

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.19.002

千金藤素腹腔注射对卵巢癌模型大鼠的作用及其机制研究*

蔡斌¹ 马洁¹ 李林霞¹ 桑震宇¹ 陈华莉^{2Δ}

(1 上海交通大学附属第一人民医院妇产科 上海 200080; 2 中国科学院上海药物研究所 上海 201203)

摘要 目的:研究千金藤素腹腔注射对卵巢癌模型大鼠的作用及其机制。**方法:**选取 30 只 SD 级清洁级健康雌性大鼠,按照随机数字表法分成模型组、实验组与空白对照组,每组各 10 只。空白对照组不予以处理,模型组与实验组建立卵巢癌模型,且实验组在造模后予以千金藤素腹腔注射干预,使用剂量为 20 mg/kg 每次,1 次/d,给药 30d,模型组与空白对照组予以等量生理盐水干预。比较各组大鼠荷瘤重量、腹水量以及肿瘤体积,癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 153(CA153)及人附睾蛋白(HE4)表达水平,磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)、张力蛋白同源缺失的染色体(PTEN)表达,免疫指标水平。**结果:**模型组与实验组大鼠荷瘤重量、腹水量、肿瘤体积及 CEA、CA153、HE4 表达水平均高于空白对照组,且实验组大鼠上述各项指标水平均低于模型组(均 $P<0.05$)。模型组及实验组大鼠的 PI3K、p-mTOR、PTEN 表达水平均低于空白对照组,且实验组大鼠的 PI3K、p-mTOR、PTEN 表达水平均高于模型组(均 $P<0.05$)。模型组及实验组大鼠的 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均低于空白对照组,且实验组大鼠 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均高于模型组(均 $P<0.05$);模型组及实验组大鼠的 CD8⁺ 水平均高于空白对照组,且实验组大鼠 CD8⁺ 水平低于模型组(均 $P<0.05$)。**结论:**千金藤素腹腔注射对卵巢癌模型大鼠具有明显的抑癌作用,有利于下调肿瘤标志物水平,其主要作用机制可能与调控 PI3K/mTOR 信号通路、PTEN 表达以及免疫功能有关。

关键词:卵巢癌;千金藤素;作用机制;PI3K/mTOR 信号通路

中图分类号:R-33;R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)19-3607-05

Study on the Effect and Mechanism of Qianjin Tensu Intraperitoneal Injection on Ovarian Cancer Model Rats*

CAI Bin¹, MA Jie¹, LI Lin-xia¹, SANG Zhen-yu¹, CHEN Hua-li^{2Δ}

(1 Department of Obstetrics and Gynecology, The First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200080, China; 2 Shanghai Institute of Pharmacy, Chinese Academy of Sciences, Shanghai, 201203, China)

ABSTRACT Objective: To study the effect and mechanism of qianjin tensu intraperitoneal injection on ovarian cancer model rats. **Methods:** 30 SD clean grade healthy female rats were selected, and divided into model group, experimental group and blank control group according to random number table method, 10 rats in each group. No treatment was given to the blank control group. Ovarian cancer model was established between the model group and the experimental group. After modeling, qianjin tensu intraperitoneal injection was given to the experimental group at a dose of 20 mg/kg each time, 1 times/d, and administered for 30d. The model group and the blank control group were given the same amount of normal saline intervention. The tumor-bearing weight, abdominal water volume, tumor volume, carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 153 (CA153), human epididymal protein (HE4) expression, phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), rapamycin target protein (p-mTOR), homologous deletion of tensin chromosome (PTEN) expression and immune indicators of each group were compared. **Results:** The tumor-bearing weight, abdominal water volume, tumor volume and CEA, CA153, HE4 of the rats in the model group and the experimental group were all higher than those in the blank control group, and the levels of the above indicators in the experimental group were lower than those in the model group (all $P<0.05$). The expressions levels of PI3K, p-mTOR and PTEN in the model group and the experimental group were all lower than those in the blank control group, and the expressions levels of PI3K, P-MTOR and PTEN in the experimental group were all higher than those in the model group (all $P<0.05$). The levels of CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in the model group and the experimental group were lower than those in the blank control group, and the levels of CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in the experimental group were higher than those in the model group (all $P<0.05$). The level of CD8⁺ in the model group and the experimental group were higher than that in the blank control group, and the level of CD8⁺ in the experimental group was lower than that in the model group (all $P<0.05$). **Conclusion:** Qianjin tensu intraperitoneal injection has an obvious anticancer effect on ovarian cancer model rats, which is beneficial to down-regulation of tumor markers, and its main mechanism may be related to the regulation of PI3K/mTOR signaling pathway, PTEN expression and immune function.

* 基金项目:上海市自然科学基金面上项目(12ZR1424200)

作者简介:蔡斌(1978-),男,博士,副主任医师,研究方向:子宫内异症和妇科肿瘤诊疗, E-mail:bbmman2020@126.com

Δ 通讯作者:陈华莉(1977-),女,本科,高级实验师,研究方向:抗肿瘤药物筛选和作用机制研究, E-mail:chenhuali2021@126.com

(收稿日期:2021-05-06 接受日期:2021-05-31)

Key words: Ovarian cancer; Qianjin tensu; Effect and mechanism; PI3K/mTOR signaling pathway

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.31 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)19-3607-05

前言

卵巢癌属于临床上较为常见的一种女性恶性肿瘤,患者普遍预后不良,已受到国内外的广泛关注^[1,2]。目前,外科手术与化疗联合是晚期卵巢癌患者常见的治疗方案,虽有一定效果,但西医所用化疗药物均属于外毒,绝大多数患者可能对化疗药物产生耐药性或(和)出现严重毒副反应,继而影响化疗效果,不利于患者的治疗^[3,4],而中医药治疗可有效避免上述耐药性以及毒副反应的出现,从而可能发挥更为显著的效果。千金藤素是来自防己科千金藤属植物中所提取而来的一种生物碱,具有极强的生物活性,可发挥抗炎、抗肿瘤等作用^[5,6]。本文通过研究千金藤素腹腔注射对卵巢癌模型大鼠的作用及其作用机制,旨在为千金藤素应用于卵巢癌的治疗中提供理论依据,现作以下报道。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选取 30 只 SD 级清洁级健康雌性大鼠,所有大鼠均购自上海市职业卫生检测中心[动物许可证号:SYXK(沪)-2014-0048]。6~10 周龄,平均(8.21±0.45)周龄;体重 200~230 g,平均体重(212.35±10.66)g;饲养条件:湿度 35%~40%,温度 22~25℃,紫外线定时照射。标准饲料实施统一喂养,对大鼠活动不予以限制,进行为期 7d 的饲养。

1.1.2 实验药品 千金藤素(购自南京泽朗医药科技技术有限公司)。

1.1.3 实验试剂与仪器 兔抗大鼠 CA153 和 HE4 抗体(购自上海国药集团化学试剂有限公司);兔抗大鼠 CEA 抗体(购自上海江莱生物科技有限公司);NUTU-19 卵巢癌细胞(购自深圳市豪地华拓生物科技有限公司);HE 染色剂与 PBS 缓冲液(均购自北京中山金桥生物技术有限公司)。仪器:全自动化学发光免疫分析仪及其配套试剂(购自成都恩普生医疗科技有限公司);超净工作台(购自苏州净化设备一厂);流式细胞仪(购自美国 BD 公司);石蜡切片机(购自德国 SLEE 公司);天平(购自上海天平仪器厂);酶标仪(购自美国 BIO-RAD 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物造模与处理 将所有大鼠以随机数字表法分成三组,即模型组、实验组及空白对照组,每组 10 只。空白对照组不进行任何处理,模型组及实验组分别选择右腋下注射 NUTU-19 卵巢癌细胞 0.5 mL,且注射时机为卵巢癌细胞处于对数生长期,当两种癌细胞聚集形成的细胞团浓度 $\geq 1 \times 10^6$ mL 时,即造模成功。当大鼠右下腋窝处的肿瘤大小生长至 0.4×0.4 cm² 时,且体重下降,活动障碍,毛发干枯,即造模完成。以腹腔注射 20 mg/kg 千金藤素的方式对实验组大鼠进行干预,1 次/d,给药 30d。对空白对照组与模型组大鼠腹腔注射等量生理盐水进行干预,1 次/d,干预 30d。

1.2.2 切片处理 干预结束后首先采集大鼠血液样本,之后以断头法处死大鼠,采集卵巢组织与卵巢癌组织,以 10%的甲醛

溶液固定处理。随后以不同浓度梯度乙醇完成脱水处理,清除组织内的水分,随后进行二甲苯透明处理,置入融化的石蜡中,之后置于包埋盒内。采用切片机对包埋处理好的组织蜡块进行固定,随后作厚度为 5 μ m 的连续切片。

1.2.3 HE 染色处理 首先采用二甲苯完成脱蜡 2 次处理,5 min/次,随后于梯度乙醇下处理 3 min,以自来水冲洗。随后以苏木素染色 5 min,再次自来水冲洗,以 1%的盐酸乙醇处理 20s,于 0.2%氨水中处理 3 min,以自来水冲洗。以浓度 0.5%伊红染色 10 min,自来水冲洗。最后以梯度乙醇进行脱水处理,采用中性树胶进行封片,以光学显微镜进行图像分析。

1.2.4 称重统计各组大鼠荷瘤重量、腹水量以及肿瘤体积 荷瘤重量采用天平称重,腹水量的测量通过量瓶完成,肿瘤体积=(肿瘤长径×肿瘤短径×肿瘤短径)/2。

1.2.5 癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 153(CA153)及人附睾蛋白(HE4)表达检测 取各组大鼠的血液 2 mL,以 3200 rpm 行分离血清,以酶联免疫吸附法检测 CEA、CA153、HE4 水平。

1.2.6 Western blot 法 采用 Western blot 法检测磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)、张力蛋白同源缺失的染色体(PTEN)蛋白相对表达量,以 PBS 缓冲液将采集的卵巢癌细胞反复冲洗 ≥ 3 次,将缓冲液分离,并将 IP 细胞裂解液加入其中,裂解处理 35 min。提取总蛋白,以 BCA 法进行蛋白浓度的测定。取 20 μ g/孔蛋白质,加入适量浓度的蛋白缓冲液,以 10%的 SDS-PAGE 凝胶电泳 15 min。电泳完成后转膜,并在 37℃条件下摇床上封闭 1.5 h。滴加一抗,于 4℃条件下孵育过夜。然后采用 TBST 缓冲液冲洗,并滴加二抗,于室温条件下孵育 1h。再次以 TBST 缓冲液冲洗,加入显影剂。以目的蛋白条带分析灰度值,将内参条带灰度值与目的蛋白条带灰度值的比值记作目的蛋白的相关表达量。

1.2.7 免疫功能检测 分别取各组大鼠外周血 5 mL,加入 5 mL 浓度为 70%的乙醇混匀,在 4℃环境下静置 48h,离心去除乙醇,PBS 洗涤,采用 PBS 溶液打散细胞图案后加入水解酶,于 37℃条件下静置反应 1h。随后加入碘化丙啶染液,于室温避光条件下孵育 30 min。最后以流式细胞仪检测 CD4⁺ 与 CD8⁺ 水平,并计算 CD4⁺/CD8⁺。

1.3 统计学处理

以 SPSS 22.0 分析数据。荷瘤重量、腹水量、肿瘤体积等计量资料经 K-S 检验符合正态分布,表示方式为($\bar{x} \pm s$),对比采用 LSD-t 检验及单因素方差分析。 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 三组大鼠的卵巢及卵巢癌组织 HE 染色组织对比

空白对照组卵巢及卵巢癌组织 HE 染色组织可见每个卵巢实质发育阶段的卵泡,如图 1A 所示;模型组可观察到椭圆形的肿瘤细胞,增大的核,深染的核仁和增加的核数量,如图 1B 所示;实验组的染色组织显示出不同程度的斑片状坏死且染色变浅,如图 1C 所示。

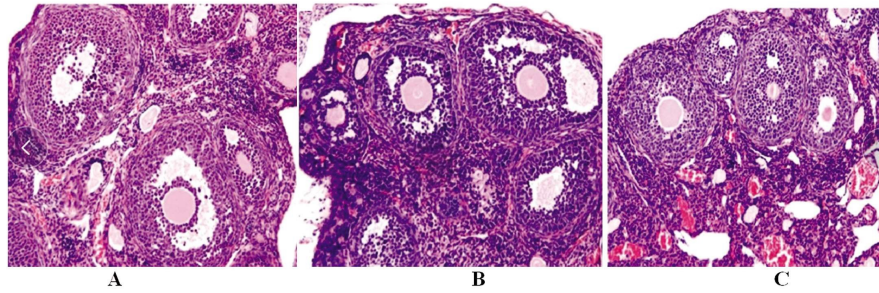


图 1 各组大鼠的卵巢及卵巢癌组织 HE 染色组织(×200)

Fig. 1 HE stained tissues of ovarian and ovarian cancer of rats in each group(× 200)

2.2 三组大鼠荷瘤重量、腹水量以及肿瘤体积对比 于空白对照组,但实验组大鼠上述各项指标水平均低于模型组
模型组、实验组大鼠荷瘤重量、腹水量以及肿瘤体积均高 (均 $P < 0.05$), 见表 1。

表 1 三组大鼠荷瘤重量、腹水量以及肿瘤体积对比($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of tumor-bearing weight, abdominal water volume and tumor volume of the three groups of rats ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Tumor-bearing weight(mg)	Abdominal water volume(V/mL)	Tumor volume(cm^3)
Blank control group	10	0.00±0.00	12.02±0.25	0.00±0.00
Model group	10	16.22±0.82 [#]	80.48±4.25 [#]	15.29±3.41 [#]
Experimental group	10	9.17±0.82 ^{**}	31.58±2.17 ^{**}	10.78±2.48 ^{**}
F	-	34.285	40.029	10.159
P	-	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with blank control group, [#] $P < 0.05$; Compared with model group, ^{**} $P < 0.05$.

2.3 各组大鼠 CEA、HE4、CA153 表达水平对比 于空白对照组,但实验组 CEA、CA153、HE4 表达水平均低于模
型组与实验组大鼠 CEA、CA153 及 HE4 表达水平均高 型组(均 $P < 0.05$), 见表 2。

表 2 各组大鼠 CEA、CA153 及 HE4 表达水平对比($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of CEA, CA153 and HE4 expression levels in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	CEA(ng/mL)	CA153(U/mL)	HE4(pmol/mL)
Blank control group	10	4.08±1.73	14.39±7.82	20.18±3.17
Model group	10	16.57±3.72 [#]	220.47±47.15 [#]	66.51±37.28 [#]
Experimental group	10	6.82±1.82 ^{**}	37.28±12.48 ^{**}	28.01±4.15 ^{**}
F	-	9.834	14.285	6.122
P	-	0.000	0.000	0.001

Note: Compared with blank control group, [#] $P < 0.05$; Compared with model group, ^{**} $P < 0.05$.

2.4 各组大鼠 p-mTOR、PTEN、PI3K 表达对比 空白对照组, 但实验组大鼠的 p-mTOR、PTEN、PI3K 表达均高
模型组及实验组大鼠的 p-mTOR、PTEN、PI3K 表达均低于 于模型组(均 $P < 0.05$), 见表 3、图 1。

表 3 各组大鼠 p-mTOR、PTEN、PI3K 表达对比($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of expressions of p-mTOR, PTEN and PI3K in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	p-mTOR	PTEN	PI3K
Blank control group	10	2.62±0.67	3.90±0.63	6.81±1.49
Model group	10	0.60±0.02 [#]	2.45±0.30 [#]	3.21±1.05 [#]
Experimental group	10	1.41±0.25 ^{**}	3.12±0.34 ^{**}	4.35±0.42 ^{**}
F	-	14.052	5.293	6.008
P	-	0.000	0.012	0.004

Note: Compared with blank control group, [#] $P < 0.05$; Compared with model group, ^{**} $P < 0.05$.

2.5 各组大鼠免疫功能指标对比

模型组及实验组大鼠的 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均低于空白对照组,但实验组大鼠 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均高于模型组(均 $P < 0.05$); 模型组及实验组大鼠的 CD8⁺ 水平均高于空白对照组,但实验组大鼠 CD8⁺ 水平低于模型组(均 $P < 0.05$),见表 4。

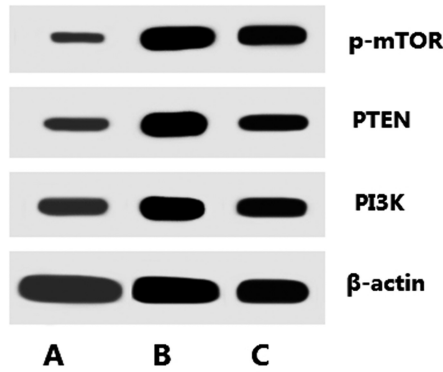


表 1 各组大鼠 p-mTOR、PTEN、PI3K 蛋白表达图

Fig. 1 Protein expression of p-mTOR, PTEN and PI3K in each group

Note: A was model group, B was blank control group, C was experimental group.

本文的结果发现,实验组大鼠荷瘤重量、腹水量以及肿瘤体积均低于模型组,这充分提示了将千金藤素应用于卵巢癌中,具有明显的抑癌作用。分析原因,笔者考虑可能是由于千金藤素可通过 T 细胞或直接作用在巨噬细胞促使其被激活,进一步增强机体的抗肿瘤免疫功能,继而起到抗肿瘤的作用^[16,17]。此外,由于 CEA 属于癌胚抗原,对女性生殖系统恶性肿瘤具有较高的敏感性,介导了卵巢癌的发病过程,于卵巢癌机体中呈特异性表达^[18,19]。而 CA153 属于乳腺癌的二株 McAb 识别的糖类抗原,亦是卵巢癌的重要监测指标之一,于卵巢癌机体中存在明显高表达^[20,21],加之作为 WFDC 蛋白家族成员的 HE4,可能具有胰蛋白酶抑制剂的特性,因此在卵巢癌机体中存在明显高表达^[22,23]。本文的结果显示,实验组大鼠的 CEA、CA153 及 HE4 表达水平低于模型组,提示了千金藤素干预后的大鼠其机体内肿瘤标志物的表达均发生了较为明显的下降,考虑其主要原因,千金藤素具有明显的抑癌作用,对大鼠进行干预处理后,实验组大鼠的肿瘤生长受到了明显的抑制,因此其肿瘤标志物表达水平降低。既往研究表明 PI3K/mTOR 信号通路主要在肿瘤的形成过程中起着至关重要的作用^[24],其相关蛋白 PI3K 与 mTOR 均是调控肿瘤细胞增殖、代谢以及凋亡的关键性蛋白,而 PTEN 基因是国内外所公认的经典抑癌基因之一,其所编码

表 4 各组大鼠免疫功能指标对比($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of immune function indexes of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
Blank control group	10	27.72±12.50	15.28±6.11	1.66±0.22
Model group	10	20.74±10.34 [#]	23.20±12.35 [#]	0.89±0.21 [#]
Experimental group	10	22.34±9.15 ^{**}	19.10±5.28 ^{**}	1.17±0.14 ^{**}
F	-	11.592	8.583	15.775
P	-	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with blank control group, [#] $P < 0.05$; Compared with model group, ^{*} $P < 0.05$.

3 讨论

随着生活环境的日益恶化以及人们生活方式的不断改变,各种恶性肿瘤的发病率正呈逐年升高趋势,其中卵巢癌的发病率以及死亡率在国内急剧增长,对患者的身体健康以及生命安全均具有较大的影响^[7,8]。尽管数十年来医疗水平得到飞速的发展,恶性肿瘤死亡人数有所降低,但卵巢癌引起的死亡率在所有恶性肿瘤仍具有一定比例。中医认为卵巢癌当属“石瘕”范畴,多由寒凝、气滞、血瘀引发,因此,固本培元是治疗卵巢癌的重要目标^[9,10]。随着临床医务工作者对中医的逐渐重视,越来越多的中药材已吸引人们的注意,千金藤素是一种提取自中药千金藤的重要生物碱,其亦是一种带正电的双亲性分子,具有较好的抗炎、免疫调节以及抑癌等多种作用^[11,12]。相关研究报道显示,单独采用千金藤素可有效抑制肿瘤细胞的增殖和增强机体免疫功能的作用,继而发挥抗癌功效,且千金藤素与化疗药物联合应用后,可有效减少细胞抗药性,进一步提高化疗疗效^[13-15]。然而,迄今为止关于千金藤素对卵巢癌抑制情况的相关研究很少,且具体机制尚未完全明确。

的蛋白具备特异性磷酸酶活性,可有效调节细胞核生长周期,并以此发挥抑制肿瘤生长、转移的作用^[25]。而 mTOR 则与肿瘤细胞的凋亡、自噬及迁移黏附有关,尤其是与肿瘤细胞的凋亡有着重大联系,既往研究证实 PI3K/AKT/mTOR 信号通路可应用于卵巢癌治疗,且 mTOR 可能调控了长链非编码 RNA 的表达,进而参与了肿瘤发展进程^[26,27],本文结果发现,实验组大鼠在予以千金藤素干预 30 d 后,PI3K、p-mTOR、PTEN 表达均高于模型组大鼠,说明千金藤素抑制卵巢癌的作用机制可能与激活 PI3K/mTOR 信号通路以及上调 PTEN 表达有关,但具体的激活机制尚待分子层面的深入研究证实。本文结果还表明了实验组大鼠的各项免疫功能指标水平均优于模型组大鼠,提示了千金藤素有利于增强卵巢癌大鼠的免疫功能,这在湛磐等人的研究报道中得以佐证^[12];千金藤素的抗肿瘤作用之一即改善机体的免疫功能。本研究由于开展时间尚短,且研究人员有限,不能短时间内进行样本量较大的研究,因此尚未对不同剂量千金藤素对卵巢癌大鼠的影响进行精细化探究,今后将对以上不足进行改进,获取更加全面的结论。

综上所述,千金藤素腹腔注射对卵巢癌模型大鼠的抑癌作

用较为明显,可发挥下调 CEA、CA153 及 HE4 表达水平的作用,其主要作用机制可能与调控 PI3K/mTOR 信号通路以及免疫功能密切相关。

参考文献(References)

- [1] Dai J, Wei R, Zhang P, et al. Overexpression of microRNA-195-5p reduces cisplatin resistance and angiogenesis in ovarian cancer?by inhibiting the PSAT1-dependent GSK3 β / β -catenin signaling pathway [J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 190-190
- [2] Stewart C, Ralyea C, Lockwood S. Ovarian Cancer: An Integrated Review[J]. *Semin Oncol Nurs*, 2019, 35(2): 151-156
- [3] Medeiros M, Ribeiro AO, Lupi LA, et al. Mimicking the tumor microenvironment: Fibroblasts reduce miR-29b expression and increase the motility of ovarian cancer cells in a co-culture model[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516(1): 96-101
- [4] Ma Y, Chapman J, Levine M, et al. High-dose parenteral ascorbate enhanced chemosensitivity of ovarian cancer and reduced toxicity of chemotherapy[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(222): 222ra1
- [5] 尹杨峰, 蒋磊. 千金藤素通过 MAT2B 调节 MAPK 信号通路对宫颈癌细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *中国医药生物技术*, 2020, 15(2): 183-189
- [6] 余成香, 白俊华, 桂香. 千金藤素对口腔鳞癌细胞凋亡及 FOXL2、Ki67 表达的影响[J]. *中国药师*, 2019, 22(3): 403-406
- [7] 王珏, 杜琰, 王焱菁, 等. 2002-2011 年上海市原卢湾区居民卵巢癌的发病和死亡资料分析[J]. *中国癌症杂志*, 2018, 28(6): 407-410
- [8] Kossai M, Leary A, Scoazec JY, et al. Ovarian Cancer: A Heterogeneous Disease[J]. *Pathobiology*, 2018, 85(1-2): 41-49
- [9] 潘金丽. 益气健脾养血汤联合多西紫杉醇与顺铂治疗晚期卵巢癌 [J]. *中医学报*, 2018, 33(7): 1186-1189
- [10] 宋晓婕. 扶正固肾汤对老年卵巢癌术后患者外周血 T 淋巴细胞亚群及肿瘤标志物的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(10): 2078-2081
- [11] 张岩昊, 胡金娇, 高宁. 千金藤素增敏多柔比星抑制三阴性乳腺癌细胞增殖活性的机制研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2019, 41(22): 2229-2237
- [12] 湛璠, 丁一, 朱丽红. 千金藤素的抗肿瘤作用研究进展 [J]. *癌症进展*, 2012, 10(1): 31-34
- [13] 曹桂花, 李娟, 王晓明, 等. 鱼腥草提取物去甲头花千金藤二酮 B 对 H₂O₂ 诱导的海马神经元损伤的作用及可能机制[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2019, 18(12): 928-934
- [14] 邓琴, 傅若秋, 高宁. 千金藤素对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 自噬降解的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39(24): 2352-2358
- [15] 马亮, 许永涛, 余远举. 千金藤素对骨肉瘤 MG-63 细胞迁移、侵袭能力影响的体外研究 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2016, 25(13): 1388-1390
- [16] 马克龙, 汪远金, 周会, 等. 千金藤碱抑制非小细胞肺癌 A549 细胞生长和转移以及对血红素加氧酶 -1 和表皮生长因子受体基因表达的影响[J]. *安徽中医学院学报*, 2013, 32(2): 57-63
- [17] Le PM, Srivastava V, Nguyen TT, et al. Stephanine from *Stephania venosa* (Blume) Spreng Showed Effective Antiplasmodial and Anticancer Activities, the Latter by Inducing Apoptosis through the Reverse of Mitotic Exit[J]. *Phytother Res*, 2017, 31(9): 1357-1368
- [18] Lin YH, Wu CH, Fu HC, et al. Prognostic significance of elevated pretreatment serum levels of CEA and CA-125 in epithelial ovarian cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2020, 28(3): 285-292
- [19] Zhang F, Zhang ZL. The Diagnostic Value of Transvaginal Sonograph (TVS), Color Doppler, and Serum Tumor Marker CA125, CEA, and AFP in Ovarian Cancer [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 72(2): 353-357
- [20] Li X, Xu Y, Zhang L. Serum CA153 as biomarker for cancer and noncancer diseases[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2019, 162(24): 265-276
- [21] Jeschke U, Wiest I, Schumacher AL, et al. Determination of MUC1 in sera of ovarian cancer patients and in sera of patients with benign changes of the ovaries with CA15-3, CA27.29, and PankoMab [J]. *Anticancer Res*, 2012, 32(5): 2185-2189
- [22] 师媛, 赵淑华, 张玲, 等. 人附睾蛋白 4 在卵巢癌中的应用进展[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(2): 378-380
- [23] 周江洪, 李利平, 王劲进, 等. 艾迪注射液对卵巢癌模型大鼠血清癌胚抗原、CA153 及 HE4 水平的影响 [J]. *河北医药*, 2019, 41(10): 1490-1493
- [24] 李华驰, 杨铁成, 王华侨, 等. 微小 RNA-199R-3p 及磷酸肌醇 3 激酶 - 蛋白激酶 B- 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白在结肠癌的表达及临床意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2020, 37(2): 212-216
- [25] 项福英, 江胜林, 程贤鸷. 千金藤素通过调控 PI3K/AKT/mTOR 信号通路诱导卵巢癌 SKOV3 细胞自噬[J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(5): 940-944
- [26] 赵楠, 李玉花, 王桂媛, 等. PI3K/AKT/mTOR 信号通路及其在卵巢癌治疗中的应用[J]. *生物技术通讯*, 2019, 30(2): 264-268
- [27] 于健鹏. 长链非编码 RNA 与 mTOR 在肿瘤中的相关研究进展[J]. *重庆医学*, 2017, 46(18): 2569-2571