DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.06.048

人参皂苷通过抑制肿瘤相关巨噬细胞M2极化对HepG2细胞增殖凋亡的影响

杨静[1],付裕刚[2],刁海彦[1],胡盛[1],李家诚[2],李勇[2]
(1.上海中医药大学附属第七人民医院,上海 200137;2.上海中医药大学附属市中医医院,上海 200071)

摘要:目的 探究人参皂苷(totalginsenosides,TG)通过抑制肿瘤相关巨噬细胞M2极化对HepG2细胞增殖凋亡的影响。方法 利用佛波酯(phorbol-12-myristate-13-acetate,PMA)诱导M0巨噬细胞的产生,鉴定并传代培养;人参皂苷处理M0巨噬细胞,检测并验证其对M0细胞的细胞毒性以及对巨噬细胞M2极化表型的影响;将M0巨噬细胞分为研究组和对照组,其中研究组加入TG处理,对照组不做处理,分析TG处理后M2巨噬细胞特征标记物CD163及相关因子的表达变化;分析TG处理后肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)细胞的增殖、迁移及侵袭能力变化。结果 通过流式细胞术检测发现,M0细胞凋亡率的降低与TG浓度呈剂量依赖式,当TG浓度为73.17 μM时,细胞凋亡率降低到50%以下。研究组M2巨噬细胞的特征标记物CD163的表达明显低于对照组。研究组M2巨噬细胞相关基因的表达明显更低($P<0.05$)。通过细胞计数试剂(cell counting kit-8,CCK-8)检测发现相较于对照组,研究组HepG2细胞的增殖受到明显抑制($P<0.05$)。Transwell实验表明,巨噬细胞与HepG2细胞共培养条件下,研究组HepG2细胞迁移和侵袭受到明显抑制($P<0.05$)。结论 TG可抑制巨噬细胞的M2表型极化,而这种作用也发生在肝细胞癌肿瘤微环境中,因此研究推测TG可通过抑制巨噬细胞M2极化进而抑制HepG2细胞的增殖、迁移及侵袭。

关键词:人参皂苷;肝细胞癌;巨噬细胞;细胞增殖;迁移侵袭
中图分类号:R285.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-7717(2025)06-0230-06

Effect of Total Ginsenoside on HepG2 Cell Proliferation and Apoptosis via Inhibiting M2 Polarization of Tumor-associated Macrophages

YANG Jing[1],FU Yugang[2],DIAO Haiyan[1],HU Sheng[1],LI Jiacheng[2],LI Yong[1]
(1. The Seventh People's Hospital affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine,Shanghai 200137,China;
2. Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine,Shanghai 200071,China)

Abstract:*Objective* To explore the effect of total ginsenoside(TG) on HepG2 cell proliferation and apoptosis via inhibiting M2 polarization of tumor-associated macrophages. *Methods* Cells were induced to differentiate into macrophages by phorbol-12-myristate-13-acetate(PMA) treatment. After in-vitro identification and culture, M0 macrophages were interfered with TG. Its cytotoxicity on M0 macrophages and its effect on phenotypes of macrophages and M2 polarization were tested and verified. M0 macrophages were assigned to either TG treatment(study group) or no treatment(control group). Then the expression of CD163,a marker of M2 macrophages,and related factors was measured,and the changes in the proliferation,migration and invasion ability of HCC cells after TG treatment were observed. *Results* Flow cytometry assay revealed that the TG treatment could induce a reduction of apoptosis rate of M0 cells in a dose-dependent manner and the apoptosis rate dropped to less than 50% at a TG concentration of 73.17 μM. The expression of CD163 was remarkably lower in the study group than that in the control group. The expression levels of M2 macrophage-related genes were notably lower in the study group than those in the control group($P<0.05$). CCK-8 assay suggested that M2 macrophages significantly inhibited the proliferation of HepG2 cells in the study group compared with those in the control group($P<0.05$). Transwell chamber assay showed that co-culture of macrophages and HepG2 cell significantly enhanced the inhibitory ability of M2 macrophages on the migration and invasion of HepG2 cells ($P<0.05$). *Conclusion* TG inhibits the phenotypic polarization of macrophage from M1 to M2 and the inhibition also occurs in hepatocellular carcinoma tumor microenvironment. Therefore,it is hypothesized that TG can inhibit the proliferation,migration and invasion of HepG2 cells by inhibiting macrophage M2 polarization.

Keywords:ginsenoside;hepatocellular carcinoma;macrophages;cell proliferation; migration and invasion

基金项目:上海市科技计划项目(22ZR1459400);上海中医药大学科技发展项目(23KFL053);上海中医药大学附属第七人民医院人才培养计划项目(BDX2022-02)

作者简介:杨静(1980-),男,上海人,主任医师,学士,研究方向:肝癌进展的分子机制。
通讯作者:李勇(1968-),男,湖北十堰人,主任医师,博士,研究方向:中西医结合治疗肝脏肿瘤。

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)作为肝癌的主要组织学类型,约占发病人群的五分之四,其发病可能是由于慢性乙型或丙型肝炎病毒感染、过量饮酒、肥胖等多种因素导致[1-2]。早期临床治疗HCC主要方法为手术切除或局部区域治疗,但肝移植或肝切除术作为最有效治疗手段,仍存在10%~20%的患者出现复发和转移,而局部区域治疗也无法完全治愈,同时也具有较高的复发率;更不幸的是,70%以上的患者确诊时肿瘤已发展为晚期状态,通过肝移植、手术切除等手段治疗疗效不佳[3-5]。近年来,癌症免疫疗法兴起,免疫相关的药物通过唤醒免疫系统对肿瘤发挥作用,并在转移HCC中取得了阶段性的成功,因此探索新的免疫治疗靶点是必要的[6-8]。人参中的有效活性成分为总人参皂苷(totalginsenosides,TG)提取物,而TG中包括多种人参皂苷单体,目前已有研究证明人参皂苷单体化合物Rb1、Rg1、Rg3、Rh2、Ro等具有抗炎和抗癌的活性[9-11]。临床研究已验证,TG在肝癌治疗中可通过非编码RNAHOTAIR对细胞的增殖和转移产生抑制作用;而在肺癌中可通过将巨噬细胞(tumor-associatedmacrophages,TAMs)从M2表型转化为M1表型,进而对肺癌细胞的迁移发挥抑制作用[12-13]。同时将TG与姜黄素的联合使用可抑制基于TAMs的炎症反应和免疫逃逸,抑制肝癌的血管生成;而炎症作为癌症的风险因素,其消退是由M1极化巨噬细胞驱动的活跃过程[14]。由于TG可调节HCC的炎症反应和免疫功能,探索TG是否通过抑制肿瘤相关巨噬细胞M2极化进而对HCC细胞的增殖、迁移、侵袭产生作用具有重要意义。因此本研究通过探究TG抑制HepG2细胞的增殖、迁移及侵袭的机制,以期为肝癌的临床治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞与组织 人HCC细胞系HepG2、人THP-1细胞:上海生物科学研究所。本研究经医院医学伦理委员会同意(伦理批号:2023-7th-HIRB-033)。

1.1.2 主要试剂与仪器 TG(纯度>99.5%):长沙汇瑞生物科技有限公司。胰蛋白酶、胎牛血清(fetal bovine serum,FBS)、RPMI-1640培养基:Gibco公司。青霉素、链霉素:北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司。BD FACSCalibur流式细胞仪:美国BD Biosciences公司。RNeasy Micro试剂盒:Qiagen公司。逆转录试剂盒:Applied Biosystem公司。PCR试剂盒:Takara公司。StepOnePlus实时PCR系统:美国ABI公司。Annexin AFITC/PI凋亡检测试剂盒:Biolegend公司。Transwell板:Corning公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HepG2细胞使用补充有10% FBS和100 U/mL青霉素/链霉素的DMEM培养基,并在37 ℃,5% CO_2的培养箱中培养。人单核细胞白血病细胞(human monocytic leukemia,THP-1)在RPMI-1640培养基(10% FBS、1%青霉素与链霉素以及0.1%的巯基乙醇还原剂)中培养。取生长状态良好的THP-1细胞,向其细胞悬液中加入浓度为100 ng/mL的佛波酯(phorbol-12-myristate-13-acetate,PMA)以及0.3%牛血清白蛋白(bovine albumin,BSA),吹打混匀后放入37 ℃、5% CO_2的恒温孵箱中孵育。培养一段时间后,在显微镜下观察细胞形态,确定M0巨噬细胞是否极化成功。

1.2.2 TG处理后M0巨噬细胞极化为促炎M2表型的潜力变化 向诱导完成的M0巨噬细胞中分别加入不同浓度的TG稀释液,纯度>95%),培养48 h。在光学显微镜下观察细胞形态,并拍摄显微镜照片;采用流式细胞仪检测CD163的抗原阳性率及细胞凋亡率。

1.2.3 TG处理后M2巨噬细胞特征标记物CD163的水平变化 将M0巨噬细胞接种在6孔板中,分为研究组和对照组,其中研究组加入TG处理,对照组不做处理,24 h后收集两组细胞。用0.25%的胰蛋白酶分离细胞,当细胞在显微观察下收缩并变圆时终止分离。将细胞轻轻分散到细胞悬液中,然后以1000 r/min离心5 min,弃去上清液。将细胞用70%预冷乙醇固定30 min,用FITC偶联的抗膜联蛋白V抗体和碘化丙啶染色,涡旋混匀后,室温避光孵育15~20 min。并将样品置于流式细胞仪中检测细胞凋亡。检测表面标志物的表达以识别不同的免疫细胞亚群。人参皂苷刺激24 h后,收获分化细胞,使用带有CD163标记的流式细胞术分选M2巨噬细胞,用于进一步的共培养实验。

1.2.4 巨噬细胞相关基因的水平变化 使用RNeasy Micro试剂盒从细胞中分离的总RNA,并使用高通量cDNA逆转录试剂盒(Applied Biosystem)转化为第一链cDNA。实时荧光定量多聚核苷酸链式反应(quantitative real-time PCR,RT-qPCR)按照SYBR Premix Ex Taq GC(Takara)试剂盒说明书指导在ABI 7500实时PCR系统上进行。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenas,GAPDH)用作内部参照。并使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算RNA相对表达水平。所用引物序列如下:CD206上游引物:5′-CAGGAGGAGAGAGATCCGATTTA-3′,CD206下游引物:5′-GCATTAGCATGGAAGCAAAGA-3′;精氨酸酶-1(arginase-1,Arg-1)上游引物:5′-TGAGCGCCAAGTCCAGAAC-3′,Arg-1下游引物:5′-TCTCAAGCAGACCAGCCT-3′;白介素-10(interleukin-10,IL-10)上游引物:5′-GACTTTAAGGGTTACCTGGGTTG-3′,IL-10下游引物:5′-TCACATGCGCCTTGATGTCTG-3′;一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase,iNOS)上游引物:5′-GTTCTCAGCCCAACAATACAAGA-3′,iNOS下游引物:5′-GTGGACGGGTCGATGTCAC-3′;白介素-1β(Interleukin-1β,IL-1β)上游引物:5′-TGGAAAAGCGGTTTGTCTTC-3′,IL-1β下游引物:5′-TACCAGTTGGGGAACTCTGC-3′。

1.2.5 TG处理后HCC细胞增殖能力的变化 TG刺激24 h后,收获分化细胞,使用带有CD163标记的流式细胞术分选M2巨噬细胞,用于进一步的共培养实验。使用非接触式共培养Transwell系统构建巨噬细胞与HepG2细胞共培养体系,按1∶2比例接种细胞,上层接种目的基因敲低或过表达的巨噬细胞,下层接种HepG2细胞,中间隔以孔径为3 μm的聚碳酸酯膜。共培养3 d后收获HepG2细胞并分离细胞上清液检测细胞因子。在巨噬细胞与HepG2细胞共培养后,收获HepG2细胞以每孔3×10^3细胞的密度接种在96孔板中,培养72 h。每组设置5个复孔,然后,将10 μL细胞计数试剂(cell counting kit-8,CCK-8)溶液加入培养基中,并在37 ℃下再培养4 h。在450 nm处测量吸光度以确定细胞活力,实验重复3次。

1.2.6 Transwell侵袭实验检测细胞迁移和侵袭情况 将共培养的HepG2细胞(以未共培养的HepG2细胞为对照)分别接

种在多孔板中,然后使用移液器吸头(100 μL)做一个直线划痕,模拟伤口。在细胞迁移闭合伤口期间定期(2、4、6 h)捕获图像。然后比较图像以量化细胞的迁移率。

Transwell 小室接种 HepG2 细胞,下层培养板接种 M0 巨噬细胞,每组 3 个复孔。置于 CO_2 培养箱中培养直至给药处理到时间点。磷酸缓冲盐溶液(Phosphate buffered saline,PBS)清洗 Transwell 小室 2 次后,用 4% 多聚甲醛在室温条件下将小室固定 25 min,0.4% 结晶紫染色 5 min,蒸馏水冲洗。倒置显微镜下每个样本随机选取 5 个视野计算细胞个数,取均数。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 20.0 进行统计分析。符合正态分布计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较采用独立样本 t 检验。$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

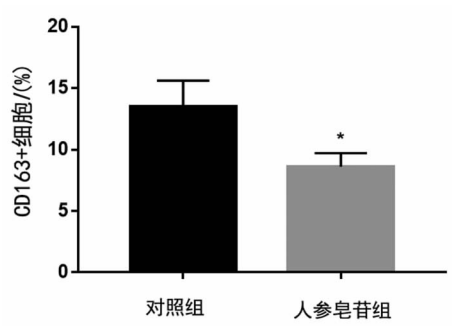
2 结果

2.1 不同浓度 TG 处理后 M0 巨噬细胞的凋亡情况

通过流式细胞术检测发现,M0 细胞凋亡率的降低与 TG 浓度呈剂量依赖式,当 TG 浓度为 73.17 μM 时,细胞凋亡率降低到 50% 以下。见插页XXXV图 1。

2.2 TG 处理后 M2 巨噬细胞特征标记物 CD163 的水平变化

将 M0 巨噬细胞分为研究组和对照组,其中研究组加入 TG 处理,对照组不做处理,然后比较两组 M2 巨噬细胞的特征标记物表达可得,研究组 CD163 的表达明显低于对照组($P < 0.05$)。见图 2。



注:* 与对照组比较,$P < 0.05$。

图 2 两组 M2 巨噬细胞特征标记物 $CD163^+$ 的水平变化

2.3 TG 处理后 M2 巨噬细胞相关基因的水平变化

比较两组 M2 巨噬细胞相关基因表达发现,研究组 M2 巨噬细胞的 CD206、Arg-1、IL-10、iNOS、IL-1β 的表达明显更低($P < 0.05$)。见图 3。

2.4 TG 处理后 HCC 细胞增殖能力的变化

通过 CCK-8 检测比较两组 M2 巨噬细胞对 HepG2 细胞增殖的抑制情况,发现与对照组相比,研究组 HepG2 细胞的增殖受到明显抑制($P < 0.05$)。见插页XXXV图 4。

2.5 TG 处理后巨噬细胞抑制 HCC 细胞迁移、侵袭的变化

Transwell 实验表明,巨噬细胞与 HepG2 细胞共培养条件下,研究组 HepG2 细胞迁移和侵袭受到明显抑制($P < 0.05$)。见插页XXXV图 5 - 插页XXXV图 6。

3 讨论

肝癌可能是多种致病因素引起的肝脏病变,在很大程度上影响人体的正常生理功能,对公众的健康带来极大挑战;而几乎所有的肝脏类疾病均存在炎症反应,慢性炎症状态也似乎是

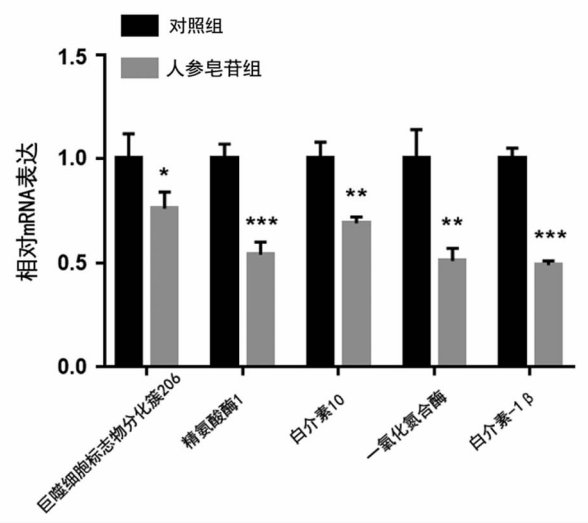


图 3 两组 M2 巨噬细胞相关基因的水平变化

肝癌发生和发展所必需的[15-16]。有研究显示炎症与 HCC 患者的不良预后存在强制性关联,是导致 HCC 癌症患者病死率增加的“凶手”,同时炎症微环境中 TAMs 是肿瘤细胞发展的基础,因此 TAMs 是目前免疫治疗手段中的研究热点[17-18]。研究表明 TAMs 细胞的增加与 HCC 血管生成、转移和预后不良存在密切相关性,其机制可能与 CD_8^+ T 细胞有关[19]。TAMs 的合理调控可有效激活抗肿瘤免疫,因此,阐明 HCC 细胞与巨噬细胞相互作用的分子机制可能为 HCC 提供新的治疗策略。TAMs 可响应于不同的微环境信号,然后极化为抗肿瘤 M1 表型和促肿瘤 M2 表型两种类型;TAMs 功能表型的极化与肿瘤分期的关系更密切。因此,分析巨噬细胞活化状态的重要之处在于肿瘤部位巨噬细胞极化类型(M1/M2)有助于癌症患者的生存预测。现有关于结直肠癌、肺癌和 HCC 的研究均已表明 M1/M2 巨噬细胞极化比与患者不良预后之间存在关联性,M2 标志物如 CD206、CD163 等也可作为癌症预后的关键检测因子[20]。在乳腺癌中,M1 型巨噬细胞在肿瘤抑制基因 DRD2 与乳腺癌细胞串扰过程中产生,并进一步激活介导细胞凋亡的信号通路,抑制肿瘤进展;在肺癌中,抑制肺癌细胞内 USP7 表达可激活 p38MAPK 通路将 TAMs 重编程为 M1 表型,逆转存在于肿瘤微环境中的免疫抑制作用,提高肺癌免疫治疗效率;在口腔鳞状细胞癌中,M1/M2 极化比率和抗肿瘤免疫能力的下调可能与 RACK1/NF-κB 通路的激活有关[21-23]。TAMs 在 HCC 中的极化有着不可或缺的作用,研究表明,微小 RNAmiR-144/miR-451a 通过靶向肝细胞生长因子和巨噬细胞迁移抑制因子促进 TAM 极化为 M1 表型;除此以外还有研究显示 TAMs 在 HCC 中的极化也可能与 IL-6/STAT3、JAK1/STAT6、CXCR4/ERK、PLK1/PTEN、Wnt/β-catenin 信号通路相关。

近年来,基于天然产物的新型肿瘤免疫治疗调节剂已经在全世界范围内引起了研究人员的注意;天然产物包括多酚(如姜黄素、白藜芦醇)、强心类固醇(如地高辛和蟾毒灵)、萜类化合物(如紫杉醇、青蒿素和雷公藤内酯)、多糖(如香菇多糖)、皂苷、辣椒素均具有潜在的免疫调节作用[24-25]。天然产物对癌症的刺激又涉及到肿瘤细胞代谢特征和转录组的改变,但我们尚未完全了解天然产物是如何在肿瘤中发挥作用的,同时对

于天然产物对肝癌 TAMs 表型的调节以及对免疫微环境的重塑的了解十分有限[26]。中医认为,肿瘤的发生是气虚所致,气可以提高抵抗致病因素的免疫系统;根据中医理论,HCC 的病机是“气虚”“肝郁”“热毒”等,而中医认为,人参可“补元气”“延年益寿”[27]。以人参为基础的抗癌药物在临床中单独或联合其他抗肿瘤治疗广泛应用于肝癌、乳腺癌、胃肠肿瘤等肿瘤中,并显现出广泛的免疫调节和重塑功能,如人参参麦注射液,已经被中国列为治疗癌症的药物[28-30]。

本研究前期实验在 PMA 成功诱导 TPH-1 细胞转化为 M0 巨噬细胞后,我们在 M0 巨噬细胞培养体系中加入人参皂苷,随后通过流式细胞术和 RT-qPCR 检验在人参皂苷处理后,发现 M0 细胞凋亡率的降低与 TG 浓度呈剂量依赖式,当 TG 浓度为 73.17 μM 时,细胞凋亡率降低到 50% 以下,说明人参皂苷对未对 M0 细胞产生毒性作用。通过使用流式细胞术检测 CD163 标记物来鉴定和分选 M2 巨噬细胞,发现 TG 处理组的 M2 表型(CD163$^+$)细胞百分比低于对照组,说明人参皂苷能够有效地抑制 M0 巨噬细胞激活为促肿瘤 M2 巨噬细胞。M2 型巨噬细胞的相关标志物包含 CD206、CD68、CD163 等,但已有研究显示通过特异性标记 CD163 对 M2 型巨噬细胞进行检测,相较于 CD68、CD206 具有更强的选择性,故本实验选择 CD163 作为 M2 型巨噬细胞标志物进行检测[31]。除此之外,TG 处理组中 M2 表型巨噬细胞的标记物 CD206、Arg-1、IL-10、iNOS、IL-1β 的表达也降低。本研究还探究了 TG 诱导后肿瘤微环境中的重要组成部分巨噬细胞是否影响 HCC 细胞增殖、迁移与侵袭,通过 CCK-8 分析表明,在 TG 的存在下,与对照组相比,巨噬细胞对 HepG2 细胞活性及增殖能力的抑制显著增加。同时本研究的 Transwell 实验也表明,巨噬细胞与 HepG2 细胞共培养条件下,TG 诱导的巨噬细胞对 HepG2 细胞迁移和侵袭的抑制能力增强,以上结果均表明 TG 是抑制巨噬细胞 M2 极化表型的有效方法。基于此,笔者推测在 HCC 中利用 TG 特异性靶向 TAMs 或将它们的免疫抑制功能重新编程,并产生较小的细胞毒性,可能会提高各种抗癌疗法的疗效。因此,本研究建立在 HCC 细胞与人 TPH-1 细胞衍生的巨噬细胞共培养体系上,研究巨噬细胞在受到 TG 刺激之后是否会影响 HCC 细胞的增殖、迁移和侵袭以及是否对癌症相关信号通路产生影响。本研究揭示天然化合物 TG 在调控肝癌进展时的新机制,可能为肝癌中靶向巨噬细胞的临床治疗和提高治疗效率提供新思路。

综上所述,TG 可抑制巨噬细胞的 M2 表型极化,而这种作用也发生在肝细胞癌肿瘤微环境中,因此本研究推测 TG 可通过抑制巨噬细胞 M2 极化进而抑制 HepG2 细胞的增殖、迁移及侵袭。

参考文献

[1] 衣同辉,吴艳敏,刘睿,等. 人参皂苷 Rg3 联合肿瘤抑素 19 肽对肝癌 HepG2 细胞凋亡的影响及机制[J]. 北京中医药大学学报,2020,43(7):575-582.

[2] GYUSANG J,HYUN S S,NA S K, et al. Ginsenoside Re prevents 3-methyladenine-induced catagen phase acceleration by regulating Wnt/β-catenin signaling in human dermal papilla cells[J]. Journal of Ginseng Research,2023,47(3):440-447.

[3] 张玉蓉. 基于 p-AKT/FoxO1 通路探讨人参皂苷 Rh2 对 HepG2 细胞糖代谢的影响及机制研究[D]. 泸州:西南医科大学,2019.

[4] 鹿琦,王潞,李双双,等. 中药单体化合物诱导巨噬细胞表型极化的作用机制研究进展[J]. 中国药房,2020,31(15):1915-1920.

[5] 高月,黄文祥,章述军,等. 人参皂苷 Rg1 对非酒精性脂肪肝 HepG2 细胞脂质摄取和氧化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(12):100-106.

[6] FANGTONG L,MEIYU Z,YONGYU C, et al. Total ginsenoside wild ginseng root improves spleen qi deficiency by regulating intestinal microbes and flora metabolites[J]. Arabian Journal of Chemistry,2023,16(11):2023.

[7] 胡珊珊,王少文,蒋磊. 人参皂苷 Rg3 调控 Dickkopf 相关蛋白 3 对肝癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 河北医学,2022,28(1):13-17.

[8] 郭慧,刘鹏飞. 人参皂苷 Rg5 通过抑制蛋白激酶 B 信号通路调控肝癌 HepG2 细胞生物学行为[J]. 安徽医药,2021,25(6):1095-1099.

[9] 张奉海,张瑞荣,陈淑娟,等. 人参皂苷 Rg3 联合紫杉醇抑制人肝癌细胞 HepG2 增殖和对裸鼠移植瘤模型的作用机制研究[J]. 中医药学报,2020,48(10):16-20.

[10] LIU B,I L J,I S J, et al. Ginsenoside Rb1 alleviates chronic intermittent hypoxia-induced diabetic cardiomyopathy in db/db mice by regulating the adenosine monophosphate-activated protein kinase/Nrf2/heme oxygenase-1 signaling pathway[J]. Journal of traditional Chinese medicine = Chung i tsa chih ying wen pan,2023,43(5):906-914.

[11] 黄舒颖,张艳,陈鹏飞,等. 人参皂苷 Rg1 对 LPS 诱导 RAW264.7 巨噬细胞炎症反应中 lncRNA NEAT1 表达的影响[J]. 江西医药,2020,55(11):1587-1590.

[12] CHAN L,YINGBO L,RUKUN L, et al. Host miR-129-5p reverses effects of ginsenoside Rg1 on morphine reward possibly mediated by changes in B. vulgatus and serotonin metabolism in hippocampus[J]. Gut microbes,2023,15(2):2254946.

[13] 李建涛,孔婷婷,孙毓晗,等. 人参皂苷 Rg1 对人喉癌 Hep2 细胞株增殖及一氧化氮合酶通路的影响[J]. 中国实用医刊,2020(3):10-13.

[14] JIANBO C,MEIJIA L,XIAOHUI H, et al. A novel process for one-step separation and cyclodextrin inclusion of ginsenoside Rg5 from ginseng stem-leaf saponins (GSLS): preparation, characterization, and evaluation of storage stability and bioactivity[J]. Foods (Basel, Switzerland),2023,12(12):2023.

[15] 高涵,吴琦,陈宏月,等. 人参皂苷 Rh2 诱导肝癌细胞 HepG2 自噬与凋亡的分子机制研究[J]. 系统医学,2021,6(22):37-40.

[16] MEITING J,XIAOHANG L,YUYING Z, et al. Characterization of ginsenosides from Panax japonicus var. major (Zhu-Zi-Shen) based on ultra-high performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry and desorption electrospray ionization-mass spectrometry imaging[J]. Chinese Medicine,2023,18(1):115.

[17] 陈佳欣,闫岩,张学武,等. 人参皂苷 CK 抑制 STAT3 诱导人肝癌细胞凋亡的内质网应激作用机制的研究[J]. 时珍国医国药,2020,31(4):796-799.

[18] TADDESSE Y,KYUNGHWA Y,SOYONG J, et al. Corrigendum to' Morphine dependence is attenuated by red ginseng extract and ginsenosides Rh2, Rg3, and compound K' [Journal of Ginseng Research Volume 40, Issue 4, October 2016, Pages 445-452][J]. Journal of Ginseng Research,2023,47(5):681-682.

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.06.049

加味导痰汤联合穴位贴敷对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者肺康复的影响

符海燕,王振贤
(海口市中医医院,海南 海口 570216)

摘要:目的 评估加味导痰汤联合穴位贴敷对慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease,COPD)急性加重期患者肺康复的影响。方法 进行前瞻性的对照试验,选取就诊的COPD急性加重期患者110例,采用随机摸球分为两组,各有55例。对照组予以胸部物理疗法;在此基础上,观察组予以味导痰汤联合穴位贴敷。以干预2周为1个疗程,总共2个疗程。用药2个疗程后评价疗效,干预前后评价肺功能指标、炎症因子,进行持续随访与观察,记录不良反应。结果 两组性别、平均年龄、平均发病时间及吸烟史、高血压病史比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。对照组中总有效率(85.45%)低于观察组(96.36%),差异有统计学意义($P<0.05$)。干预后两组最大肺活量(forced vital capacity,FVC)、第1秒用力呼气容积(forced expiratory volume in one second,FEV1)及FEV1/FVC上升($P<0.05$);干预后观察组FVC、FEV1及FEV1/FVC高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。干预后两组血清肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)、白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)及C反应蛋白(C-reactive protein,CRP)水平下降($P<0.05$);干预后观察组血清TNF-α、IL-6及CRP低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。对照组中总不良率(16.36%)与观察组(14.55%)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 加味导痰汤联合穴位贴敷可以提高COPD急性加重期肺康复效果,可能与改善肺功能及抑制炎症反应有关,可以耐受。

关键词:加味导痰汤;穴位贴敷;COPD急性加重期;肺康复
中图分类号:R256.1 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)06-0234-05

基金项目:海南省卫生和计划生育委员会项目(15A200059);海南省基础与应用基础研究计划项目(818MS137)
作者简介:符海燕(1983-),女,海南临高人,主治医师,学士,研究方向:呼吸、心血管疾病。

[19] 张聪,刘迪,张寒雪,等.人参皂苷对过氧化氢诱导的HepG2细胞损伤的保护作用[J].吉林大学学报:医学版,2020,46(5):985-991,1004.
[20] YATING W,XIURONG B,HAO X, et al. Glucocorticoid receptors involved in ginsenoside compound K ameliorate adjuvant arthritis by inhibiting the glycolysis of fibroblast-like synoviocytes via the NF-κB/HIF-1α pathway[J]. Pharmaceutical biology,2023,61(1):1162-1174.
[21] 赵永军,李刚刚,孙治安.人参皂苷Rg3对肝细胞癌上皮间质转化的抑制作用机制研究[J].中国临床药理学杂志,2020,36(14):2066-2069.
[22] 肖晴,黄文祥,章述军,等. 人参皂苷Rg1激活腺苷酸激活蛋白激酶抑制体外诱导的非酒精性脂肪性肝细胞模型脂质沉积[J].第三军医大学学报,2019,41(14):1343-1349.
[23] JIAOJIAO W,LI Z,DONG L, et al. Ginsenoside Rg1, lights up the way for the potential prevention of Alzheimer's disease due to its therapeutic effects on the drug-controllable risk factors of Alzheimer's disease[J]. Journal of ethnopharmacology,2023,318(PB):116955-116955.
[24] 张玉蓉,韩铭,朱晓宁,等.人参皂苷Rh2通过调控AsTP3及p-AKT/FoxO1通路对肝脏葡萄糖代谢的作用及机制[J].中国肝脏病杂志(电子版),2019,11(1):30-36.
[25] CHITGOPEKER P, GOETTSCHE L, LANDHERR J M, et al. 1550-nm nonablative fractional laser versus 10,600-nm ablative fractional laser in the treatment of surgical and traumatic scars: a comparison study on efficacy and treatment regimen[J]. Dermatologic Surgery,2020,46(46):780-788.
[26] JINGXIAN Z,ZIJIA Z,ZHAOJUN W, et al. Targeted trace ingredients coupled with chemometric analysis for consistency evaluation of Panax notoginseng saponins injectable formulations[J]. Chinese Journal of Natural Medicines,2023,21(8):631-640.
[27] 周莎,杨千培,朱芙蓉,等.人参皂苷Rg-1对人内皮祖细胞增殖、凋亡和分泌HGF的影响[J].辽宁中医杂志,2022,49(3):160-162,226.
[28] HONG P,LI C,YI D, et al. Ginsenoside Rh2 mitigates myocardial damage in acute myocardial infarction by regulating pyroptosis of cardiomyocytes[J]. Clinical and experimental hypertension (New York, N. Y. : 1993),2023,45(1):2229536.
[29] 陈佳欣,闫岩,张学武,等. 人参皂苷Compound K通过调控AKT/mTOR通路诱导人肝癌细胞自噬作用的研究[J].时珍国医国药,2020,31(6):1347-1350.
[30] HAIFEI L,YINI Z,SIMIAO R, et al. Ginsenoside Rg1 alleviates sleep deprivation-induced learning and memory impairment by inhibiting excessive neuronal apoptosis in zebrafish[J]. Neuroreport,2023,34(11):556-574.
[31] 吴婧婧,黄琦,彭瑶,等.SPP1、PD-L1的表达与M2巨噬细胞在肝细胞癌中的关系及对预后的影响研究[J].安徽医科大学学报,2023,58(6):970-975.

人参皂苷通过抑制肿瘤相关巨噬细胞 M2 极化对 HepG2 细胞增殖凋亡的影响

（正文见 230－234 页）

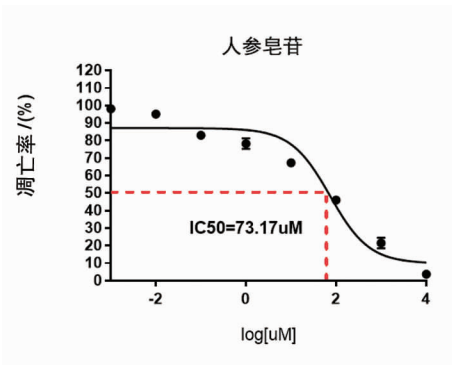


图 1　不同浓度 TG 对 M0 细胞凋亡的影响

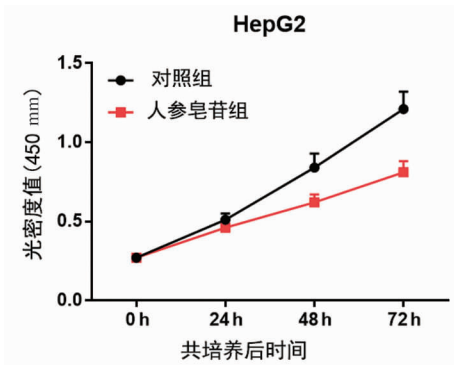
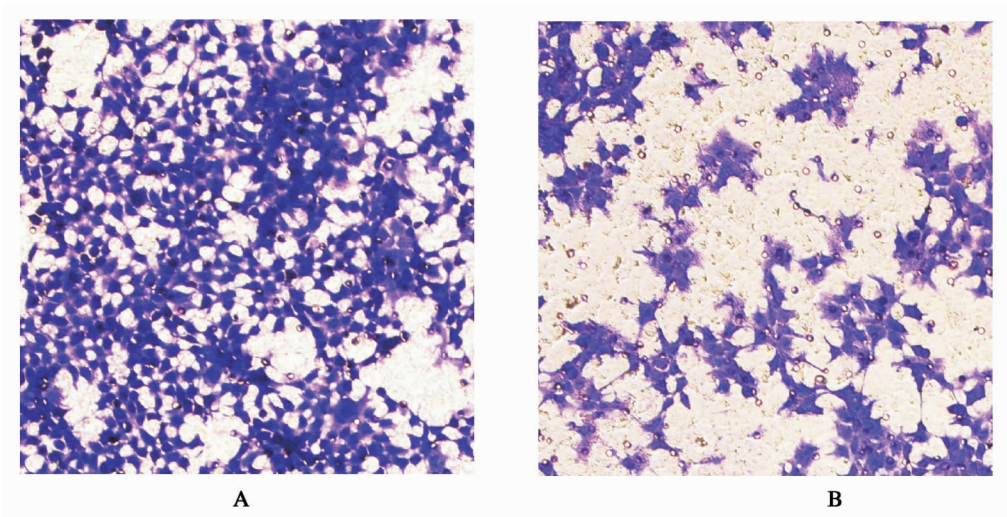
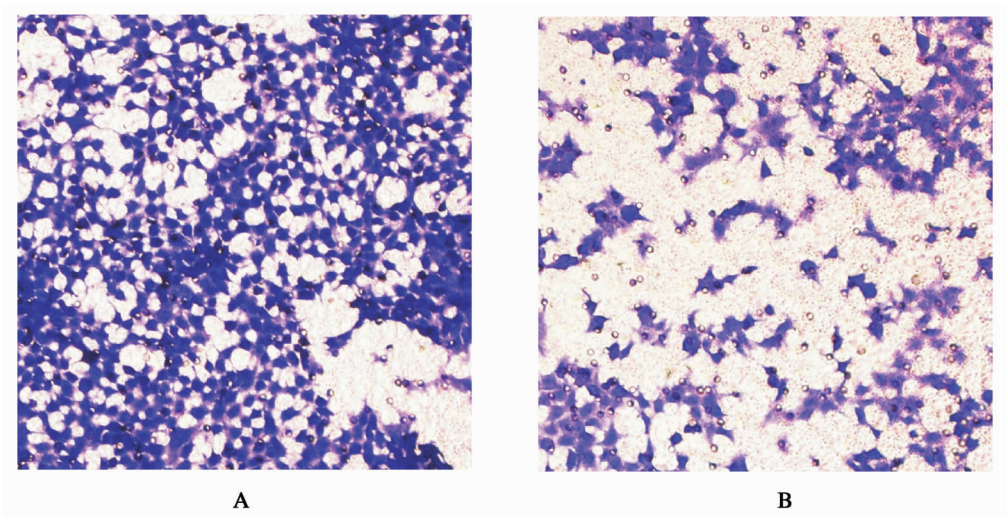


图 4　两组 HepG2 细胞活性及增殖能力比较



注：A 为巨噬细胞 + HepG2；B 为 TG + 巨噬细胞 + HepG2。

图 5　两组 HepG2 细胞的迁移能力比较



注：A 为巨噬细胞 + HepG2；B 为 TG + 巨噬细胞 + HepG2。

图 6　两组 HepG2 细胞的侵袭能力比较