

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1705.R.20210329.1830.012.html>

doi:10.3969/j.issn.1674-2257.2022.02.002

• 论著 •

# 人参皂甙 Rd 降低 Nod 样受体蛋白 3 表达保护神经细胞创伤性损伤的作用\*

陈燕伟, 王 利, 王 凯, 李 侠, 林 伟, 蒋晓帆, 张 磊<sup>△</sup>

中国人民解放军空军军医大学第一附属医院 神经外科(西安 710032)

**【摘要】 目的** 探讨人参皂甙 Rd(GSRd)治疗 Nod 样受体蛋白 3(NLRP3)保护神经细胞创伤性损伤的作用和分子机制。**方法** 培养 HT22 细胞系,随机分为空白组(Sham 组)、生理盐水组(Con 组)和 GSRd 治疗组(GSRd 组),GSRd 组又分为 10  $\mu\text{mol/L}$  和 50  $\mu\text{mol/L}$  两个亚组。先对 GSRd 组和 Con 组进行划伤 6 h 制成神经细胞创伤性脑损伤模型,再恢复正常培养液培养后加入 GSRd 培养 48 h,最后取材。采用细胞增殖-毒性检测(CCK8 法)检测细胞活力。利用荧光免疫组化法检测 NLRP3 的蛋白水平;利用蛋白质印迹技术检测 NLRP3 的表达变化。酶联免疫吸附测定检测白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )和白细胞介素-18(IL-18)表达变化。**结果** Con 组的细胞活力明显低于 Sham 组,不同剂量 GSRd 组的细胞活力高于 Con 组( $P < 0.05$ )。与 Sham 组比较,Con 组 HT22 细胞中 NLRP3 的染色阳性率高;与 Con 组比较,GSRd 组的 NLRP3 表达明显降低( $P < 0.05$ ),且 IL-1 $\beta$  和 IL-18 表达也明显减少( $P < 0.05$ )。**结论** GSRd 可明显下调 NLRP3 表达水平,并减轻 IL-1 $\beta$  和 IL-18 等炎症因子的释放,发挥治疗创伤性脑损伤的重要作用。

**【关键词】** Nod 样受体蛋白 3;人参皂甙 Rd;创伤性脑损伤;白介素-1 $\beta$ ;白介素-18

**【中图分类号】** R651.15 **【文献标志码】** A

**Ginsenoside Rd Inhibits Nod-like Receptor Protein 3 Expression and Protects Neural Cells from Pyroptosis with Traumatic Brain Injury** Chen Yanwei, Wang Li, Wang Kai, Li Xia, Lin Wei, Jiang Xiaofan, Zhang Lei<sup>△</sup>. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of PLA Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the role of ginsenoside Rd (GSRd) in regulating the expression of inflammatory related protein Nod-like receptor protein 3 (NLRP3) and protecting neural cells from pyroptosis with traumatic brain injury and its molecular mechanism. **Methods** HT22 cell line was cultured and randomly divided into blank group (Sham group), normal saline control group (Con group) and GSRd treatment group (GSRd group). And the GSRd group was further divided into 10  $\mu\text{mol/L}$  and 50  $\mu\text{mol/L}$  subgroups. The GSRd groups and Con group were scratched for 6 h to make models of traumatic brain injury of neuronal cells. Then normal culture medium was restored and GSRd was added to culture for 48 h. And finally the samples were collected. Cell viability was detected by cell counting kit-8 (CCK8) assay. The level of NLRP3 was detected by fluorescence immunohistochemistry. The changes of NLRP3 expression were detected by Western blotting. The changes of the expression of IL-1 $\beta$  and IL-18 was detected by standard enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kit. **Results** Cell viability of Con group was significantly lower than that of Sham group, and cell viability of GSRd groups with different dosages was higher than that of Con group ( $P < 0.05$ ). Compared with Sham group, the positive rate of NLRP3 staining in Con group was high. Compared with Con group, the expression of NLRP3, IL-1 $\beta$  and IL-18 in GSRd groups was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** GSRd can significantly down-regulate the expression level of NLRP3, and reduce the release of inflammatory factors such as IL-1 $\beta$  and IL-18, which plays an important role in the treatment of traumatic brain injury.

**【Key words】** Nod-like receptor protein 3; Ginsenoside Rd; Traumatic brain injury; Interleukin-1 $\beta$ ; Interleukin-18

\* 基金项目:国家自然科学基金面上项目资助(No:81974188);陕西省国际科技合作项目(No:2019KW-039);陕西省重点研发计划项目(No:2018SF-154)

<sup>△</sup>通信作者:张 磊, E-mail: zhangleiafmmu@163.com

人参皂甙 Rd(ginsenoside Rd, GSRd)是从中药人参中提取的三萜类皂甙单体物质,由于其亲脂的特性,即便在能量缺乏情况下,也能轻易穿过血脑屏障和细胞膜,从抗氧化、抗炎和减轻线粒体损伤等方面影响多种神经细胞的活性和代谢,对缺血性脑卒中、阿尔茨海默病和脑创伤等中枢神经系统疾病发挥广泛而独特的作用<sup>[1-2]</sup>。近年有研究<sup>[3]</sup>表明,除谷氨酸具有兴奋毒性作用,钙离子具有超载和氧化应激损伤外,炎症在创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)的发生发展中发挥关键作用。在前期脑缺血性疾病的分子病理机制研究<sup>[4-5]</sup>中发现,以先天免疫通过模式识别 Nod 样受体蛋白 3(nod-like receptor protein 3, NLRP3)等受体,激活 Caspase-1,形成炎性小体,可进一步促进大量白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )和白细胞介素-18(interleukin-18, IL-18)等炎性因子分泌和释放,加重神经细胞死亡——焦亡。但 GSRd 能否通过拮抗焦亡影响 TBI 的研究少见报道。本研究旨在观察 GSRd 对神经细胞划伤后焦亡的影响,探讨其可能存在的分子机制,为 GSRd 临床治疗 TBI 提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 细胞 HT22 细胞系购自上海吉凯基因有限公司并由实验室保存。

1.1.2 试剂 GSRd 购自美国 Sigma 公司;兔抗大鼠 NLRP3 单克隆抗体购自美国 AdipoGen 公司;兔抗大鼠  $\beta$ -Actin 单克隆抗体购自美国 Cell Signaling 公司;山羊抗兔 IgG/辣根酶标记购自北京中杉金桥生物技术有限公司;IL-1 $\beta$  和 IL-18 ELISA 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司;链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组化试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 HT22 细胞经复苏、培养和扩增后,诱导其向交感神经元样细胞分化:取传 5 代以上 HT22 细胞,经消化分散后,制成  $5 \times 10^5$  个/mL 细胞悬液,接种于塑料培养皿中,置于培养箱内进行培养。每周换液 2 次,每次更换 1/2 新鲜培养液。

1.2.2 神经细胞划伤损伤模型制作、GSRd 治疗及分组

准备 6 孔板,将 HT22 细胞悬液均匀铺种于孔板中,将孔板放置于 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 6 d,随机分为空白组(Sham 组)、生理盐水组(Con 组)和 GSRd 治疗组(GSRd 组),GSRd 组又分为 10  $\mu$ mol/L 和 50  $\mu$ mol/L 两个亚组。在 HT22 细胞培养皿中用 10  $\mu$ L 灭菌枪头划伤各孔均匀横竖 6 道(共 12 道),GSRd 培养 48 h 后提取细胞。GSRd 组维持培养基 GSRd 10  $\mu$ mol/L 和 50  $\mu$ mol/L,Con 组同时给予等剂量生理盐水,Sham 组细胞不做任何处理。

1.2.3 细胞活力实验 细胞接种到 96 孔板中(5 000 个/孔),每组设置 5 个复孔,培养 24 h。再按细胞分组,采用细胞增殖-毒性检测试剂盒(cell counting kit-8, CCK8)检测各组细胞活力,根据 450 nm 下的吸光度(D)值对结果进行计算。

1.2.4 荧光免疫组化法检测 NLRP3 蛋白表达 HT22 细胞经 4% 多聚甲醛固定后,驴血清封闭 30 min,加入一抗抗体(NLRP3 1:100)4 °C 过夜, PBS 洗涤 3 遍,加入驴抗兔荧光二抗抗体(1:1 000)室温孵育 3 h, PBS 洗涤 5 遍, Hoechst 染料染核 5 min, PBS 洗涤 5 遍,镜检。

1.2.5 蛋白质印迹技术检测 NLRP3 表达变化 收集各组处理过的 HT22 细胞,提取细胞总蛋白,考马斯亮蓝法测定蛋白浓度,聚丙烯酰胺凝胶电泳,分离蛋白后转移到硝酸纤维素膜上,与 NLRP3 (1:500),  $\beta$ -actin(1:2 000)抗体结合,然后与辣根过氧化物酶标记的二抗结合,电化发光法显色后照相。最后用凝胶成像系统(Image master VDS)摄影,图像分析软件(Image J)行灰度扫描分析。以目的蛋白与  $\beta$ -actin 的蛋白产物条带灰度值比值作为其蛋白水平的相对量,并用扫描图像分析仪计算蛋白条带的表达。

1.2.6 酶联免疫吸附测定检测 IL-1 $\beta$  和 IL-18 表达变化 将 HT22 细胞接种于 96 孔板中,同体外培养 HT22 细胞划伤的制作、Res 预处理及分组,按照 ELISA 试剂盒流程进行 IL-1 $\beta$  和 IL-18 表达变化的检测。

### 1.3 统计学方法

应用 GraphPad 软件对数据进行统计分析。定量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间均数比较采用单因素方

差分析,组间两两比较采用 Dunnett 检验,检验水准  $\alpha$  除特别说明外均设定为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 CCK8 检测各组 HT22 细胞活力

Con 组的细胞活力明显低于 Sham 组,不同剂量 GSRd 组的细胞活力高于 Con 组 ( $P < 0.05$ ) (图 1)。

### 2.2 荧光免疫组化检测各组 HT22 细胞 NLRP3 表达水平

NLRP3 蛋白主要分布在细胞膜和细胞质上。与 Sham 组比较,Con 组 HT22 细胞死亡较多,但存活细胞中 NLRP3 的染色阳性率较高;与 Con 组比

较,GSRd 10  $\mu\text{mol/L}$  和 50  $\mu\text{mol/L}$  组 HT22 细胞存活较多,且 NLRP3 表达降低(图 2)。

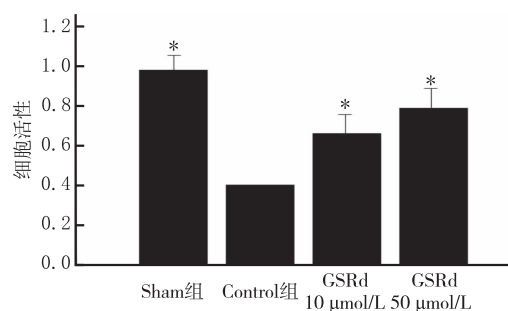


图 1 CCK8 检测各组 HT22 细胞活力

注:与 Con 组比较,\*  $P < 0.05$ 。

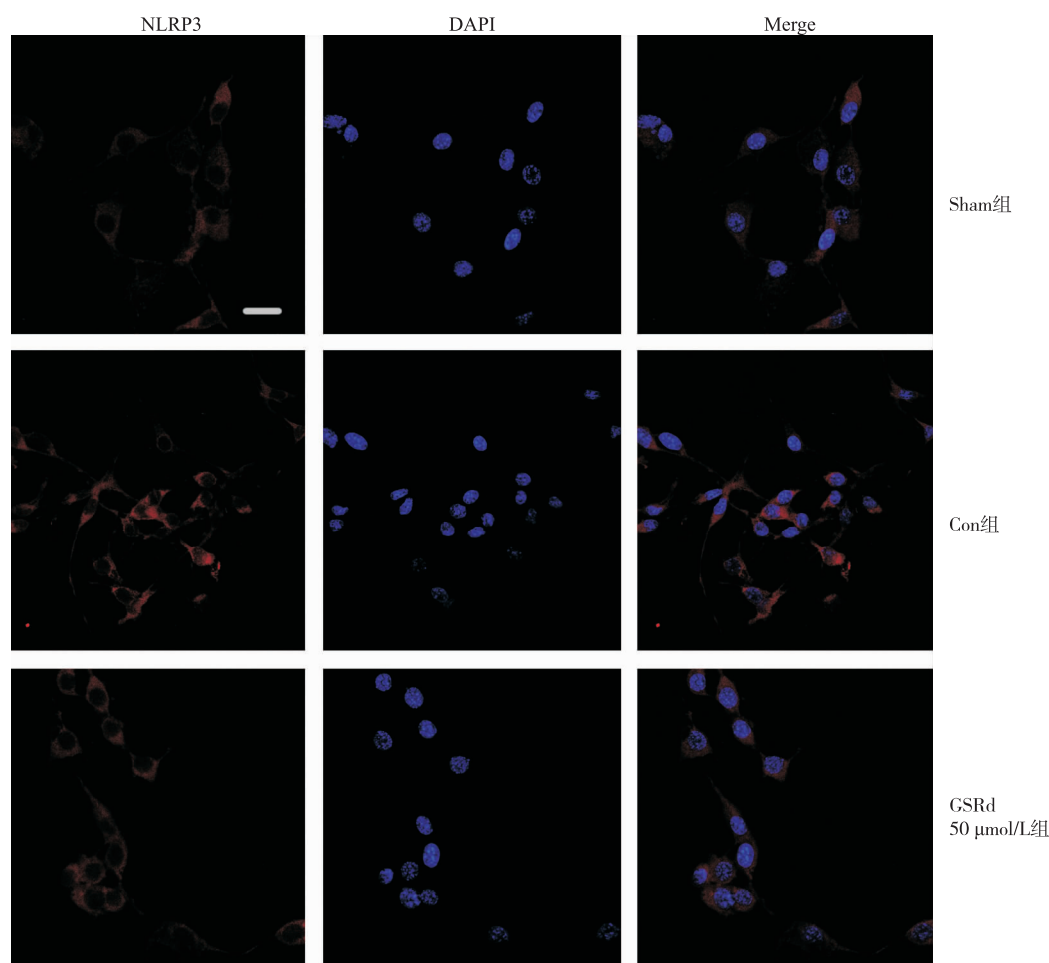


图 2 3 组 HT22 细胞中 NLRP3 蛋白表达情况( $\times 400$ )

### 2.3 蛋白质印迹技术检测各组 HT22 细胞 NLRP3 的表达变化

与 Sham 组比较,Con 组中 NLRP3 表达水平增高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );GSRd 10  $\mu\text{mol/L}$  和 50  $\mu\text{mol/L}$  组中 NLRP3 表达水平也增高,差异

均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );GSRd 10  $\mu\text{mol/L}$  和 50  $\mu\text{mol/L}$  组与 Con 组比较,均可明显降低 NLRP3 表达,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );GSRd 10  $\mu\text{mol/L}$  和 50  $\mu\text{mol/L}$  组比较, NLRP3 表达差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (图 3)。

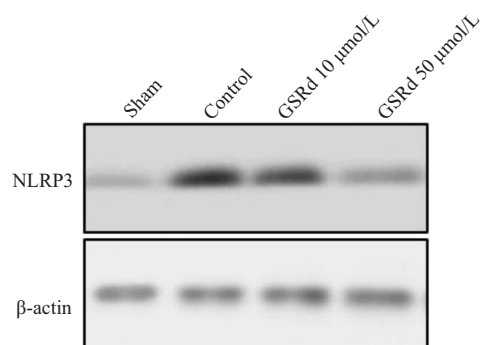


图3 蛋白质印迹技术检测 NLRP3 蛋白在各组中的表达变化

## 2.4 酶联免疫吸附测定检测各组 HT22 细胞 IL-1 $\beta$ 和 IL-18 表达

与 Con 组比较, GSRd 10  $\mu\text{mol/L}$  和 50  $\mu\text{mol/L}$  组的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 表达水平较低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而 GSRd 10  $\mu\text{mol/L}$  和 50  $\mu\text{mol/L}$  组 IL-1 $\beta$  和 IL-18 表达比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。

表 1 4 组细胞 IL-1 $\beta$  和 IL-18 表达对比 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	IL-1 $\beta$ 释放量比值	IL-18 释放量比值
Sham 组	1.06 $\pm$ 0.11	1.02 $\pm$ 0.12
Con 组	1.93 $\pm$ 0.12 <sup>*</sup>	2.87 $\pm$ 0.14 <sup>*</sup>
GSRd 10 $\mu\text{mol/L}$ 组	1.47 $\pm$ 0.15 <sup>#</sup>	2.07 $\pm$ 0.13 <sup>#</sup>
GSRd 50 $\mu\text{mol/L}$ 组	1.38 $\pm$ 0.14 <sup>#<math>\Delta</math></sup>	1.96 $\pm$ 0.12 <sup>#<math>\Delta</math></sup>

注: 与 Sham 组比较, <sup>\*</sup>  $P < 0.05$ ; 与 Con 组比较, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ ; GSRd 不同剂量组比较,  <sup>$\Delta$</sup>   $P > 0.05$ 。

## 3 讨论

TBI 具有高发生率、高致残率和高致死率, 已成为威胁人类健康和生命的一类疾病。据统计, 每年全世界超过 5 000 万人经历 TBI, 给家庭及社会带来了沉重的负担。TBI 致伤机制复杂, 创伤后神经递质释放、自由基产生、钙介导损伤、线粒体功能障碍和凝血功能异常等病理生理过程可造成机体二次损伤, 导致患者预后不佳<sup>[6-7]</sup>。近年来, 关于机体固有免疫系统在疾病诱发炎症反应中发挥作用成为研究热点。有研究<sup>[8]</sup>表明, 溶酶体损伤可释放大量组织蛋白酶, 激活 NLRP3 因子, 通过细胞凋亡相关斑点样含有胱天蛋白酶募集结构域蛋白与 Caspase-1 结合, 形成 NLRP3 炎性小体, 促进 IL-1 $\beta$  和 IL-18 等炎性因子大量释放, 加重疾病的发生发展, 影响患者预后。Irrera 等<sup>[9]</sup>在最新一篇综述中说明 TBI 发生后 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 明显上调; 同时, 利用特异性 NLRP3 抑制剂可减轻 TBI 发生

后以神经炎症为特征的损伤。此外, NLRP3 和与其激活相关的分子可被认为是 TBI 导致的其他神经退行性疾病的生物标志物和预测因子, 提示 NLRP3 炎性小体在 TBI 的发生发展, 特别是炎症损伤中发挥核心作用。本研究结果发现, 神经细胞划伤模拟 TBI 的模型中, 神经细胞内 NLRP3 染色阳性率较高, IL-1 $\beta$  和 IL-18 也大量释放, 加重神经细胞死亡, 提示寻找有效拮抗神经炎症的药物或方法可改善 TBI 的预后。

GSRd 是一种古老的传统中草药——人参的提取物, 在许多疾病的预防治疗中发挥疗效。研究<sup>[10-12]</sup>证实, GSRd 主要作用机制包括: 1) 抑制氧自由基作用, 抑制活性氧的过量积聚和脂质过氧化反应; 2) 抑制炎症反应作用, 包括自由基的清除与小胶质细胞释放炎性因子 (IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 TNF $\alpha$ ) 的抑制; 3) 抑制兴奋性氨基酸毒性和钙超载作用; 4) 减轻线粒体损伤作用, 改善线粒体功能失调, 重建能量代谢系统以及抑制继发的神经细胞凋亡等。Li 等<sup>[13]</sup>发现, 人参皂苷 Rg1 具有抗炎作用, 在中枢神经系统疾病的炎症反应中, 可抑制下游炎症因子产生, 保护受损神经细胞。还有研究<sup>[14]</sup>表明, A $\beta$  1-42 诱导的 BV-2 细胞模拟阿尔海默茨病时, 不同浓度的人参皂苷 Rg1 可不同程度抑制 IL-1 $\beta$ 、IL-18 分泌, 促进抗氧化酶活力, 具有明显的抗炎活性, 其分子机制是通过抑制 NLRP3 炎性小体激活来实现的。本研究则发现, 低剂量 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 和大剂量 (50  $\mu\text{mol/L}$ ) GSRd 对神经细胞损伤均有治疗作用, 这种保护作用是通过降低 NLRP3 表达, 抑制 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的大量释放, 减轻炎症反应, 从而降低神经细胞死亡实现的。上述结果表明, 神经细胞受损后, 氧化应激反应和炎症反应同时加剧其损伤程度, 而不同浓度的 GSRd 均可有效抑制氧化应激毒性作用, 减轻白介素等炎性因子的释放, 阻断神经细胞死亡通路, 发挥神经细胞保护作用。

综上所述, GSRd 可通过抑制 NLRP3 信号通路, 减少 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的释放, 进而抑制神经细胞死亡。但 GSRd 作用后拮抗的炎症反应和氧化应激之间信号通路, 以及在体内治疗的作用有待进一步实验验证。

(下转第 151 页)



体内环境下, UPS 对突变蛋白的清除作用, 因此尚需进一步的体内实验来验证其作用效果及机制。

#### 参考文献

- [1] Niewiadomska-Cimicka A, Doussau F, Perot J B, *et al.* SCA7 mouse cerebellar pathology reveals preferential downregulation of key purkinje cell-identity genes and shared disease signature with SCA1 and SCA2 [J]. *J Neurosci*, 2021, 41(22): 4910-4936.
- [2] Neves-Carvalho A, Duarte-Silva S, Teixeira-Castro A, *et al.* Polyglutamine spinocerebellar ataxias: emerging therapeutic targets [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2020, 24(11): 1099-1119.
- [3] Karam A, Trottier Y. Molecular mechanisms and therapeutic strategies in spinocerebellar ataxia type 7 [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1049: 197-218.
- [4] Drombosky K W, Rode S, Kodali R, *et al.* Mutational analysis implicates the amyloid fibril as the toxic entity in Huntington's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2018, 120: 126-138.
- [5] Papaevgeniou N, Chondrogianni N. UPS activation in the battle against aging and aggregation-related diseases: an extended review [J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1449: 1-70.
- [6] Liu Y, Hettinger C L, Zhang D, *et al.* Sulforaphane enhances proteasomal and autophagic activities in mice and is a potential therapeutic reagent for Huntington's disease [J]. *J Neurochem*, 2014, 129(3): 539-547.
- [7] Kiprowska M J, Stepanova A, Todaro D R, *et al.* Neurotoxic mechanisms by which the USP14 inhibitor IU1 depletes ubiquitinated proteins and Tau in rat cerebral cortical neurons: relevance to Alzheimer's disease [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(6): 1157-1170.
- [8] Kuo C L, Goldberg A L. Ubiquitinated proteins promote the association of proteasomes with the deubiquitinating enzyme Usp14 and the ubiquitin ligase Ube3c [J]. *PNAS*, 2017, 114(17): E3404-E3413.
- [9] Yu X, Ajayi A, Boga N R, *et al.* Differential degradation of full-length and cleaved ataxin-7 fragments in a novel stable inducible SCA7 model [J]. *J Mol Neurosci*, 2012, 47(2): 219-233.
- [10] Yu X, Muñoz-Alarcón A, Ajayi A, *et al.* Inhibition of autophagy via p53-mediated disruption of ULK1 in a SCA7 polyglutamine disease model [J]. *J Mol Neurosci*, 2013, 50(3): 586-599.
- [11] Takahashi D, Arimoto H. Selective autophagy as the basis of autophagy-based degraders [J]. *Cell Chem Biol*, 2021, 28(7): 1061-1071.
- [12] Kabir M T, Uddin M S, Abdeen A, *et al.* Evidence linking protein misfolding to quality control in progressive neurodegenerative diseases [J]. *Curr Top Med Chem*, 2020, 20(23): 2025-2043.
- [13] Hanna J, Guerra-Moreno A, Ang J, *et al.* Protein degradation and the pathologic basis of disease [J]. *Am J Pathol*, 2019, 189(1): 94-103.
- [14] Wang Y, Le W D. Autophagy and ubiquitin-proteasome system [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1206: 527-550.
- [15] Zhang Q, Tsoi H, Peng S, *et al.* Assessing a peptidylc inhibitor-based therapeutic approach that simultaneously suppresses polyglutamine RNA- and protein-mediated toxicities in patient cells and *Drosophila* [J]. *Dis Model Mech*, 2016, 9(3): 321-334.
- [16] üstün S, Hofius D. Anti- and pro-microbial roles of autophagy in plant-bacteria interactions [J]. *Autophagy*, 2018, 14(8): 1465-1466.
- [17] Drombosky K W, Rode S, Kodali R, *et al.* Mutational analysis implicates the amyloid fibril as the toxic entity in Huntington's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2018, 120: 126-138.
- [18] Wang Y, Jiang Y, Ding S, *et al.* Small molecule inhibitors reveal allosteric regulation of USP14 via steric blockade [J]. *Cell Res*, 2018, 28(12): 1186-1194.

(上接第 145 页)

#### 参考文献

- [1] Huang X T, Li X, Xie M L, *et al.* Resveratrol: Review on its discovery, anti-leukemia effects and pharmacokinetics [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 306: 29-38.
- [2] 周德君, 袁洁. 白藜芦醇治疗胶质瘤研究进展 [J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2019, 46(2): 229-233.
- [3] Russo M V, McGavern D B. Inflammatory neuroprotection following traumatic brain injury [J]. *Science*, 2016, 353(6301): 783-785.
- [4] 李笑冰, 岳宗源, 白婧, 等. 乌司他丁预处理下调 NLRP3 保护缺血性脑损伤的研究 [J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2018, 17(2): 147-150.
- [5] Liu W, Chen Y, Meng J, *et al.* Ablation of caspase-1 protects against TBI-induced pyroptosis *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 48.
- [6] Khatri N, Thakur M, Pareek V, *et al.* Oxidative stress: major threat in traumatic brain injury [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2018, 17(9): 689-695.
- [7] Lazaridis C, Rusin C G, Robertson C S. Secondary brain injury: Predicting and preventing insults [J]. *Neuropharmacology*, 2019, 145(pt b): 145-152.
- [8] Man S M, Karki R, Kanneganti T D. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases [J]. *Immunol Rev*, 2017, 277(1): 61-75.
- [9] Irrera N, Russo M, Pallio G, *et al.* The role of NLRP3 inflammasome in the pathogenesis of traumatic brain injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17): 6204.
- [10] 谢瑱, 张琛, 史明, 等. 人参皂甙 Rd 在脑缺血中的保护作用 [J]. *神经解剖学杂志*, 2012, 28(5): 510-512.
- [11] Ye R D, Yang Q Z, Kong X W, *et al.* Ginsenoside Rd attenuates early oxidative damage and sequential inflammatory response after transient focal ischemia in rats [J]. *Neurochem Int*, 2011, 58(3): 391-398.
- [12] Wang P W, Du X Y, Xiong M Q, *et al.* Ginsenoside Rd attenuates breast cancer metastasis implicating derepressing microRNA-18a-regulated Smad2 expression [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 33709.
- [13] Li N J, Liu Y, Li W, *et al.* A UPLC/MS-based metabolomics investigation of the protective effect of ginsenosides Rg1 and Rg2 in mice with Alzheimer's disease [J]. *J Ginseng Res*, 2016, 40(1): 9-17.
- [14] 李均朝, 石胜良, 王成志, 等. 人参皂苷 Rg1 对 A $\beta_{1-42}$  诱导的 BV-2 细胞中 NLRP3 炎性小体激活的抑制作用 [J]. *广西医科大学学报*, 2020, 37(7): 1215-1219.