Western blot 检测 Gli1 蛋白、VEGF 蛋白表达

液氮研磨各组小鼠瘤组织,裂解,提取总蛋白,BCA 发测定蛋白浓度。电泳、转膜、封闭、一抗二抗孵育、ECL 法显影定影。通过 Quantity One 软件分析条带强度,以 β -actin 为内参,检测 Gli1 蛋白、VEGF 蛋白表达。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。不同组小鼠结肠癌转移率的计数资料用频数表示,采用卡方检验;其余计量资料采用平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较的统计分析采用方差分析检验,方差不齐采用 Dunnett's 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

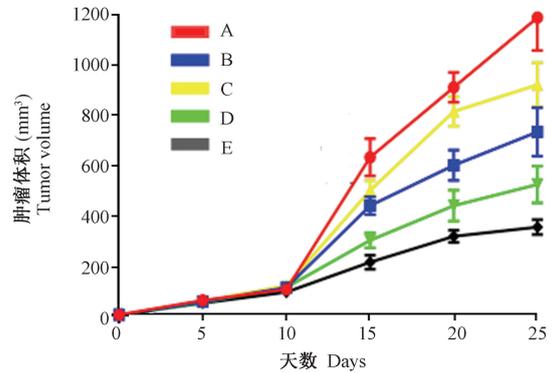
2.1 不同组小鼠肿瘤体积及抑瘤率比较

从干预开始,每 5 d 测量一次肿瘤体积,计算抑瘤率。与模型组相比,各治疗组小鼠的肿瘤体积均受到明显抑制。参一胶囊高剂量组、参一胶囊+5-Fu 组的抑瘤率最高,且随着给药时间的延长,这种抑制优势愈加明显。见图 1。

2.2 不同组小鼠免疫器官情况比较

与模型组比较,5-FU 组小鼠的免疫器官质量及指数出现降低,其余治疗组小鼠的免疫器官质量及指数均有不同程度提高。5-FU 组与参一胶囊低剂量组的各指标差异均无显著性($P > 0.05$),参一胶囊高剂量组的胸腺质量、脾质量明显高于 5-FU 组及参

一胶囊低剂量组,参一胶囊+5-FU 组的胸腺质量、胸腺指数、脾质量、脾指数改善最为显著,明显好于所有其他治疗组($P < 0.05$)。见表 1。



注:A:模型组;B:5-FU 组;C:参一胶囊低剂量组;D:参一胶囊高剂量组;E:参一胶囊+5-FU 组。

图 1 不同组小鼠肿瘤体积变化曲线

Note: A: Model group; B: 5-FU group; C: Shenyi capsule low dose group; D: Shenyi capsule high dose group; E: Shenyi capsule + 5-FU group.

Figure 1 Changes of tumor volume of mice in different groups

2.3 不同组小鼠 MVD 比较

模型组、5-FU 组、参一胶囊低剂量组、参一胶囊高剂量组、参一胶囊+5-FU 组小鼠肿瘤的 MVD 分别为(13.67 ± 4.61)、(11.67 ± 4.12)、(5.34 ± 2.24)、(2.32 ± 1.57)、(0.67 ± 0.51),两两比较后发现,参一胶囊+5-FU 组对 MVD 的抑制作用最明显,参一胶囊高剂量组次之,低剂量组抑制更弱,单纯 5-FU 组对肿瘤 MVD 无明显影响。见图 2。

表 1 不同组小鼠免疫器官情况比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of immune organs of mice in different groups

分组 Groups	胸腺质量(g) Thymus mass	胸腺指数(mg/g) Thymus index	脾质量(g) Spleen mass	脾指数(mg/g) Spleen index
模型组 Control group	49.39 \pm 1.54	1.81 \pm 0.09	140.79 \pm 4.42	4.95 \pm 0.17
5-FU 组 5-FU group	43.01 \pm 3.86	1.40 \pm 0.10	134.86 \pm 4.60	4.38 \pm 0.29
参一胶囊低剂量组 Shenyi capsule low dose group	53.00 \pm 3.22 ^a	1.86 \pm 0.07 ^a	142.26 \pm 5.32	4.98 \pm 0.21 ^a
参一胶囊高剂量组 Shenyi capsule high dose group	61.84 \pm 4.85 ^{abc}	1.96 \pm 0.15 ^a	168.75 \pm 8.21 ^{abc}	5.06 \pm 0.11 ^a
参一胶囊+5-FU 组 Shenyi capsule + 5-FU group	69.55 \pm 5.67 ^{abcd}	2.05 \pm 0.16 ^{abc}	175.96 \pm 9.86 ^{abc}	5.20 \pm 0.09 ^{ab}
F 值 F-value	65.58	44.04	73.17	27.77

注:与模型组相比,^a $P < 0.05$;与 5-FU 组相比,^b $P < 0.05$;与参一胶囊低剂量组相比,^c $P < 0.05$;与参一胶囊高剂量组相比,^d $P < 0.05$ 。

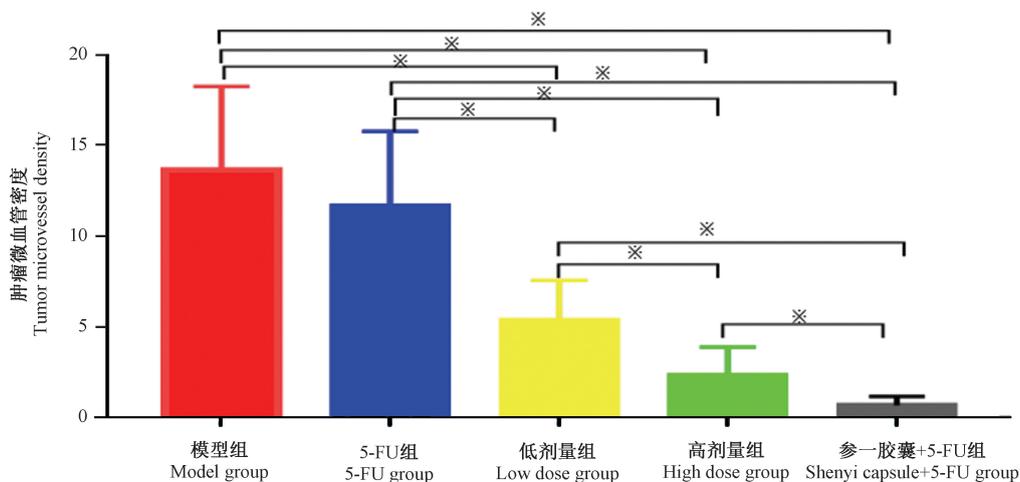
Note: Compared with the model group, ^a $P < 0.05$. Compared with the 5-FU group, ^b $P < 0.05$. Compared with the Shenyi capsule low dose group, ^c $P < 0.05$. Compared with the Shenyi capsule high dose group, ^d $P < 0.05$.

2.4 不同组小鼠结肠癌转移情况比较

模型组小鼠的局部淋巴结转移率、肝转移率、肺转移率、腹膜转移率分别为 100% (10/10)、80% (8/10)、70% (7/10)、90% (9/10)。与模型组相比, 5-FU 组、参一胶囊低剂量组小鼠各种类型的结肠癌转移均未表现出明显的抑制作用 ($P > 0.05$)。高剂量参一胶囊组、参一胶囊+5-FU 组小鼠的结肠癌各器官转移率均显著降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.5 不同组小鼠肿瘤组织 Gli1 蛋白、VEGF 蛋白表达量比较

Western blot 检测结果显示, 与模型组相比, 5-FU 组及参一胶囊低剂量组小鼠的 Gli1 蛋白、VEGF 蛋白表达量均较低, 但差异无显著性 ($P > 0.05$)。参一胶囊高剂量组、参一胶囊+5-FU 组的 Gli1 蛋白、VEGF 蛋白表达量则显著降低, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。见表 3。



注: 两组之间比较, * $P < 0.05$ 。

图 2 不同组小鼠 MVD 比较

Note. Comparisons between the two groups, * $P < 0.05$.

Figure 2 Comparison of MVD of mice in different groups

表 2 不同组小鼠结肠癌转移情况比较

Table 2 Comparison of colon cancer metastasis in mice of different groups

分组 Groups	局部淋巴结转移率 Regional lymph node metastasis rate	肝转移率 Liver metastasis rate	肺转移率 Lung metastasis rate	腹膜转移率 Peritoneal metastasis rate
模型组 Control group	100%	80%	70%	90%
5-FU 组 5-FU group	80%	70%	40%	60%
参一胶囊低剂量组 Shenyi capsule low dose group	70%	50%	40%	50%
参一胶囊高剂量组 Shenyi capsule high dose group	50% ^a	20% ^{ab}	10% ^a	30% ^a
参一胶囊+5-FU 组 Shenyi capsule + 5-FU group	30% ^{ab}	10% ^{ab}	10% ^a	10% ^{ab}
χ^2 值 χ^2 value	13.012	14.976	11.230	14.744

注: 与模型组相比, ^a $P < 0.05$; 与 5-FU 组相比, ^b $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the model group, ^a $P < 0.05$. Compared with the 5-FU group, ^b $P < 0.05$.

表 3 不同组小鼠肿瘤组织 Gli1 蛋白、VEGF 蛋白表达量比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Comparison of Gli1 and VEGF protein expressions in tumor tissues of mice in different groups

分组 Groups	Gli1	VEGF
模型组 Control group	0.920±0.207	1.606±0.447
5-FU 组 5-FU group	0.861±0.156	1.358±0.348
参一胶囊低剂量组 Shenyi capsule low dose group	0.758±0.144	1.342±0.394
参一胶囊高剂量组 Shenyi capsule high dose group	0.633±0.152 ^{ab}	1.124±0.386 ^a
参一胶囊+5-FU 组 Shenyi capsule + 5-FU group	0.598±0.137 ^{ab}	0.921±0.214 ^a
F 值 F-value	7.512	5.011

注:与模型组相比,^a $P<0.05$;与 5-FU 组相比,^b $P<0.05$

Note. Compared with the model group, ^a $P<0.05$. Compared with the 5-FU group, ^b $P<0.05$.

3 讨论

传统中药人参具有大补元气、补脾益肺、安神益智的功效,人参皂苷是其主要成分。参一胶囊是从人参中提取的有效单体,代号为 Rg3,是传统中药人参中一种微量的四环三萜皂苷。有研究表明,其与化疗合并用药,对小鼠肝癌模型有显著的增强化疗疗效作用,并可调节免疫功能,预防白细胞下降。在人体中,主要作用表现为,培元固本,补益气血,改善肿瘤患者的气虚症状,提高机体免疫功能。以往的研究表明,人参皂苷 Rg3 可通过作用于细胞增殖周期 G2/M 期,抑制肿瘤生长,甚至诱导肿瘤细胞凋亡,同时,具有抑制新生血管形成以及调节机体免疫功能等作用。参一胶囊多种实体肿瘤的生长具有抑制作用,是化疗增效剂,如肺癌、肝癌、胃癌、乳腺癌、食管癌等^[7-8]。尤其是对于晚期非小细胞肺癌,参一胶囊可通过抑制肿瘤血管生成,提高患者免疫功能,起到显著的化疗增效减毒效应^[9-10]。但在结肠癌中,相关的研究报道很少。

以 VEGF 为靶点的多种抗肿瘤药物已被应用于临床,但在临床实践中,普遍未获得与动物实验相似的理想效果,有效率最低仅在 30% 左右^[11]。同时,对多线治疗失败的转移性、复发性结肠癌,持续应用 VEGF 抑制剂的有效性仍需要更多的循证医学证据。本研究在建立 BALB/c 小鼠 LoVo 结肠癌模型的基础上,对 5 组小鼠采取不同的处理方式,包括生理盐水灌胃、腹腔注射 5-FU、灌服参一胶囊 2 g/kg、灌服参一胶囊 4 g/kg 以及腹腔注射 5-FU (30 mg/kg)+灌服参一胶囊 4 g/kg,结果发现,与模型组

相比,各治疗组小鼠的肿瘤体积均受到明显抑制。参一胶囊高剂量组、参一胶囊+5-FU 组的抑瘤率最高,且随着给药时间的延长,这种抑制优势愈加明显。这表明,参一胶囊联合 5-FU 可产生更明显的协同作用。胸腺与脾是小鼠最重要的免疫器官,其中,胸腺与细胞免疫相关,与自身免疫耐受及自稳功能维持密切相关。脾是外周淋巴器官,是免疫活性细胞分化成熟的场所,也是免疫应答的场所。二者对细胞毒性物质十分敏感,在化疗药物的作用下可迅速发生结构损伤及功能障碍,因此,胸腺与脾的质量在一定程度上可作为评价药物对免疫系统功能影响的指标^[12]。在本研究中,我们发现,与模型组比较,各治疗组小鼠的免疫器官质量及指数均有不同程度提高,但 5-FU 组与参一胶囊低剂量组的各指标改善情况均无明显差异,而参一胶囊+5-FU 组的胸腺质量、胸腺指数、脾质量、脾指数改善显著,明显好于所有其他治疗组,这反应了参一胶囊对免疫系统的保护作用。

Hedgehog 信号通路由 1 个配体、2 个跨膜蛋白、3 个下游转录因子级联构成,整个信号通路最终通过 Gli 控制靶基因的表达而产生作用^[13; 14]。在本研究中,我们通过敏感度较高的 Western-blot 法检测发现,与模型组相比,5-FU 组及参一胶囊低剂量组小鼠的 Gli1 蛋白、VEGF 蛋白表达量均较低,但差异无显著性($P>0.05$)。参一胶囊高剂量组、参一胶囊+5-FU 组的 Gli1 蛋白、VEGF 蛋白表达量则显著降低,差异有显著性。这表明, Hedgehog-Gli1 信号通路相关的 VEGF 表达可能是参一胶囊作用的靶点之一。Smo 蛋白是 Hedgehog 信号通路的跨膜蛋白之

一, Yzmazaki 等^[15]发现, 与 Smo⁻ 的结肠癌组织相比, Smo⁺ 结肠癌组织的微血管密度明显更高, 这提示 Hedgeog-Glin1 信号通路可能参与了肿瘤微血管的生成。在本研究中, 模型组、5-FU 组、参一胶囊低剂量组、参一胶囊高剂量组、参一胶囊+5-FU 组小鼠肿瘤的 MVD 分别为 (13.67 ± 4.61)、(11.67 ± 4.12)、(5.34 ± 2.24)、(2.32 ± 1.57)、(0.67 ± 0.51), 参一胶囊+5-FU 组对 MVD 的抑制作用最明显, 参一胶囊高剂量组次之, 低剂量组抑制更弱, 单纯 5-FU 组对肿瘤 MVD 无明显影响。同时, 参一胶囊+5-FU 组的 VEGF 蛋白表达量也显著降低。这表明, 集解毒、扶正、活血等功效于一方的参一胶囊对结肠癌动物模型有良好的治疗效果。

综上所述, 本研究发现, 参一胶囊对结肠癌肿瘤细胞长及血管生成均有明显的抑制作用, 这种抑制作用在于 5-FU 配伍应用时更为显著, Hedgeog-Glin1 信号通路相关的 VEGF 表达可能是其主要的作用靶点。

参考文献:

[1] 杨万才, 韩安家. 慢性结肠炎发生及癌变的分子机制研究进展 [J]. 中华病理学杂志, 2016, 45(3): 145-148.

[2] Zhang LM, Wang P, Liu XM, et al. LncRNA SUMO1P3 drives colon cancer growth, metastasis and angiogenesis [J]. Am J Transl Res, 2017, 9(12): 5461-5472.

[3] Huang Z, Feng Y. Exosomes derived from hypoxic colorectal cancer cells promote angiogenesis through Wnt4-Induced β -Catenin signaling in endothelial cells [J]. Oncol Res, 2017, 25(5): 651-661.

[4] Noh OK, Oh SY, Kim YB, et al. Prognostic significance of lymphocyte counts in colon cancer patients treated with FOLFOX chemotherapy [J]. World J Surg, 2017, 41(11): 2898-2905.

[5] 谢燕瑾, 俞婷婷, 楼炜. 人参皂苷 Rg3 纳米晶体的制备及抗肿瘤作用 [J]. 医药导报, 2016, 35(11): 1186-1189.

[6] 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.

[7] Tang YC, Yan Z, Jin Z, et al. Ginsenoside Rg3 targets cancer stem cells and tumor angiogenesis to inhibit colorectal cancer progression *in vivo* [J]. Int J Oncol, 2018, 52(1): 127-138.

[8] Zhang Y, Liu Q Z, Xing S P, 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.

[9] Li Y, Wang Y, Niu K, et al. Clinical benefit from EGFR-TKI plus ginsenoside Rg3 in patients with advanced non-small cell lung cancer harboring EGFR active mutation [J]. Oncotarget, 2016, 7(43): 70535-70545.

[10] Zheng R, Rao Y, Jiang H, et al. Therapeutic potential of Ginsenoside Rg3 via inhibiting Notch/HES1 pathway in lung cancer cells [J]. Transl Cancer Res, 2016, 5(4): 464-469.

[11] Miao H, Ruan S, Shen M. VEGF-C in rectal cancer tissues promotes tumor invasion and metastasis [J]. J Buon, 2018, 23(1): 42-47.

[12] Pang KL, Vijayaraghavan K, Al SB, et al. Betulinic acid-induced expression of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase in the immune organs of mice: a possible role of nitric oxide in immunomodulation [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(2): 3035-3041.

[13] Sun Q, Bai J, Lv R. Hedgehog/Gli1 signal pathway facilitates proliferation, invasion, and migration of cutaneous SCC through regulating VEGF [J]. Tumor Biolo, 2016, 37(12): 1-11.

[14] Zhao S, Zhang Z, Yao Z, et al. Tetramethylpyrazine attenuates sinusoidal angiogenesis via inhibition of hedgehog signaling in liver fibrosis [J]. Iubmb Life, 2017, 69(2): 115-127.

[15] Yamazaki M, Nakamura K, Mizukami Y, et al. Sonic hedgehog derived from human pancreatic cancer cells augments angiogenic function of endothelial progenitor cells [J]. Cancer Sci, 2010, 99(6): 1131-1138.

[收稿日期] 2018-09-04