

# 人参皂苷 Rg1 联合奈达铂通过 Hedgehog 通路抑制卵巢癌细胞 OVCAR-3 的增殖及机制探究

刘静波<sup>1</sup>, 郭晨旭<sup>2</sup>, 马玲<sup>1</sup>

**[摘要]**目的: 探究人参皂苷 Rg1 联合奈达铂对卵巢癌细胞 OVCAR-3 增殖的影响、可能的机制以及二者的协同作用。方法: CCK-8 法检测人参皂苷 Rg1、奈达铂以及两者联合对 OVCAR-3 细胞增殖的影响; Western blotting 检测 3 组药物干预后 Hedgehog 通路关键蛋白 PTCH1、SMO、Gli1 表达的改变; 流式细胞仪检测 3 组药物干预后 OVCAR-3 细胞周期的变化。结果: 与未进行药物干预的对照组相比, 人参皂苷 Rg1 组、奈达铂组、联合药物组均对 OVCAR-3 细胞的增殖产生了抑制作用, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。人参皂苷 Rg1 与奈达铂表现出协同增效作用; 与对照组相比, 奈达铂组、人参皂苷 Rg1 组、联合药物组降低了 PTCH1、SMO、Gli1 蛋白的表达, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。人参皂苷 Rg1 与奈达铂表现出协同增效作用; 与对照组相比, 仅有联合药物组将细胞周期阻滞在 G<sub>2</sub> 期( $P < 0.05$ )。结论: 人参皂苷 Rg1 联合奈达铂可能通过调低 Hedgehog 通路相关蛋白将 OVCAR-3 细胞的周期阻滞在 G<sub>2</sub> 期从而抑制其增殖, 人参皂苷 Rg1 对奈达铂表现出协同增效作用。

**[关键词]** 卵巢肿瘤; Hedgehog 通路; 奈达铂; 人参皂苷 Rg1

**[中图分类号]** R 737.31

**[文献标志码]** A

**DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.04.006

## Study on the inhibitory effects of ginsenoside Rg1 combined with nedaplatin on the proliferation of ovarian cancer cells OVCAR-3 through Hedgehog pathway and its mechanism

LIU Jing-bo<sup>1</sup>, GUO Chen-xu<sup>2</sup>, MA Ling<sup>1</sup>

(1. Department of Gynecologic Oncology, 2. Department of Surgical Oncology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of nedaplatin combined with ginsenoside Rg1 on the proliferation of ovarian cancer cells OVCAR-3 and its possible mechanism. **Methods:** The CCK-8 assay was used to detect the effects of ginsenoside Rg1, nedaplatin and their combination on the proliferation of OVCAR-3 cells. Western-blot was used to detect the expression levels of key proteins of Hedgehog pathway (PTCH1, SMO and Gli1). The flow cytometry was used to detect the changes of cell cycle of OVCAR-3 cells after drug intervention. **Results:** Compared with the control group, the proliferation of OVCAR-3 cells in ginsenoside Rg1 group, nedaplatin group and combined drug group were inhibited, and the difference of which among three groups were statistically significant ( $P < 0.05$ ). At the same time, ginsenoside Rg1 and nedaplatin showed synergistic effects. Compared with the control group, the expression levels of PTCH1, SMO and Gli1 proteins in nedaplatin group, ginsenoside Rg1 group and combined drug group decreased significantly, the difference of which among three groups were statistically significant ( $P < 0.05$ ), and the synergistic effect between ginsenoside Rg1 and nedaplatin was found. Compared with the control group, only the combined drug group, the cell cycle was arrested at G<sub>2</sub> phase ( $P < 0.05$ ). **Conclusions:** Ginsenoside Rg1 combined with nedaplatin may inhibit the proliferation of OVCAR-3 cells by modulating Hedgehog pathway related proteins to arrest the cell cycle at G<sub>2</sub> phase, and ginsenoside Rg1 shows the synergistic effect on nedaplatin. **[Key words]** ovarian neoplasms; Hedgehog pathway; nedaplatin; ginsenoside Rg1

妇科肿瘤中卵巢癌的恶性程度较高, 易复发转移, 且发现时通常是晚期从而难治。目前卵巢癌在临床上因其首诊时通常病期较晚, 通常需要新辅助化疗<sup>[1]</sup>后再评估手术机会, 但在治疗上仍然缺少切

实有效的靶点。

学者在果蝇中最早发现了 Hedgehog 通路<sup>[2]</sup>, 因其可致使果蝇的胚胎表面形成刺凸, 外形酷似刺猬得名, 在细胞增殖及分化中扮演着重要角色<sup>[3]</sup>, 其绝大多数时间处于静息状态, 主要起修复及维持作用<sup>[4]</sup>。近年来的研究<sup>[5]</sup>认为该途径为一条促进恶性肿瘤发生发展的通路。

在卵巢癌的临床治疗中, 奈达铂作为第二代铂类药物, 因消化系统毒性及神经毒性均低于顺铂, 从而被应用于临床<sup>[6]</sup>。同时在寻求中西医结合抗肿

**[收稿日期]** 2019-07-23 **[修回日期]** 2019-12-29

**[基金项目]** 蚌埠医学院自然科学基金面上项目 (BYKY1799)

**[作者单位]** 蚌埠医学院第一附属医院 1. 肿瘤妇科 2. 肿瘤外科, 安徽蚌埠 233004

**[作者简介]** 刘静波 (1987-), 女, 硕士, 主治医师。

**[通信作者]** 马玲, 主任医师, 副教授, E-mail: ml1970222@163.com.

瘤的过程中,近些年祖国传统医学在抗肿瘤的治疗中发挥了重要的作用。人参皂苷 Rg1 主要存在于人参属药材中,被视作是人参的活性成分之一,也有研究者表明其具备明确的抗癌作用<sup>[7]</sup>。

本文基于奈达铂对卵巢癌的作用,同时联合人参皂苷 Rg1 作用于卵巢癌 OVCAR-3 细胞,检测对细胞增殖、周期以及 Hedgehog 通路蛋白的作用,进而探讨奈达铂通过该通路影响卵巢癌发生发展的机制以及人参皂苷 Rg1 对奈达铂作用是否具有协同增效作用。

## 1 材料与方法

1.1 实验材料及试剂 卵巢癌 OVCAR-3 细胞购自中国科学院武汉细胞库,奈达铂(H20050563)购自齐鲁制药公司,人参皂苷 Rg1(MB6863)购自 meilunbio 公司,PTCH1 抗体(17520-1-AP)购自武汉三鹰公司,SMO 抗体(20787-1-AP)购自武汉三鹰公司,Gli1 抗体(PB0142)购自博士德公司,GAPDH 抗体(10493-1-AP)购自武汉三鹰公司,羊抗兔 IgG-HRP(KGAA35)购自江苏凯基公司,OVCAR-3 细胞完全培养基由江苏凯基生物科技股份有限公司提供(90% DMEM + 10% FBS,37℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱培育),Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒(CP736)购自日本 DOJINDO Laboratories,全蛋白抽提试剂盒(KGP250)购自江苏凯基公司,BCA 蛋白含量检测试剂盒(KGA902)购自江苏凯基公司,SDS-PAGE 试剂盒(KGP113)购自江苏凯基公司,Western Blotting 检测试剂盒(KGP1201)购自江苏凯基公司,显影定影试剂(KGP116)购自江苏凯基公司,细胞周期检测试剂盒(KGA511)购自江苏凯基公司。

## 1.2 实验方法

1.2.1 CCK-8 卵巢癌 OVCAR-3 细胞消化、计数、配制成浓度为  $5 \times 10^4$  个/毫升的细胞悬液,每孔 100  $\mu$ L 细胞悬液加入 96 孔板中;37℃、5% CO<sub>2</sub> 培育 24 h;实验组分别设置人参皂苷 Rg1(G 组)与奈达铂药物干预组(N 组),使得利用完全培养基稀释的含药培养基至目的浓度,2 组均选择 100  $\mu$ g/mL 为最高浓度,向下依次设置浓度梯度,目的浓度分别为 0、0.39、0.78、1.56、3.12、6.25、12.50、25.00、50.00、100.00  $\mu$ g/mL,将 0  $\mu$ g/mL 的培养基设置为空白对照组,第 3 组实验组为人参皂苷 Rg1 联合奈达铂干预组(G + N 组),依据最大人参皂苷 Rg1 干预组实验结果确立无毒剂量(增殖抑制率 < 10%)控制人参皂苷 Rg1 的终浓度为 6.25  $\mu$ g/mL 的培养

基,分别再次调整联合奈达铂的培养基浓度分别为 0、0.39、0.78、1.56、3.12、6.25、12.50、25.00、50.00、100.00  $\mu$ g/mL。100  $\mu$ L 培养基加至实验每孔;37℃、5% CO<sub>2</sub> 继续培育 48 h 后 CCK-8 染色,在波长 450 nm 处测定吸光度值;计数各组别增殖抑制率 = (OD 对照组 - OD 实验组) / OD 对照组  $\times$  100%,应用 SPSS 19.0 通过机率单位加权回归法计算半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。而后根据 IC<sub>50</sub> 值进行人参皂苷 Rg1 与奈达铂的联合药物组后续的细胞增殖、Western blotting 与细胞周期实验。

细胞计数如上,设置无药物干预的细胞为空白对照组(Control 组),依据奈达铂组 IC<sub>50</sub> 及人参皂苷 Rg1 组增殖抑制率 < 10% 的最大无毒剂量,3 组实验组分别设置为含人参皂苷 Rg1(6.25  $\mu$ g/mL)、奈达铂(4.607  $\mu$ g/mL)、人参皂苷 Rg1(6.25  $\mu$ g/mL)联合奈达铂(4.607  $\mu$ g/mL),每孔 100  $\mu$ L 加入 96 孔板,37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下培育,于 6、24、48、72、96、120、144、168 h 时间点各选取 5 孔,分别 CCK-8 染色,继续培养 3 h 后波长 450 nm 处测定吸光度,绘制增殖曲线。

1.2.2 Western blotting 对照组及实验组分组同“1.3.1”,分别含人参皂苷 Rg1(6.25  $\mu$ g/mL)、奈达铂(4.607  $\mu$ g/mL)、人参皂苷 Rg1(6.25  $\mu$ g/mL)联合奈达铂(4.607  $\mu$ g/mL)的完全培养基干预培养 48 h 后的 OVCAR-3 细胞,干预后提取细胞样本全蛋白,BCA 试剂盒进行蛋白定量后 30  $\mu$ g 蛋白质行 SDS-PAGE 电泳、转膜。5% 脱脂牛奶封闭 2 h,加入兔抗人 PTCH1(1:1 000)、SMO(1:500)及 Gli1(1:1 000)抗体,4℃ 孵育过夜,TBST 洗膜。辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG(1:5 000),常温孵育 1 h 后 TBST 洗膜。ECL 试剂盒发光显影,凝胶成像系统成像后灰度扫描。

1.2.3 细胞周期检测(Pi 单染法) 分组同“1.3.1”,药物干预后分别搜集不同组  $5 \times 10^5$  细胞,后在细胞中加入 100  $\mu$ L RNase A,37℃ 水浴 30 min 后上 400  $\mu$ L PI 染色,避光下 4℃、30 min 后上小流式细胞仪,分别记载激发波长 488 nm 处的红色荧光。

1.3 统计学方法 采用方差分析和  $q$  检验。

## 2 结果

2.1 CCK-8 法检测奈达铂联合人参皂苷 Rg1 对卵巢癌细胞 OVCAR-3 增殖的影响 4 组在同浓度药物干预 48 h 后,与 Control 组相比药物干预后的卵巢癌细胞 OVCAR-3 增殖能力明显有减弱,并且随着

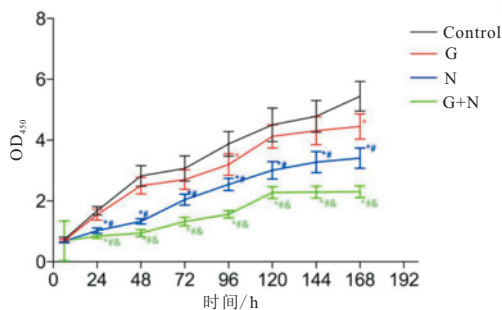
药物浓度的增加,增殖抑制作用越明显( $P < 0.01$ )。在最高浓度位置 G(100  $\mu\text{g/mL}$ )、N(100  $\mu\text{g/mL}$ )、G(6.25  $\mu\text{g/mL}$ ) + N(100  $\mu\text{g/mL}$ ) 组的增殖抑制率分别为 16.50%、91.62%、95.70%;  $\text{IC}_{50}$  分别为未达到、4.607  $\mu\text{g/mL}$ 、3.387  $\mu\text{g/mL}$ (见表 1)。

选取 Control 组(不含药完全培养基)、G 组(6.25  $\mu\text{g/mL}$ ,依据增殖抑制率  $< 10\%$  的最大无毒剂量)、N 组(4.607  $\mu\text{g/mL}$ ,依据  $\text{IC}_{50}$ )、G(6.25  $\mu\text{g/mL}$ ) + N(4.607  $\mu\text{g/mL}$ ) 组,CKK-8 法绘制药物干预 7d 细胞增殖曲线,与对照组比较,各组药物干预后均有明显抑制细胞增殖的现象( $P < 0.05$ ),且实验组间两两比较的差异在大多数时间点上具有统计学意义( $P < 0.05$ )(见图 1)。

表 1 不同浓度各组药物干预 48 h 后的细胞增殖能力( $n_i = 5$ )

浓度/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	OD( $\bar{x} \pm s$ )			抑制率/%		
	G 组	N 组	G + N 组*	G 组	N 组	G + N 组
0	2.656 $\pm$ 0.064	2.849 $\pm$ 0.010	2.772 $\pm$ 0.018	—	—	—
0.39	2.647 $\pm$ 0.051	2.724 $\pm$ 0.020	2.514 $\pm$ 0.017	0.34	4.40	9.30
0.78	2.612 $\pm$ 0.035	2.535 $\pm$ 0.017	2.332 $\pm$ 0.017	1.65	11.04	15.88
1.56	2.559 $\pm$ 0.029	2.177 $\pm$ 0.025	1.916 $\pm$ 0.089	3.64	23.61	30.88
3.12	2.492 $\pm$ 0.017	1.657 $\pm$ 0.153	1.479 $\pm$ 0.059	6.18	41.86	46.64
6.25	2.414 $\pm$ 0.031	0.970 $\pm$ 0.073	0.845 $\pm$ 0.047	9.11	65.95	69.52
12.50	2.378 $\pm$ 0.019	0.650 $\pm$ 0.047	0.452 $\pm$ 0.021	10.47	77.20	83.71
25.00	2.333 $\pm$ 0.032	0.403 $\pm$ 0.021	0.333 $\pm$ 0.007	12.14	85.87	87.98
50.00	2.235 $\pm$ 0.031	0.313 $\pm$ 0.007	0.230 $\pm$ 0.014	15.85	89.02	91.71
100.00	2.217 $\pm$ 0.047	0.239 $\pm$ 0.020	0.119 $\pm$ 0.020	16.50	91.62	95.70
F	81.5	1 466.60	3 389.81	—	—	—
P	$< 0.01$	$< 0.01$	$< 0.01$	—	—	—
MS <sub>组内</sub>	0.001	0.004	0.002	—	—	—

\* : G + N 组浓度为固定人参皂苷 Rg1 的终浓度为 6.25  $\mu\text{g/mL}$ ,依次增加奈达铂药物浓度形成梯度



与Control比较\* $P < 0.05$ ;与G比较# $P < 0.05$ ;与N比较# $P < 0.05$

图1 不&分组药\*干预后 OVCAR-3 细胞的增殖曲线

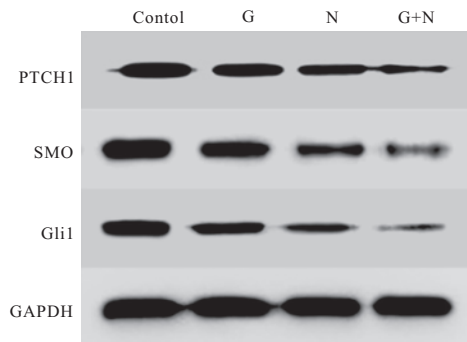
2.2 Western blotting 检测奈达铂联合人参皂苷 Rg1 对 OVCAR-3 细胞中 PTCH1、SMO、Gli1 蛋白表达的影响 依据“2.1”实验结果,设定分组为对照组及实验组同“2.1”。PTCH1、SMO、Gli1 蛋白表达(相对

表达量,目的蛋白/内参)在经过 G 组、N 组、G + N 组干预后相比较对照组均有明显调低( $P < 0.05$ ),趋势按次序依次降低( $P < 0.05$ )(见表 2、图 2)。

表 2 不同分组药物干预后 OVCAR-3 细胞中 PTCH1、SMO、Gli1 的相对表达量( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	SMO/GAPDH	PTCH1/GAPDH	Gli1/GAPDH
Control 组	3	0.523 $\pm$ 0.021	0.777 $\pm$ 0.038	0.790 $\pm$ 0.030
G 组	3	0.38 $\pm$ 0.017*	0.627 $\pm$ 0.042*	0.583 $\pm$ 0.049*
N 组	3	0.210 $\pm$ 0.020* #	0.467 $\pm$ 0.029* #	0.310 $\pm$ 0.030* #
G + N 组	3	0.077 $\pm$ 0.012* # Δ	0.310 $\pm$ 0.035* # Δ	0.087 $\pm$ 0.021* # Δ
F	—	357.72	94.42	245.10
P	—	$< 0.01$	$< 0.01$	$< 0.01$
MS <sub>组内</sub>	—	0.000	0.001	0.001

注:与 Control 组比较\* $P < 0.05$ ;与 G 组比较# $P < 0.05$ ;与 N 组比较 Δ $P < 0.05$



与2 比较图不&分组药\* OVCAR-3 干预后 PTCH1、SMO、Gli1 蛋白的增殖曲线变化

2.3 流式细胞仪检测奈达铂联合人参皂苷 Rg1 干预后卵巢癌细胞周期的变化 分组同“2.1”,不同分组药物干预后,组内比较药物干预后的细胞周期变化显示,在 3 组实验组中的表现均为  $G_1$ 、 $S$ 、 $G_2$  期细胞所占比例呈逐期下降趋势( $P < 0.01$ );组间比较显示,与 Control 组相比,G + N 组中  $G_2$  期细胞比例差异明显低于其他组( $P < 0.05$ )(见表 3、图 3)。

### 3 讨论

有研究发现 Hedgehog 通路在一些恶性肿瘤如乳腺癌<sup>[8]</sup>、基底细胞癌<sup>[9]</sup>、卵巢癌<sup>[10]</sup>中有过表达,意味着其在恶性肿瘤的发生发展中可能发挥了诱导肿瘤细胞过度增殖的作用<sup>[11]</sup>。经典 Hedgehog 通路由 Sonic Hedgehog 配体、Indian Hedgehog 配体、Desert Hedgehog 配体、12 次跨膜蛋白 PTCH1 和 PTCH2、Smoothed 蛋白、核转录因子 GLI 蛋白(Gli1、Gli2、Gli3)构成。配体与 PTCH 的联结可解除其对 SMO 的抑活作用,从而 SMO 获得位移至纤毛,进而改变自身的构象及磷酸化。而后促使 GLI 入细胞核启动

Gli1、PTCH1 等激活 Hedgehog ,促使细胞的增殖<sup>[12]</sup>。在治疗卵巢癌的过程中 ,奈达铂的抗肿瘤作用明确 ,但铂类药物在卵巢癌的治疗中近年来确实没有实质性的进展。一些文献报道了抗肿瘤中药在基础研究以及临床中的应用 ,在此之中 ,人参( 人参皂苷 Rg1) 作为健脾益气扶正的经典药物常用于抗肿瘤的辅助治疗及相关研究当中。故先应用人参皂苷 Rg1 作用于卵巢癌细胞 ,确定抗卵巢癌作用明确后应用奈达铂及与人参皂苷 Rg1 联合作用于卵巢癌细胞 ,观察对细胞增殖的影响 ,同时为寻求其可能机制检测干预前后细胞中 Hedgehog 通路的改变及细胞周期的变化 ,这或许能为卵巢癌的治疗提供一些新的思路。

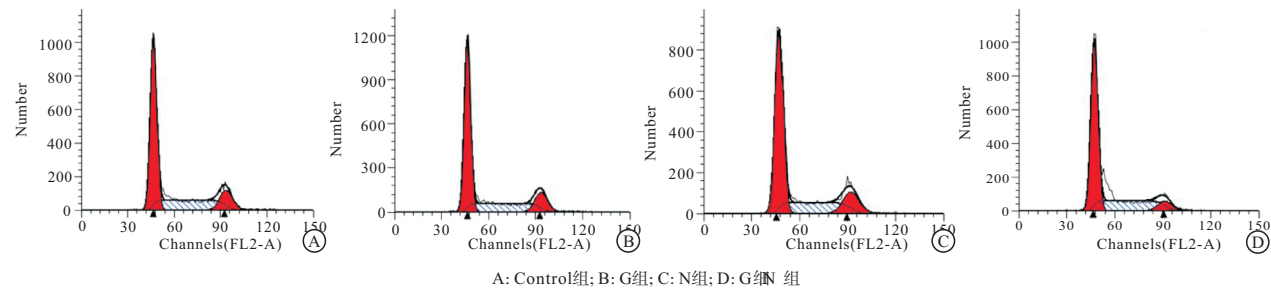


图3 不同分组药物干预后OVCAR-3细胞周期的变化

课题组意图从细胞学及分子生物学角度阐述奈达铂及奈达铂联合人参皂苷 Rg1 对卵巢癌细胞作用的生物学机制。先利用 CCK-8 检测了药物干预后对细胞增殖的影响 ,首先不论是单用奈达铂还是联合人参皂苷 Rg1 均可抑制 OVCAR-3 细胞的增殖 ,再次证实了人参皂苷 Rg1 的抗肿瘤作用 ,并且在两者联合应用后可以表现出对细胞增殖抑制的增效作用。与此同时 ,确立了奈达铂单独作用及人参皂苷 Rg1 联合奈达铂( 人参皂苷 Rg1 浓度恒定下) 作用于细胞的奈达铂的 IC<sub>50</sub> ,发现了联合作用的 IC<sub>50</sub> 要低于单药作用 ,故联合用药可以提升奈达铂的抗肿瘤增殖作用。

因人参皂苷 Rg1 独立作用于细胞增殖的抑制作用较弱 ,进而在常规剂量中未达到 IC<sub>50</sub>。以此为基础 ,选择奈达铂的 IC<sub>50</sub> ( 4. 607 μg/mL) 为后续实验的奈达铂浓度 ,进而在保证安全剂量的同时为证实人参皂苷 Rg1 对奈达铂抗肿瘤的协同增效性 ,选择人参皂苷 Rg1 作用细胞的增殖抑制率 < 10% 的最大无毒剂量即 6. 25 μg/mL 后为后续实验的人参皂苷 Rg1 的浓度。之后进一步从分子层面检测了药物干预后 Hedgehog 通路相关蛋白 PTCH1、SMO、Gli1 在 OVCAR-3 细胞中表达的变化 ,结果显示在实验组药物干预后的 3 种蛋白均有被调低表达的

表3 不同分组药物干预后 OVCAR-3 细胞周期比例( $\bar{x} \pm s$ ; %)

分组	n	G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub>	F	P	MS <sub>组内</sub>
Control 组	3	56.12 ± 4.37	30.16 ± 3.32	13.72 ± 2.33	115.70	<0.01	11.849
G 组	3	58.07 ± 6.18	30.06 ± 7.91	11.87 ± 1.78	46.91	<0.01	34.634
N 组	3	60.17 ± 5.73	29.77 ± 6.52	10.06 ± 0.79	75.50	<0.01	25.323
G + N 组	3	67.89 ± 4.78	26.23 ± 4.73	5.88 ± 0.07 <sup>* #△</sup>	198.83	<0.01	15.075
F	—	2.83	0.31	14.62	—	—	—
P	—	>0.05	>0.05	<0.01	—	—	—
MS <sub>组内</sub>	—	28.243	34.619	2.307	—	—	—

注:与 Control 组比较<sup>\*</sup> P<0.05;与 G 组比较<sup>#</sup> P<0.05;与 N 组比较<sup>△</sup> P<0.05

况 ,与此同时人参皂苷 Rg1 仍然表现了对奈达铂作用的协同效果。结合前期实验与相关学者研究 ,已证实 PTCH1、SMO、Gli1 的增高可以明显促进细胞的恶性增殖。故认为奈达铂与人参皂苷 Rg1 可能通过调低这三种 Hedgehog 通路关键蛋白抑制了细胞的增殖。了解到了增殖抑制可能的分子机制 ,从而继续探讨是否在药物抑制细胞增殖过程中的细胞周期的分布发生了变化 ,结果流式细胞仪检测到药物干预后的 OVCAR-3 细胞周期中 G<sub>1</sub> 所占比列明显增高 ,而同时 G<sub>2</sub> 比例有所下降 ,并且我们仅在人参皂苷 Rg1 联合奈达铂组得出差异的明显性 ,这也进一步验证了人参皂苷 Rg1 与奈达铂的协同作用甚至可以起到关键性作用。

结合以上进而我们推出结论 ,奈达铂可能通过 Hedgehog 通路关键蛋白 PTCH1、SMO、Gli1 的调低作用 ,改变了细胞周期的分布 ,使多数细胞阻断在细胞周期 G<sub>1</sub> ,从而抑制卵巢癌细胞的增殖。与此同时 ,人参皂苷 Rg1 在实验中显现了与奈达铂作用于细胞的协同增效作用 ,其可能在细胞周期的改变中起到关键作用。

以本实验为基础我们展望 ,对于卵巢癌尤其是晚期卵巢癌的综合治疗中 ,增加抗 Hedgehog 通路的理论靶向治疗可能会为卵巢癌病人带来新的治疗思

路和希望。

# 参 考 文 献

- [1] KESSOUS R ,LASKOV I ,ABITBOL J ,et al. Clinical outcome of neoadjuvant chemotherapy for advanced ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol 2017 ,144( 3) :474.
- [2] NÜSSELEINVOLHARD C ,WIESCHAUS E. Mutations affecting segment number and polarity in Drosophila [J]. Nature ,1980 ,287( 5785) :795.
- [3] LI J ,CUI Y ,XU J ,et al. Suppressor of Fused restraint of Hedgehog activity level is critical for osteogenic proliferation and differentiation during calvarial bone development [J]. J Biol Chem 2017 ,292( 38) :15814.
- [4] SRIPERUMBUDUR A ,BREITZIG M ,LOCKEY R ,et al. Hedgehog: the key to maintaining adult lung repair and regeneration [J]. J Cell Commun Signal 2017 ,11( 1) :95.
- [5] SZCZEPNY A ,ROGERS S ,JAYASEKARA W S N ,et al. The role of canonical and non-canonical Hedgehog signaling in tumor progression in a mouse model of small cell lung cancer [J]. Oncogene 2017 ,36( 39) :5544.
- [6] YOSHIDA H ,SHINTANI D ,OGASAWARA A ,et al. Feasibility and response to nedaplatin monotherapy in older patients with ovarian cancer [J]. Arch Gynecol Obstet 2017 ,296( 4) :819.
- [7] 王梓 ,许兴月 ,李琼 ,等. 人参皂苷 Rg1 热裂解产物对 H22 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用 [J]. 中国药理学杂志 ,2017 ,52( 15) :1319.
- [8] ARNOLD KM ,POHLIG RT ,SIMSMOURTADA J. Coactivation of Hedgehog and Wnt signaling pathways is associated with poor outcomes in triple negative breast cancer [J]. Oncol Lett 2017 ,14( 5) :5285.
- [9] YANG X ,DINEHART MS. Triple Hedgehog pathway inhibition for treatment of basal cell carcinoma [J]. J Clin Aesthet Dermatol 2017 ,10( 4) :47.
- [10] ZENG C ,CHEN T ,ZHANG Y ,et al. Hedgehog signaling pathway regulates ovarian cancer invasion and migration via adhesion molecule CD24 [J]. J Cancer 2017 ,8( 5) :786.
- [11] ZHANG F ,REN CC ,LIU L ,et al. SHH gene silencing suppresses epithelial-mesenchymal transition , proliferation , invasion and migration of cervical cancer cells by repressing the hedgehog signaling pathway [J]. J Cell Biochem 2018 ,119( 5) :3829.
- [12] RAHMAN M M ,HAZAN A ,SELWAY JL ,et al. A novel mechanism for activation of GLI1 by nuclear SMO that escapes anti-SMO inhibitors [J]. Cancer Res 2018 ,78( 10) :2577.

( 本文编辑 周洋)

## ( 上接第 441 页)

- [9] HU C ,JIA W. Diabetes in China: epidemiology and genetic risk factors and their clinical utility in personalized medication [J]. Diabetes 2018 ,67( 1) :3.
- [10] LEONARD SL. 心血管病理生理学 [M]. 张天德 ,智光 ,译. 3 版. 北京: 人民军医出版社 2013: 102.
- [11] GONNA H ,RAYKAUSIK K. The importance of dyslipidaemia in the pathogenesis of cardiovascular disease in people with diabetes [J]. Diabetes Obes Metab 2019 ,4( 7) :6.
- [12] SHARMA S ,ADROGUE JV ,GOLFMAN L ,et al. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles the lipotoxic rat heart [J]. FASEB J 2004 ,18( 14) :1692.
- [13] 罗清宇 ,秦英楠 ,刘阳. 曲克芦丁对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠心肌病的改善作用 [J]. 安徽医科大学学报 ,2020 ,55( 4) :534.
- [14] SHEN BB ,MEI M ,PU YM ,et al. Necrostatin-1 Attenuates Renal Ischemia and Reperfusion Injury via Mediation of HIF-1 $\alpha$ /mir-26a/TRPC6/PARP1 Signaling [J]. Mol Ther Nucleic Acids ,2019 ,17: 701.
- [15] OU L ,SUN T ,CHENG Y ,et al. MicroRNA-214 contributes to regulation of necroptosis via targeting ATF4 in diabetes-associated periodontitis [J]. Cell Biochem 2019 ,120( 9) :14791.
- [16] KAR S ,KAMBIS TN ,MISHRA PK ,et al. Hydrogen sulfide-mediated regulation of cell death signaling ameliorates adverse cardiac remodeling and diabetic cardiomyopathy [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2019 ,316( 6) :1237.
- [17] ALTMANN C ,SCHMIDT MHH. The role of microglia in diabetic retinopathy: inflammation , microvasculature defects and neurodegeneration [J]. Int J Mol Sci 2018 ,19( 1) :942.
- [18] HUNTER CA ,JONES SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease [J]. Nat Immunol 2015 ,16( 5) :448.
- [19] LEE SB ,KIM JJ ,HAN SA ,et al. The AMPK-Parkin axis negatively regulates necroptosis and tumorigenesis by inhibiting the necrosome [J]. Nat Cell Biol 2019 ,21( 8) :940.
- [20] MOMPEAN M ,LI W ,LI J ,et al. The structure of the necrosome RIPK1-RIPK3 core , a human hetero-amyloid signaling complex [J]. Cell 2018 ,173( 5) :1244.
- [21] XIA B ,FANG S ,CHEN X ,et al. MLKL forms cation channels [J]. Cell Res 2016 ,26( 5) :517.
- [22] XU Y ,GAO H ,HU Y ,et al. High glucose-induced apoptosis and necroptosis in podocytes is regulated by UCHL1 via RIPK1 / RIPK3 pathway [J]. Exp Cell Res 2019 ,382( 2) :111463.
- [23] XU HX ,DU X ,LIU G ,et al. The pseudokinase MLKL regulates hepatic insulin sensitivity independently of inflammation [J]. Mol Metab 2019 ,23: 14.
- [24] LOTZERICH M ,ROULIN PS ,BOUCKE K ,et al. Rhinovirus 3C protease suppresses apoptosis and triggers caspase-independent cell death [J]. Cell Death Dis 2018 ,9( 3) :272.
- [25] KRETZ AL ,VON KS ,HILLENBRAND A ,et al. Should we keep walking along the trail for pancreatic cancer treatment revisiting TNF-related apoptosis-inducing ligand for anticancer therapy [J]. Cancers ( Basel) 2018 ,10( 3) :77.
- [26] LIU X ,LI Y ,PENG S ,et al. Epstein-Barr virus encoded latent membrane protein 1 suppresses necroptosis through targeting RIPK1/3 ubiquitination [J]. Cell Death Dis 2018 ,9( 2) :53.
- [27] 方婷婷 ,曹瑞平 ,叶红伟 ,等. 高糖诱导的大鼠原代心肌细胞损伤对程序性坏死的影响及其机制 [J]. 中国应用生理学杂志 2019 ,35( 2) :160.

( 本文编辑 周洋)