

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.02.008

基于 PTEN-PI3K-AKT 信号通路探讨竹节参总皂苷抑制人肺腺癌 A549 细胞增殖和转移的机制*

高貴洲 张宏瑞 张 涛 王晓东 梁晓华[△]

(空军军医大学附属唐都医院胸外科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:竹节参是人参属植物,和人参成分相似,前期研究其对肺癌具有一定的抑制作用,但作用机制不清,因此,本项目拟研究竹节参皂苷对人肺癌细胞系 A549 增殖、迁移和侵袭能力以及 PTEN-PI3K-AKT 信号通路的影响。**方法:**CCK8 法测定不同浓度和不同作用时间的竹节参皂苷对 A549 存活率的影响,划痕实验测定细胞迁移能力,Transwell 小室测定细胞的侵袭能力,ELISA 试剂盒测定培养基上清中 MMP-2 和 MMP-9 水平的变化。Western blot 测定 PTEN、P-PI3K 和 P-Akt 表达的变化。**结果:**竹节参皂苷对 A549 细胞增殖具有明显的抑制作用,呈浓度和时间依赖关系,与对照组比较具有统计学差异。同时,竹节参皂苷可以浓度依赖性的抑制细胞侵袭和转移,以及 MMP-2 和 MMP-9 细胞因子的分泌。Western blot 结果表明竹节参皂苷可促进 PTEN 蛋白表达,抑制 P-PI3K 和 P-Akt 蛋白表达,采用 PTEN 的特异性抑制剂 SF1670 证实竹节参皂苷通过抑制 PTEN 发挥作用。**结论:**竹节参皂苷可抑制肺癌 A549 细胞增殖、迁移和侵袭,以及分泌蛋白 MMP-2 和 MMP-9 表达,其作用机制可能是通过调控 PTEN 抑制 PI3K 和 Akt 磷酸化,从而发挥抗癌作用。

关键词:竹节参皂苷;肺癌;PTEN/PI3K/Akt

中图分类号:R-33;R734.2;R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)02-242-06

Study on the Mechanism of Saponins from Panax japonicus on Inhibition of A549 Cell Proliferation and Migration through Regulating PTEN/PI3K/Akt Pathway*

GAO Gui-zhou, ZHANG Hong-rui, ZHANG Tao, WANG Xiao-dong, LIANG Xiao-hua[△]

(Department of thoracic surgery, Tangdu Hospital, Air force medical university, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: Panax japonicus is a kind of ginseng plant and the chemical components are similar to ginseng. It has been shown that it has certain inhibitory effect on lung cancer, but the mechanism is unclear. Thus, this study was designed to study the effects of saponins from Panax japonicus (SPJ) on proliferation, migration, invasion of human lung cancer cell line A549 and PTEN-PI3K-AKT signaling pathway. **Methods:** The effects of SPJ at different concentration and time on the survival rate of A549 were determined by CCK8 assay. A549 cells migration ability was detected by scratch assay. The invasion ability of A549 cells was measured by Transwell chamber. The levels of MMP-2 and MMP-9 in the medium supernatant were determined by ELISA kit. The expression of PTEN, P-PI3K and P-Akt was measured by Western blot. **Results:** SPJ significantly inhibited the proliferation of A549 cells in a concentration- and time-dependent relationship. At the same time, SPJ inhibited the invasion, invasion and the secretion of MMP-2 and MMP-9 cytokines in A549 cells in a concentration-dependent manner. Western blot results showed that saponins promoted the expression of PTEN protein and inhibited the expression of P-PI3K and P-Akt proteins. SF1670, a specific inhibitor of PTEN, was used to confirm the effect of SPJ on inhibition of PTEN. **Conclusion:** SPJ inhibited the proliferation, migration and invasion of A549 cells, and the secretory protein expression of MMP-2 and MMP-9, which mechanism might through regulating PTEN and inhibiting the phosphorylation of PI3K and Akt, so as to play an anti-cancer role.

Key words: Saponins from Panax japonicus; Lung cancer cell; PTEN/PI3K/Akt

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R734.2; R285.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)02-242-06

前言

肺癌是世界范围内致死率和发病率最高的恶性肿瘤之一。

在各型肺癌中,非小细胞肺癌占 85%,主要致死原因是癌变细胞的浸润和转移,这也是世界各国医药学家共同面临的难题^[1,2]。中医药在肺癌的辅助治疗中发挥着极其重要的作用,其

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81672269)

作者简介:高貴洲(1983-),男,主治医师,主要研究方向:肺癌治疗新策略, E-mail: 15229881176@163.com

△ 通讯作者:梁晓华(1981-),男,主治医师,主要研究方向:肺癌的防治, E-mail: 5591373@qq.com

(收稿日期:2019-06-23 接受日期:2019-07-18)

具有多靶点、安全、低毒等特点,可以有效的提高患者的生活质量,是寻找肺癌治疗药物的重要来源^[3]。竹节参又名峨三七、萝三七,是五加科人参属植物,有活血祛瘀、滋身强体、化痰润肺等功效,在土家族自治县等地具有极高的评价,被评为"土家四宝"之一^[4]。药理学研究表明人参属植物对肿瘤具有很好的治疗作用,比如以人参皂苷 Rg3 为活性成分我国具有自主知识产权的一类中药抗癌新药"参一胶囊",在临床使用过程中表现出很好的抗癌效果^[5]。竹节参的主要成分为竹节参皂苷,其成分和人参相似,我们推测其同样具有很好的抗癌效果,但国内对其研究较少,作用机制不清,限制其更广泛的应用。为进一步研究竹节参皂苷对肺癌的治疗作用,本研究采用肺癌细胞系 A549,通过观察竹节参皂苷对细胞增殖和迁移的影响,并进一步应用 Western blot 实验检测 PTEN、PI3K 和 Akt 蛋白表达,阐明竹节参皂苷抑制肺癌增殖和转移的作用机制。

1 材料

1.1 细胞系

肺腺癌人类肺泡基底上皮细胞 A549 细胞购自中国科学院细胞库。

1.2 药物和试剂

竹节参药材购自西安藻露堂大药房(批号 20170917),乙醇购自天津市天力化学试剂有限公司(批号 20170627)。胎牛血清购自美国 Gibco 公司(16000-044),细胞培养用 RPMI 1640 培养基购自美国 Gibco 公司(11875093),胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司(12605-010),Matrigel™ 基底膜基质胶购自美国 BD 公司(10CM199),CCK8 试剂盒购自 Yeasen 公司(40203ES60),凝胶配胶试剂盒购自鼎国生物技术有限公司,E-CL 发光液购自博士德生物技术有限公司,PTEN,PI3K, P-PI3K, Akt, P-Akt 兔抗人一抗购自美国 Cell Signaling Technology 公司,羊抗兔二抗购自博士德生物技术有限公司,其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器

全波段酶标仪(TECAN 公司),SDSPAGE 微型凝胶电泳仪,Quantity One software 图像分析系统(Bio-Rad 公司),二氧化碳培养箱(Thermo 公司)。

1.4 方法

1.4.1 细胞培养 A549 细胞采用含 10%FBS 的 1640 培养基(含 100 U/mL 青霉素和链霉素),放置在 37℃,5%CO₂ 培养箱中培养,每 48 h 换液一次,细胞融合至 90%时进行传代培养,取对数生长期且状态良好的细胞进行后续实验。

1.4.2 细胞生长抑制实验 对数期生长的细胞,以 5×10^4 mL 密度接种于 96 孔板中,每孔 100 μ L,每组设五个复孔,继续培养 24 h 后,分组:空白对照组,竹节参皂苷组(0.02,0.04,0.08,0.16,0.32,0.64,1.28 mg/mL)。竹节参皂苷用 1640 培养基配制,每孔给药体积均为 100 μ L,空白组给同样体积的培养基,放入培养箱中继续培养。分别于 24/48 和 72 h 后,取出培养板,吸去孔内培养基后,每孔加入配制好的 CCK8 溶液各 100 μ L,继续培养 4 h,在酶标仪上用 450 nm 波长测定每孔吸光度,记录吸光度值。存活率(%)计算公式为 $[(OD_{\text{竹节参皂苷}} - OD_{\text{空白}})/(OD_{\text{阴性对照}} - OD_{\text{空白}})] \times 100\%$ 。

1.4.3 Transwell 实验测定竹节参皂苷对 A549 转移的抑制作用 Transwell 小室滤膜上涂细胞外基质胶(50 μ g/室),放置于培养板中,板中加入 10%FBS 新鲜培养基,室内加入含浓度为 5×10^5 mL 的 0.1% FBS 培养基,培养 24 h。将浓度为 0.32,0.64,1.28 mg/mL 的竹节参皂苷溶液加入到细胞培养基中继续培养 24 h,取出小室,用 PBS 溶液清洗滤膜,用棉棒去除室内的细胞,根据说明染色,记录穿膜细胞数,以此反应细胞的转移能力。

1.4.4 细胞划痕实验 对数期生长的细胞以密度为 1×10^6 mL 接种于 6 孔板中,培养至融合度达 90%,吸去上清液。用 200 μ L 的灭菌枪头在每孔中间划一条垂直的线,PBS 洗去脱落的细胞,分别加入含不同浓度竹节参皂苷(0.32,0.64 和 1.28 mg/mL)的 1640 培养基,空白对照采用不含药物的 1640 培养基,继续培养 24 h。倒置显微镜观察划痕宽度变化情况并采集图像,测定划痕宽度。每组重复 3 次,计算划痕的平均宽度。划痕愈合率计算公式:(初始划痕宽度 - 24 h 划痕宽度)/初始划痕宽度 $\times$ 100%。

1.4.5 ELISA 测定培养基上清液中 MMP-2 和 MMP-9 含量 细胞接种和药物处理同 2.4,收集每孔中的培养上清液,离心后去除细胞沉淀。按照 ELISA 试剂盒说明书操作步骤进行测定,波长为 492 nm,计算样品中 MMP-2 和 MMP-9 含量。

1.4.6 Western blot 法测定 A549 细胞中 PTEN、PI3K 和 Akt 蛋白表达情况 细胞经不同处理后,弃去培养基,提取总蛋白,采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定样品中蛋白的含量。样品和上样缓冲液混匀变性后,按每孔 40 μ g 蛋白量上样,经 10% SDS-PAGE 凝胶电泳后转膜至 PVDF 膜上。用 5%脱脂奶粉在 37℃下封闭 1h 后,加入稀释好的一抗,在 4℃孵育过夜。TBST 洗膜后,1:5000 羊抗兔二抗孵育 1 h,ECL 发光液显色。采用 Imge J 软件分析蛋白表达灰度。 β -actin 为内参蛋白。

1.4.7 统计学分析 数据采用 Graph Pad6.0 处理分析,所有数据采用均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示,两两比较采用 T 检验, $P < 0.05$ 为统计学差异具有显著性。

2 结果

2.1 竹节参皂苷对 A549 细胞增殖的抑制作用

如图 1A 所示,CCK8 测得不同浓度竹节参皂苷对 A549 细胞的抑制情况,随着浓度增加,对 A549 细胞的平均增殖率的抑制作用不断增加,呈现浓度依赖性。同时,如图 1B 所示,同一浓度(0.64 mg/mL)的竹节参皂苷分别处理 12,24,36,48,60,72 h,对 A549 细胞存活率的抑制作用也不断增加,呈现出时间依赖关系。

2.2 竹节参皂苷对 A549 细胞迁移能力的影响

如图 2 所示,A549 细胞经不同浓度的竹节参皂苷处理 24 h 后,迁移能力受到明显的抑制。与正常组比较,随着竹节参皂苷浓度增加,在 24 h 时的划痕愈合率逐渐减少,并呈现浓度依赖性,且具有统计学差异($P < 0.01$),结果表明竹节参皂苷可抑制 A549 细胞迁移。

2.3 竹节参皂苷对 A549 细胞侵袭能力的影响

图 3 的 Transwell 侵袭实验结果显示,A549 细胞经竹节参皂苷处理后,细胞的侵袭能力被明显抑制。随着竹节参皂苷浓

度增加,穿过微孔滤膜的细胞数量逐渐减少,与空白对照组比较具有统计学差异,同时呈现浓度依赖关系,结果表明竹节参皂苷可抑制 A549 细胞侵袭能力。

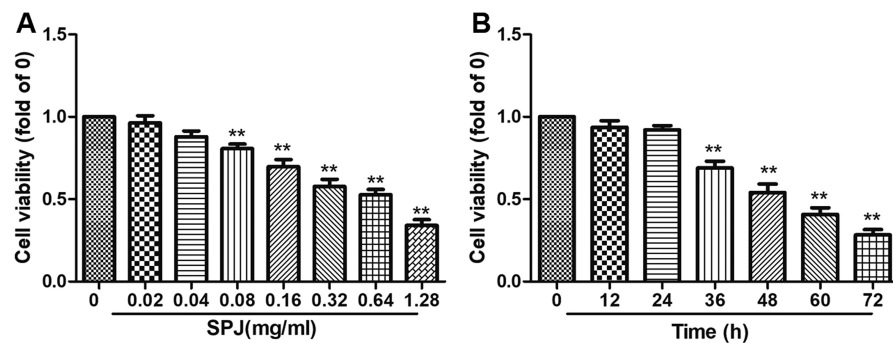


图 1 不同浓度和时间的竹节参皂苷 (SPJ) 对细胞存活率的影响

A. 不同浓度的竹节参皂苷作用 48h 后, 对细胞存活率的影响; B. 0.64 mg/mL 竹节参皂苷作用不同时间对细胞存活率的影响。 ** $P < 0.01$ vs 0 group。

Fig. 1 Effect of different concentrations and times of Saponins from *Panax japonicus* (SPJ) on cell viability

A. The effect of different concentrations of SPJ on cell viability after 48h; B. The effect of SPJ (0.64mg/ml) on cell viability at different times.

** $P < 0.01$ vs 0 group.

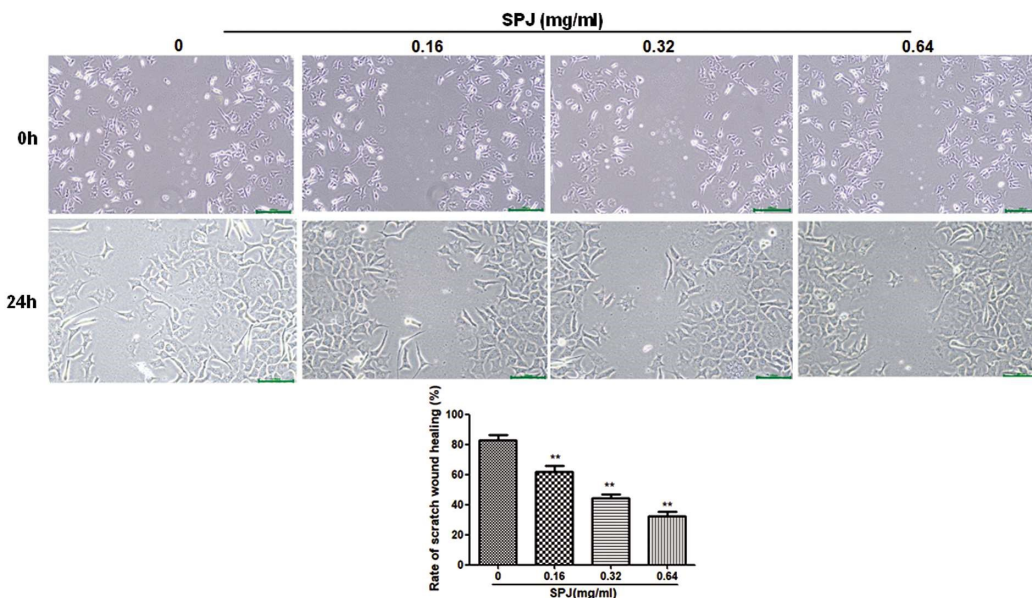


图 2 竹节参皂苷 (SPJ) 对细胞迁移能力的影响, 结果用划痕愈合率表示。 ** $P < 0.01$ vs 0 group

Fig. 2 The effect of SPJ on cell migration ability, the result is expressed by scratch healing rate. ** $P < 0.01$ vs 0 group

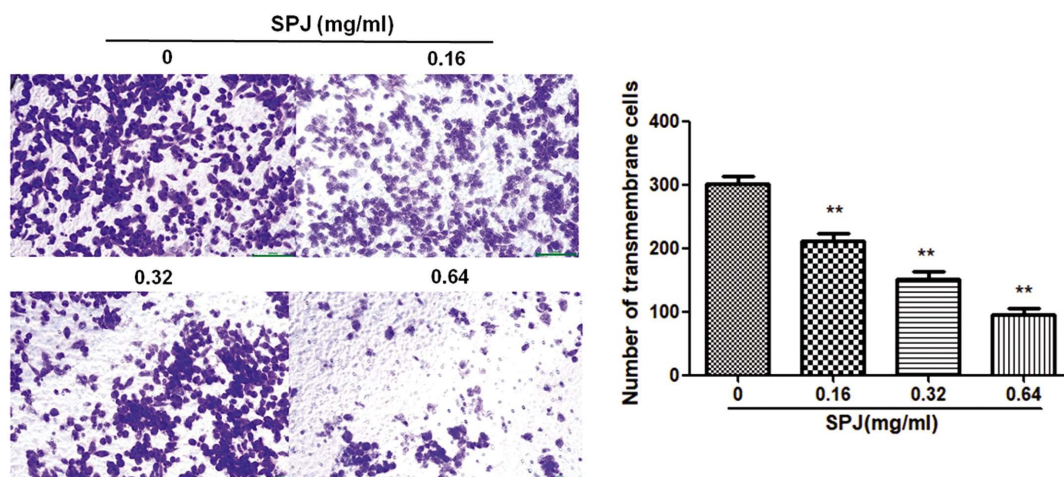


图 3 竹节参皂苷 (SPJ) 对细胞侵袭能力的影响, 结果用透膜细胞数表示。 ** $P < 0.01$ vs 0 group

Fig. 3 The effect of SPJ on cell invasion ability, the result is expressed by the number of transmembrane cells. ** $P < 0.01$ vs 0 group

2.4 竹节参皂苷对 A549 细胞 MMP-2 和 MMP-9 水平的抑制作用

如图 4 中的 ELISA 实验结果表明,A549 细胞经不同浓度

竹节参皂苷(0.32,0.64 和 1.28 mg/mL)作用 48 h 后,培养基上清液中 MMP-2 和 MMP-9 水平显著降低,并随着浓度增加,抑制作用越明显,与空白对照组比较具有显著性差异($P<0.01$)。

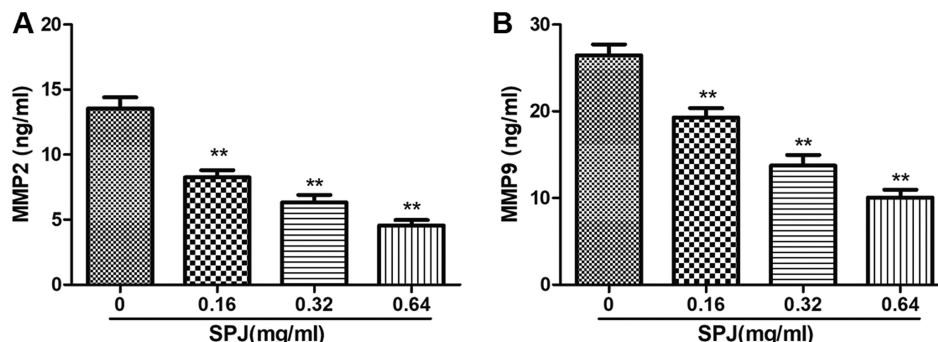


图 4 竹节参皂苷对 MMP2 和 MMP9 水平的影响

A.竹节参皂苷对 A549 分泌的 MMP2 水平的影响;B.竹节参皂苷对 A549 分泌的 MMP9 水平的影响。 ** $P<0.01$ vs 0 group。

Fig.4 Effects of SPJ on the levels of MMP2 and MMP9

A. Effects of SPJ on the levels of MMP2; B. Effects of SPJ on the levels of MMP9. ** $P<0.01$ vs 0 group.

2.5 竹节参皂苷对 A549 细胞中 PTEN/PI3K/Akt 信号通路的影响

Western blot 实验结果显示 (图 5),A549 细胞经竹节参皂苷处理后,PTEN 蛋白表达水平显著增加,与空白组比较具有统计学意义 ($P<0.05$);P-PI3K 和 P-Akt 表达水平显著降低,与空白对照组比较具有统计学意义 ($P<0.05$),表明竹节参皂苷可促进 PTEN 蛋白表达,抑制 P-PI3K 和 P-Akt 表达。

2.6 竹节参皂苷通过 PTEN/PI3K/Akt 通路发挥抗癌作用

为了进一步研究竹节参皂苷是否通过 PTEN 发挥作用,采用 PTEN 特异性抑制剂 SF1670 抑制其表达。结果如图 6 所示,抑制 PTEN 蛋白后,P-PI3K 和 P-Akt 表达水平显著增加,同时竹节参皂苷对 A549 细胞增殖和细胞侵袭力的抑制作用均减弱,同时对 MMP2 的抑制作用也消失,表明竹节参皂苷通过

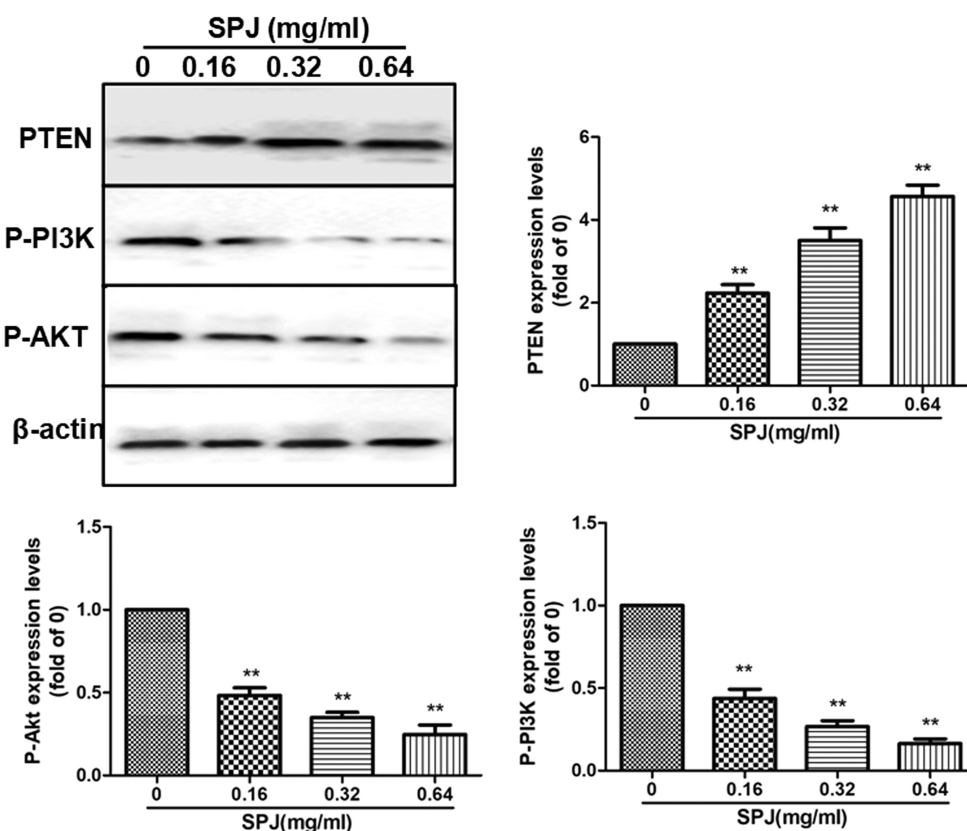


图 5 竹节参皂苷对 PTEN、P-PI3K 和 P-Akt 蛋白表达的影响

β-actin 为内参蛋白。 ** $P<0.01$ vs 0 group。

Fig.5 Effects of SPJ on the protein expression levels of PTEN、P-PI3K and P-Akt

β-actin was set as the internal control protein. ** $P<0.01$ vs 0 group.

PTEN 调控 PI3K/Akt 发挥抗癌作用。

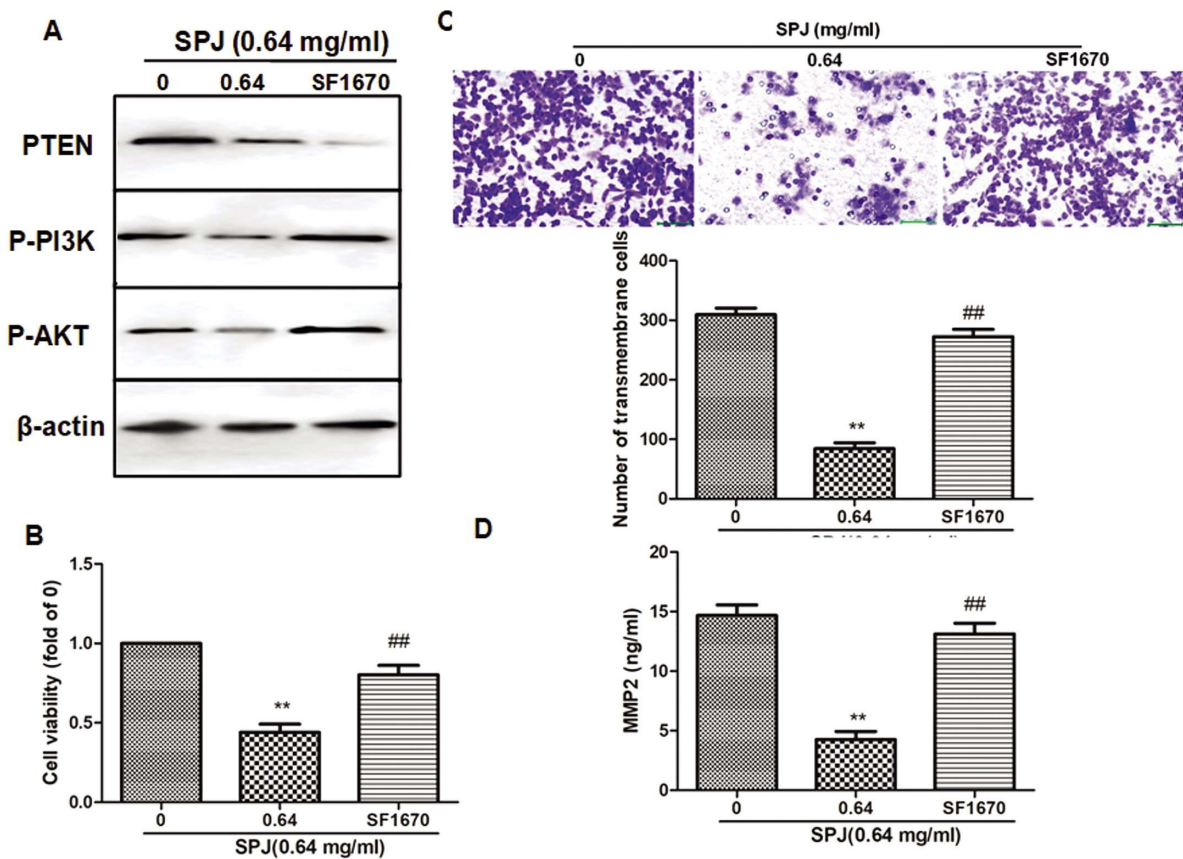


图 6 竹节参皂苷通过 PTEN 发挥抗癌作用

A.加入 PTEN 特异性抑制剂 SF1670 后,对 PTEN、P-PI3K 和 P-Akt 蛋白表达的影响;B.抑制 PTEN 后,对细胞存活率的影响;
C.抑制 PTEN 后,对细胞侵袭力的影响;D.抑制 PTEN 后,对细胞分泌 MMP2 水平的影响。 ** $P<0.01$ vs 0 group, ## $P<0.01$ vs 0.64 group。

Fig.6 The anti-cancer effects of SPJ were through PTEN pathway

A. Effect of SPJ on the PTEN, P-PI3K and P-Akt protein expression after addition of PTEN specific inhibitor SF1670; B. Effect of SPJ on cell viability after inhibition of PTEN; C. Effect of SPJ on cell invasiveness after inhibition of PTEN; D. Effect of SPJ on the secretion of MMP2 in cells after inhibiting PTEN. ** $P<0.01$ vs 0 group, ## $P<0.01$ vs 0.64 group.

3 讨论

肺癌在全世界范围内均是高发恶性肿瘤,且没有找到肺癌的特效药物^[6]。顺铂(DDP)是肺癌治疗常用药物,为晚期非小细胞肺癌化疗的一线药物,对肿瘤有很好的治疗效果,但其毒性较大,限制其使用,而且降低患者的生存质量^[7],寻找高效同时毒副作用小的化疗药物或者增加化疗效果的药物迫在眉睫。在数千年的应用过程中,中医药治疗恶性肿瘤积累了大量的使用经验,形成独特的理论体系^[8,9]。肿瘤的生长与肿瘤细胞的增殖、转移和浸润有很大的关系,能有效抑制这三个过程,则有可能抑制肿瘤恶化,甚至抑制肿瘤细胞生长,从而延长患者生存期^[10,11]。

竹节参皂苷中含有竹节参皂苷 III,竹节参皂苷 IV,竹节参皂苷 V,人皂苷 Rb1,人皂苷 Rc 等齐墩果烷型皂苷和人参二醇或人参三醇型皂苷^[12-15]。前期研究表明,竹节参皂苷可提高环磷酸腺苷导致的大鼠免疫力下降;竞争性抑制细胞对营养成分的摄取抑制腹水瘤的生长;促进 T 细胞发育,从而抑制肿瘤生长^[16,17]。虽有学者报道竹节参皂苷可以诱导肺癌细胞凋亡,但无

法解释其抑制肿瘤转移和侵袭的作用机制^[18,19]。因此,本研究以肺癌肿瘤细胞 A549 为模型,深入研究了竹节参皂苷对 A549 细胞的增殖、转移和侵袭的抑制作用,并深入探讨其作用机制。

结果显示,竹节参皂苷可显著抑制 A549 增殖,且存在浓度和时间依赖关系。迁移和侵袭实验结果显示,竹节参皂苷可明显抑制 A549 细胞迁移和侵袭,抑制肿瘤细胞的转移。研究机制表明,肺癌在发生转移和侵袭的过程中,会分泌金属蛋白酶家族(MMPs)蛋白,降低肿瘤细胞和细胞外基质的黏附作用,使基底胶原纤维降解,癌细胞的迁移和侵袭能力增强,进入淋巴或者血液系统,到达肺外靶器官新成新的癌组织^[20-23]。在本研究中,我们观察到竹节参皂苷作用细胞后,MMP-2 和 MMP-9 蛋白分泌水平显著降低,且随着浓度增大负调控作用增加,表明竹节参皂苷对肺癌细胞转移和侵袭的抑制作用与抑制 MMP-2 和 MMP-9 蛋白分泌相关。

在肿瘤的复发和转移等过程中,PTEN 的突变缺失和 PI3K 的异常活化均扮演着重要作用^[24,25]。PI3K/Akt 信号通路可通过多种机制促进肿瘤细胞的增殖、分化,提高肿瘤细胞生存能力,同时还能通过促进 MMP 蛋白表达增加,促使肿瘤细胞间质

E-cad 降解,促进肿瘤细胞转移^[26-28]。PTEN 和 PI3K 在正常机体内呈现动态平衡关系,维持正常的细胞增殖和功能。在肿瘤细胞中,PTEN 蛋白能通过抑制 PI3K 信号通路抑制细胞增殖,调节细胞迁移、侵袭、扩散等作用,从而产生肿瘤抑制作用^[29-31]。在本研究中,我们观察到竹节参皂苷可促进 PTEN 蛋白表达,同时抑制 PI3K 和 Akt 磷酸化,提示竹节参皂苷的抑制细胞转移和侵袭能力有可能是通过调控 PTEN 信号通路。为了阐明这一问题,采用 PTEN 蛋白的特异性抑制剂抑制 PTEN 蛋白表达,结果发现,抑制 PTEN 后,竹节参皂苷对 A549 增殖、转移的抑制能力减弱,同时,PI3K 和 Akt 的磷酸化水平增加,表明竹节参皂苷通过 PTEN/PI3K/Akt 信号通路发挥抑制肺癌肿瘤细胞增殖和转移的治疗作用。

综上所述,竹节参皂苷可显著抑制肺癌细胞增殖和转移,其可能通过促进 PTEN 表达,抑制 PI3K/Akt 磷酸化,从而抑制细胞增殖、转移和侵袭发挥作用。

参考文献(References)

- [1] Pan Q, Wang Y, Chen J, et al. Investigation of the epidermal growth factor receptor mutation rate in non-small cell lung cancer patients and the analysis of associated risk factors using logistic regression[J]. *Oncology Letters*, 2014, 8(2): 813-818
- [2] Yang Y, Sun N, Sun P, et al. Clinical Characteristics and Prognosis of Elderly Small Cell Lung Cancer Patients Complicated with Hyponatremia: A Retrospective Analysis [J]. *Anticancer Research*, 2017, 37(8): 4681-4686
- [3] 王小培, 饶智国. 中西医结合现代方法治疗晚期非小细胞肺癌研究进展[J]. *湖北中医杂志*, 2016, 38(5): 72-75
- [4] 马玲, 谭德福. 竹节参的研究概况 [J]. *时珍国医国药*, 2005, 16(12): 1306-1307
- [5] 李宇. 参一胶囊配合 EP 方案治疗小细胞肺癌疗效观察[J]. *长春中医药大学学报*, 2009, 25(6): 873-873
- [6] 夏荣涛. 非小细胞肺癌靶向治疗药物的疗效及经济性研究综述[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2017(20): 200-202
- [7] 金雪梅. 铂类药物的毒性作用与预防措施 [J]. *现代医药卫生*, 2010, 26(21): 3294-3295
- [8] 杨新中, 李金彩, 邹银水, 等. 对中医肿瘤病因病机与治疗的思考[J]. *中国医药学报*, 1999, 14(6): 57-60
- [9] 宋磊, 张岚, 唐敏, 等. 中医药在恶性肿瘤整合医学疗法中的运用[J]. *中医学报*, 2018, 240(05): 23-26
- [10] 冯子强. 中药有效成分抑制肿瘤细胞迁移和逆转多药耐药的实验研究[D]. 2015
- [11] 李明潺, 王玉丽, 董林易, 等. 槐定碱对肺癌 A549 细胞体外增殖和侵袭抑制作用及机制的研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2015, 50(13): 1111-1116
- [12] 李露. 高效液相色谱法测定竹节参中多种人参皂苷含量[J]. *分析测试技术与仪器*, 2008, 14(1): 19-22
- [13] 顾耀艳, 袁丁. 竹节参化学成分的研究进展 [J]. *时珍国医国药*, 2006, 17(10): 1909-1911
- [14] Duan J, Wei G, Guo C, et al. *Aralia taibaiensis* Protects Cardiac Myocytes against High Glucose-Induced Oxidative Stress and Apoptosis [J]. *American Journal of Chinese Medicine*, 2015, 43(6): 1159-1175
- [15] Duan J, Cui J, Zheng H, et al. *Aralia taibaiensis* Protects against I/R-Induced Brain Cell Injury through the Akt/SIRT1/FOXO3a Pathway [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 7609765
- [16] 张长城, 姜美杰, 赵海霞, 等. 竹节参总皂苷对环磷酰胺致免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. *中成药*, 2011, 33(7): 1134-1138
- [17] 袁丁, 左锐, 张长城. 竹节参总皂苷抑制小鼠肿瘤生长的实验研究 [J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(2): 277-278
- [18] 蒋红艳, 邓庆华, 郑小红, 等. 竹节参总皂苷对人肺腺癌 A549 细胞凋亡和 Caspase-3 活性的影响 [J]. *科学技术与工程*, 2015, 15(25): 100-103
- [19] 邓旭坤, 米雪, 蔡俭, 等. 竹节参总皂苷的抗肿瘤作用和毒性研究 [J]. *中南民族大学学报自然科学版*, 2013, 32(1): 47-49
- [20] 李慧梅. 基质金属蛋白酶-2 及其组织抑制因子-2 与肺癌侵袭转移关系的临床研究[D]. 山东大学, 2003
- [21] 于学燕, 王永刚. 基质金属蛋白酶及其抑制剂与肺癌的侵袭和转移[J]. *癌症进展*, 2005, 3(4): 374-377
- [22] Patricia González-Arriaga, Pascual T, Arturo García-Alvarez, et al. Genetic polymorphisms in MMP 2, 9 and 3 genes modify lung cancer risk and survival[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12(1): 121-130
- [23] Chandramu C, Lakka S S, Praveen B, et al. MMP-2 alters VEGF expression via alphaVbeta3 integrin-mediated PI3K/AKT signaling in A549 lung cancer cells[J]. *International Journal of Cancer*, 2010, 127(5): 1081-1095
- [24] Zhao J Z, Zheng X Q, Gao M. Research progress of suppressor gene PTEN [J]. *Chinese journal of otorhinolaryngology head and neck surgery*, 2016, 51(10): 797
- [25] Fumarola C, Bonelli MA, Petronini PG, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR pathway in non small cell lung cancer [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2014, 90(3): 197-207
- [26] Yip PY. Phosphatidylinositol 3-kinase-AKT-mammalian target of rapamycin (PI3K-Akt-mTOR) signaling pathway in non-small cell lung cancer[J]. *Translational Lung Cancer Research*, 2015, 4(2): 165
- [27] Hui-Chun W U, Man L I, Zhen-Hua Z, et al. Effects of PI3K/PKB signaling pathway on expression of osteopontin in human hepatic stellate cells induced by transforming growth factor- β_1 [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2015, 31(1): 93-97
- [28] Gu YT, Xue YX, Wang YF, et al. Role of ROS/RhoA/PI3K/PKB Signaling in NS1619-Mediated Blood-Tumor Barrier Permeability Increase[J]. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2012, 48(1): 302-312
- [29] 胡丽娜, 彭兴春, 郭显智, 等. 抑制 Notch 和 PI3K/Akt 信号通路对食管腺癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响 [J]. *肿瘤防治研究*, 2016, 43(8): 653-658
- [30] Riquelme E, Behrens C, Lin H Y, et al. Modulation of EZH2 expression by MEK-ERK or PI3K-AKT signaling in lung cancer is dictated by different KRAS oncogene mutations[J]. *Cancer Research*, 2016, 76(3): 675-85
- [31] Zhou Z, Tang M, Liu Y, et al. Apigenin inhibits cell proliferation, migration, and invasion by targeting Akt in the A549 human lung cancer cell line[J]. *Anti-Cancer Drugs*, 2017, 28(4): 446-456