

人参皂苷Rg5的安全性及其对宫颈癌Hela细胞的体外抑制活性

宋建伟^{1,2}, 华武杨^{2,3}, 杨萍^{2,3}, 刘静雪^{2,3}, 赵珺^{1*}, 李凤林^{2,3*}

(1. 长春大学食品科学与工程学院, 吉林长春 130022) (2. 吉林农业科技学院食品科学与营养工程学院, 吉林吉林 132101) (3. 吉林省酿造技术科技创新中心, 吉林吉林 132101)

摘要: 为探讨人参皂苷 Rg5 对癌细胞的抑制作用和安全性, 使用 CCK-8 法筛选敏感细胞系, 后以多种手段评估作用机制和安全性。以流式细胞术检测 Rg5 对敏感细胞凋亡和周期的影响、以划痕和 Transwell 实验考察 Rg5 对细胞迁移和侵袭的抑制、以 Western Blot 法探究 Rg5 对细胞特定蛋白的扰动、以 Auto Dock 模拟 Rg5 与 MMP-2 和 MMP-9 的结合、以体内实验验证 Rg5 的安全性。结果显示, 在 Hela、MCF-7、HCT116、HepG2、A549、SiHa、CaSki 细胞中, 宫颈癌 Hela 细胞对 Rg5 最敏感, 72 h 半抑制浓度为 $53.02 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。Rg5 能诱导 Hela 细胞凋亡、将其阻滞于 G2/M 期并抑制迁移和侵袭。Western Blot 实验表明, Rg5 能扰动周期相关蛋白并触发线粒体凋亡通路, 还能降低 MMP-2、MMP-9、E-cadherin 和干性因子的表达。Auto Dock 显示, Rg5 能结合在 MMP-2 和 MMP-9 的疏水口袋中。安全性实验表明, Rg5 对小鼠肝肾功能、血常规指标和主要器官无明显毒性。作为一种天然产物, Rg5 能通过触发凋亡通路诱导细胞凋亡, 通过下调癌细胞干性因子和相关蛋白的表达抑制 Hela 细胞的侵袭。研究结果为 Rg5 在功能性食品、保健品方面的进一步开发利用提供了理论支持。

关键词: 人参皂苷 Rg5; 宫颈癌; 迁移; 侵袭; 体内安全

文章编号: 1673-9078(2026)03-16-27

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.3.1954

Safety of Ginsenoside Rg5 and Its *in Vitro* Antiproliferative Activity against Hela Cells

SONG Jianwei^{1,2}, HUA Wuyang^{2,3}, YANG Ping^{2,3}, LIU Jingxue^{2,3}, ZHAO Jun^{1*}, LI Fenglin^{2,3*}

(1.School of Food Science and Engineering, Changchun University, Changchun 130022, China)

(2.School of Food Science and Nutritional Engineering, Jilin University of Agricultural Science and Technology, Jilin 132101, China)(3.Jilin Provincial Brewing Technology Innovation Center, Jilin 132101, China)

Abstract: To investigate the inhibitory effect of ginsenosides Rg5 on cancer cells, the underlying mechanisms, and its safety profile, a CCK-8 assay was conducted to screen for sensitive cancer cell lines. Rg5 mechanisms and safety were evaluated using various assays. Flow cytometry was applied to evaluate Rg5 apoptotic and cell cycle modulating effects in sensitive cancer cells. Rg5's inhibitory effects on cancer cell migration and invasion were examined using scratch and Transwell assays. Western blot analysis was performed to evaluate Rg5's effect on the expression of certain cell proteins. Complexes of Rg5 with MMP-2 or MMP-

引文格式:

宋建伟,华武杨,杨萍,等.人参皂苷Rg5的安全性及其对宫颈癌Hela细胞的体外抑制活性[J].现代食品科技,2026,42(3):16-27.

SONG Jianwei, HUA Wuyang, YANG Ping, et al. Safety of ginsenoside Rg5 and its *in vitro* antiproliferative activity against hela cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(3): 16-27.

收稿日期: 2024-12-30; 修回日期: 2025-03-04; 接受日期: 2025-03-10

基金项目: 吉林省科技发展计划重点研发项目(20240303045NC); 国家重点研发计划项目(2021YFD1600903); 吉林农业科技学院食品科学与工程重点学科; 吉林省酿造技术科技创新中心(后补助项目)(YDZJ202402036CXJD)

作者简介: 宋建伟(1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学, E-mail: songjianwei@jlnku.edu.cn; 共同第一作者: 华武杨(1992-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品天然产物, E-mail: whua@jlnku.edu.cn

通讯作者: 赵珺(1970-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品功能因子的研究与开发, E-mail: 361069612@qq.com; 共同通讯作者: 李凤林(1973-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品天然产物, E-mail: lifenglin@jlnku.edu.cn

9 were simulated using Auto Dock. The safety of Rg5 was evaluated *in vivo* in animal experiments. Among Hela, MCF-7, HCT116, HepG2, A549, SiHa, and CaSki cells, Hela cells were the most sensitive to Rg5, with a 72 h-IC₅₀ value of 53.02 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Rg5 could induce Hela cell apoptosis, arrest Hela cells at G2/M phase, and inhibit HeLa cell migration and invasion. Western Blot analyses demonstrated that Rg5 could activate the mitochondrial apoptosis pathway and reduce the expression of MMP-2, MMP-9, E-cadherin, and cancer cell stemness factors. Auto Dock simulation indicated that Rg5 could bind within the hydrophobic pockets of MMP-2 and MMP-9. *In vivo* safety experiments showed that Rg5 caused no significant changes in liver and kidney function, routine blood parameters, or major organs in mice. As a natural product, Rg5 can induce apoptosis by activating the apoptotic pathway and can suppress Hela cell invasion by downregulating the expression of cancer stemness related factors and associated proteins. The results provide theoretical support for further development and utilization of Rg5 in functional food and health products.

Key words: ginsenoside Rg5; cervical carcinoma; migration; invasion; *in vivo* safety

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一，也是全球妇女第四大常见癌症，根据世界卫生组织（World Health Organization, WHO）在 2024 年 3 月 5 日发布的最新数据显示，2022 年宫颈癌的新发病例和死亡病例各达到约 66 万和 35 万^[1-3]。而年轻女性群体的宫颈癌发病率持续攀升，这个问题正日益受到关注。尽管宫颈癌的发病机制尚未被明确揭示，但已有报道指出宫颈癌 Hela 细胞的增殖、迁移和侵袭等与晚期和转移患者的不良预后密切相关^[4]。因此，开发能够抑制宫颈癌 Hela 细胞增殖、迁移和侵袭的药物显得十分必要。

人参作为传统天然药用植物，数千年来在亚洲地区广泛使用^[5]。从人参中提取到的皂苷、糖类等成分是人参发挥药效的物质基础，这些成分具有抗肿瘤^[6]、抗衰老^[7]、抗疲劳^[8]、调节免疫力、增强记忆力和抗氧化^[9]的作用。人参皂苷 Rg5（结构如图 1 所示）是一种人参蒸制处理后获得的红参中发现的珍稀物质，主要依赖于人参皂苷 Rb1 特殊的去糖基化反应以及 Rg3 位于 20 位的碳脱水而成^[10]。已有文献^[11-13]表明，Rg5 具有卓越的安全性。从化学角度分析，Rg5 具有较好的化学稳定性，不易分解或变质。从生物安全性的角度分析，Rg5 具有良好的生物相容性，能够与生物体内的各种生物分子和细胞等良好地相互作用，而不会对生物体内的正常生理功能和生化过程产生明显的干扰或破坏，更不会对生物体的遗传物质产生损害，不会引起基因突变、染色体畸变等遗传毒性效应。同时 Rg5 拥有多样化的生物学功能和药理活性，如抗炎、抗糖尿病、神经保护和抗癌作用^[14]。马春兰等^[15]研究表明，人参皂苷 Rg5 可能通过调控 Notch 信号通路抑制 Hela 细胞恶性生物学行为。Song 等^[16]通过碱性彗星试验和测量 γH2AX 聚焦形成，发现人参皂苷 Rg5 具有诱导人宫颈癌细胞系 DNA 损伤的作用，通过促使癌细胞的 DNA 链断裂，加速细胞的凋亡过程，实现对宫颈癌的抑制效果。Janani 等^[17]则将人参皂苷 Rg5 与紫杉醇在宫颈癌细胞中联合使用，两种药物的

协同作用抑制了 p-AKT 蛋白的表达，从而增强了紫杉醇诱导细胞凋亡的作用。

药物敏感细胞株的发现是抗癌新药开发的重要一环，对治疗特定疾病药物先导化合物的发现及后续化学结构修饰具有指导意义。例如，将雌激素受体修饰于先导化合物上可开发靶向药物^[18]。本文选取 Hela、MCF-7、HCT116、HepG2、A549、SiHa、CaSki 实体瘤细胞系测试不同癌细胞对人参皂苷 Rg5 的敏感性。实验发现在测试的癌细胞中，宫颈癌 Hela 细胞对 Rg5 表现了相对较强的敏感性。后续细胞体外活性、Western Blot、分子模拟对接和体内安全性实验进一步解释了其作用机制。考虑到人参皂苷 Rg5 是红参的功能性成分，且具备卓越的生物安全性和生理活性，研究 Rg5 在抗癌方面的作用、机制和安全性将对其在防癌、抗癌功能性食品和保健品方面的开发利用起到积极作用。

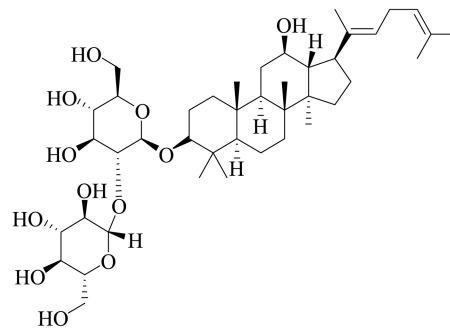


图 1 人参皂苷 Rg5 结构式

Fig.1 The structural formula of ginsenoside Rg5

1 材料与方法

1.1 细胞株、动物、材料与试剂

宫颈癌 Hela、SiHa、CaSki 细胞、乳腺癌 MCF-7 细胞、结肠癌 HCT-116 细胞、肝癌 HepG2 细胞、肺癌 A549 细胞均购自美国细胞培养物收藏中心（American Cell Culture Collection, ATCC）。

选取 20 只昆明鼠, 雌雄各 10 只, 2~3 周龄, 初始体质量为 (20 ± 1.0) g, 由亿斯(长春)实验动物技术有限责任公司提供, 动物许可证号: SCXK(辽)2025-0001。

机构审查委员会声明: 本研究经吉林农业科技学院动物伦理委员会批准(批准文号: 202402010)

人参皂苷 Rg5 (纯度 $\geq 98\%$), 上海源叶生物科技有限公司; 胎牛血清、杜氏改良 Eagle 培养基培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM), 美国 Life Technologies 公司; 胰蛋白酶细胞消化液(Trypsin Solution (EDTA-free))、青霉素-链霉素溶液($100\times$) (Penicillin-Streptomycin Solution ($100\times$)), 广州硕谱生物科技有限公司; CCK-8 试剂盒(Cell Counting Kit-8, CCK-8), 北京索莱宝科技有限公司; 细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒(Cell Cycle and Apoptosis Analysis Kit), 碧云天生物技术有限公司; Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 Associated X Protein, Bax)、B 淋巴细胞瘤-2 (B-Cell Lym-Phoma-2, Bcl-2)、基质金属蛋白酶-2 (Matrix Metallo-Proteinase-2, MMP-2)、基质金属蛋白酶-9 (Matrix Metallo-Proteinase-9, MMP-9)、八聚体结合转录因子 4 重组蛋白 (Recombinant Octamer Binding Transcription Factor 4, OCT4)、造血干细胞 CD133 蛋白 (CD133 Protein, CD133)、半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶 3 (Cleaved Cysteiny Aspartate Specific Proteinase, c-caspase3)、磷酸化-细胞周期蛋白依赖性激酶 (Phospho-Cyclin-Dependent Kinase, p-CDK1)、细胞周期素 B1 (cyclin B1)、细胞色素 C (Cytochrome C, cyto C)、神经钙黏蛋白 (Neural Cadherin, N-cadherin)、上皮钙黏蛋白 (Epithelial Cadherin, E-cadherin)、肌动蛋白 (β -Actin) 一抗, 美国 Proteintech Group Inc 公司; 超高分子山羊抗小鼠 IgG (H&L)-HRP (Ultra Polymer Goat anti-Mouse IgG (H&L)-HRP), 美国 Proteintech Group Inc 公司; H&E 染色试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司; 吐温 80, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 5-氟尿嘧啶 (5-Fluorouracil, 5-Fu), 英国 Alfa Aesar 公司; 谷丙转氨酶 (Alanine Aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶 (Aspartate Aminotransferase, AST)、红细胞 (Red Blood Cell, RBC)、白细胞 (White Blood Cell, WBC)、淋巴细胞 (Lymphocyte, LYM)、血小板 (Platelet, PLT)、血糖 (Glucose, GLU)、中性粒细胞 (Granulocyte, GRA)、单核细胞 (Monocyte, MON) 检测试剂盒, 深圳迈瑞动物医疗科技股份有限公司; 甲醇 (分析纯), 国药化学试剂集团有限公司; Transwell 基质胶, 美国 Corning 公司; 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器设备

JA1003 电子天平, 上海浦春计量仪器有限公司; BPN-80CRH (UV) 二氧化碳培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; CJ-040ST 型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; H3-16KR 台式高速冷冻离心机, 湖南可成仪器设备; Tecan Spark 酶标仪, 瑞士帝; WB-600Auto 全自动蛋白印迹处理系统, 广州博鹭腾生物科技有限公司; GelView 6000M 多功能图像工作站, 广州博鹭腾生物科技有限公司; BD Accuri C6 plus 流式细胞仪, 美国 BD Bioscience 公司; 96/24/6 孔板, Transwell 小室, 美国 Corning 公司; Mindray 全自动生化分析仪, 深圳迈瑞动物医疗科技股份有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养

以 10% 的胎牛血清 +90% (V/V) 的 DMEM 的细胞完全培养基在体积分数 5% 的 CO_2 , 37 °C 和饱和湿度条件下进行培养和传代。细胞连续培养时, 隔天弃去旧培养基, 以 PBS ($0.01 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 值 7.4) 洗涤细胞 3 次, 加入新的完全培养基。传代时弃去原有培养基, 以 PBS ($0.01 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 值 7.4) 洗涤细胞 1 次, 加入 1 mL 胰蛋白酶消化细胞 1 min, 随后加入 1 mL 完全培养基终止消化。使用移液枪小心吹打细胞, 形成细胞悬液, 移入离心管中 $1200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min。弃去上清液, 加入 2 mL 完全培养基, 使用移液枪小心吹打细胞, 形成单细胞悬液。将悬液分至 2 个新培养瓶中, 补加 4 mL 完全培养基, 十字交叉法摇匀细胞悬液, 将细胞移至上述条件下的培养箱中, 即完成传代。

1.3.2 细胞分组与给药方法

将癌细胞 (Hela、MCF-7、HCT-116、HepG2、A549) 接种于 96 孔板中, 每种细胞设置 6 个浓度组, 设置 3 个复孔作为平行实验, 于恒温培养箱中将细胞密度培养至 80%。弃去原有培养基, 然后向每个细胞孔中分别加入 100 μL 含有 0.0、0.5、1.0、10.0、50.0、100.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg5 的完全培养基。接下来在 37 °C 敷箱中孵育 72 h。对于时间依赖性实验, 按照相同的给药浓度, Rg5 与 Hela 细胞孵育 24、48、72 h 后进行后续处理。对于 Hela、SiHa 和 CaSki 细胞的筛选, Rg5 和 5-FU 的给药浓度设置为 0.0、10.0、50.0、100.0、150.0、200.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

1.3.3 Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 法检测人参皂苷 Rg5 对癌细胞增殖的影响

孵育特定时间后, 向每个孔中加入 10 μL CCK-8

工作液并小心混合均匀,将96孔板置于37℃培养箱中继续孵育2 h。在酶标仪中检测490 nm处的OD值。按照公式:

$$C = \frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

C ——细胞存活率;

A_1 ——实验组光密度值;

A_2 ——空白组光密度值;

A_3 ——对照组光密度值。

计算存活率,并通过SPSS软件计算半抑制浓度(50% Inhibiting Concentration, IC_{50}) C 值。以 IC_{50} 值为指标筛选出敏感细胞株进行后续实验。

1.3.4 流式细胞仪检测细胞凋亡

取对数期Hela细胞,加入浓度为10.0、20.0、40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Rg5(最高浓度近似为 IC_{50} 的80%),记为10.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 人参皂苷Rg5组、20.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 人参皂苷Rg5组、40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 人参皂苷Rg5组;未加入人参皂苷Rg5进行处理过的为对照组。孵育24 h后,通过高速冷冻离心机离心(5 min, 4℃, 2 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)收集细胞。然后用冰上预冷的PBS(0.01 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH值7.4)洗涤细胞两次,并在结合缓冲液中重悬。分别加入5 μL 的Annexin V-FITC(100 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)和PI(2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)孵育15 min。用流式细胞仪测量,结果用FlowJo X软件分析。

1.3.5 流式细胞仪测定细胞周期

取对数期Hela细胞,用人参皂苷Rg5分别处理,给药浓度和分组同1.5.4。

孵育24 h后,用高速冷冻离心机离心(5 min, 4℃, 2 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)后收集细胞。用冰上预冷的PBS(0.01 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH值7.4)缓冲液洗涤细胞。随后使用冰上预冷的体积分数70%的乙醇孵育细胞置于4℃环境下过夜以固定细胞。次日,以冰上预冷的PBS缓冲液(0.01 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH值7.4)洗涤细胞。将细胞与浓度为100 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的RNase A试剂在37℃下孵育30 min。然后再与质量浓度为1.00 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的PI在4℃避光条件下继续孵育30 min。上述细胞悬浮液在流式细胞仪上进行分析,并以Modfit V软件处理数据。

1.3.6 细胞划痕实验

取对数期Hela细胞接种于6孔板中,形成细胞单层。用0.0、25.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 人参皂苷处理,设置为人参皂苷Rg5组;未加入人参皂苷Rg5进行处理的为对照组。用1 000 μL 移液枪吸头从中间划一条直线,形成划痕。给药后将培养皿置于37℃ 5% CO_2 的恒温培养箱中培

养24 h,用光学显微镜观测,并进行拍照和记录。使用Image J软件检测划痕面积,并计算划痕愈合率。

1.3.7 Transwell实验

按说明书比例配置好基质胶,将50 μL 配置好的基质胶添加到24孔板的每个Transwell小室中,并在37℃下孵育2 h以形成凝胶层。将密度为 10^4 的细胞悬浮在200 μL 含有0.0、1.0、25.0、50.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的人参皂苷Rg5的无血清培养基中,并分别加入上部隔室中。将1 mL完全培养基加入至下部隔室中,并在37℃下孵育24 h。然后使用600 μL 质量分数为4%的多聚甲醛对通过基质胶迁移并附着在transwell室下侧的细胞进行固定,使用质量分数为0.1%的结晶紫染色20 min后吸出染液,使用紫外可见分光光度计测量洗出液在590 nm处的吸光度。

1.3.8 Western Blot实验

取对数期Hela细胞,用人参皂苷Rg5分别处理。对于细胞周期和凋亡相关蛋白,最高给药浓度近似为 IC_{50} 值的80%,以求在不影响细胞蛋白提取的前提下体现出细胞凋亡的行为。对于细胞侵袭和干性因子研究的给药浓度,则近似为 IC_{50} 值的50%,以避免癌细胞活性受到抑制。作用时间均为24 h。

取处理好的Hela细胞,将RIPA裂解液加入其中,对总蛋白进行提取(对于Cyto C,仅提取胞质蛋白。使用线粒体裂解液冰浴上处理细胞10 min, 1 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min取上清,3 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min后再次取上清即为胞质蛋白),蛋白浓度用BCA蛋白检测试剂盒进行测定并将蛋白样品平衡至同一浓度,加入上样缓冲液。将所提蛋白在沸水浴中进行变性处理,取等量的变性蛋白加至SDS-聚丙烯酰胺凝胶的泳道中通电电泳,随后将其以湿法转移到PVDF薄膜上,在免疫印迹全自动工作站上用质量分数为10%的脱脂乳进行封闭2 h,加入Bax、Bcl-2、c-caspase3、MMP-2、MMP-9、 β -actin、N-cadherin、E-cadherin、OCT4、CD133、p-CDK1、cyclin B1、Cyto C一抗(1:2 000),4℃下孵育12 h。用TBST洗涤3次后,再以(1:6 000, V/V)的二抗室温孵育2 h。化学发光试剂显色后拍照获得条带。最后应用ImageJ软件,以 β -actin的灰度为内参,对蛋白条带的相对灰度进行分析,计算蛋白相对表达。

1.3.9 分子对接(Auto Dock)实验

对接使用的MMP-2和MMP-9蛋白晶体结构从PDB数据库中下载获得(MMP-2的PDB ID为1HOV, MMP-9的PDB ID为1GKC),小分子Rg5的3D结构采用Chem3d 20.0绘制,并在MMFF94力场下进行能量最小化。

表 1 Rg5对不同肿瘤细胞的体外活性 (IC₅₀值, μmol · L⁻¹)

Table 1 The <i>in vitro</i> activity of Rg5 and 5-FU towards different cancer cell lines (μmol·L ⁻¹)					
Compounds	Hela	MCF-7	HCT116	HepG2	A549
Rg5	51.33 ± 0.24 ^a	91.45 ± 0.93 ^d	69.31 ± 0.54 ^b	95.47 ± 0.54 ^c	89.26 ± 0.63 ^c

注: 表中具有不同的字母表示显著差异 ($P<0.05$)。

采用 AutoDock Vina 1.2.3 软件^[19]进行分子对接工作, 在对接开始之前, 使用 PyMol 2.5.5 对受体蛋白进行处理, 包括去除水分子, 盐离子以及小分子。随后设置对接盒子, 使之包裹整个蛋白结构。此外, 使用 ADFRsuite 1.0 将所有处理好后的小分子以及受体蛋白转换为 AutoDock Vina 1.2.3 对接必须的 PDBQT 格式。对接时, 全局搜索的详尽度设为 32, 其余参数保持默认设置。输出的打分最高的对接构象被我们认为是结合构象, 最后使用 PyMol 2.5.5 对接结果进行可视化分析。

1.3.10 体内安全性实验

1.3.10.1 试剂配制

取 1 mL DMSO、10 mL 生理盐水、1 mL 吐温 80 和 8 mL PEG300 加入离心管内, 放置于超声波清洗机中混匀, 形成给药溶剂。

1.3.10.2 动物分组及给药

将小鼠放置在洁净鼠笼内进行适应性喂养, 小鼠自由进食鼠粮和自来水。实验室温度设置为 (22±2) °C, 湿度为 60%±10%。昼夜节律下饲养小鼠 (12 h 有光照), 经过一周的适应性喂养后, 将小鼠随机分为 2 组, 每组 10 只 (雌雄各半), 即对照组 (Control)、80 mg·kg⁻¹ 人参皂苷 Rg5 组 (80 mg·kg⁻¹ Rg5)。参照文献^[20]的相关方法, 80 mg·kg⁻¹ 人参皂苷 Rg5 组每天以 80 mg·kg⁻¹ 人参皂苷 Rg5 灌胃, 共给药 8 周。而空白对照组则接受溶剂灌胃处理。每只小鼠灌胃体积为 0.1 mL。

1.3.10.3 血液生化指标检测

实验结束将小鼠血液进行收集, 并在室温下静置 2 h 后离心机内离心, 离心结束后, 可观察到离心管内血液出现分层, 上层为血清样本, 用移液枪小心移取血清样本于新离心管内, 置于 -80 °C 冰箱保存。分别对两组小鼠血清中的生化指标进行检测。对小鼠血清中的 ALT、AST、BUN、CRE、RBC、WBC、LYM、PLT、GLU、GRA、MON 按照试剂盒说明书进行生化指标的检测。

1.3.10.4 组织切片染色

颈椎脱臼处死小鼠, 解剖并获得小鼠心、肝、脾、肺、肾。固定、除水后通过石蜡包埋和冷冻切片法获得组织切片。使用苏木精和伊红染色进行 H&E 染色切片。

切片风干后封片。以显微镜观察和拍照。

1.4 统计学方法

SPSS 26.0 统计学软件分析实验结果, 表示为平均值 ± 标准差 ($\bar{x}\pm s$)。实验组与对照组间比较采用双尾 student *t* 法检验, $P>0.05$ 认为差异没有显著性; $P<0.05$ 认为差异具有显著性; $0.05<P<0.01$ 认为差异极显著; $P<0.001$ 认为差异高度显著。

2 结果与讨论

2.1 体外抗增殖活性

体外抗增殖活性测试结果见表 1。从结果中可以看出, 人参皂苷 Rg5 对选用的癌细胞的 IC₅₀ 值为 (51.33~95.47) μmol·L⁻¹, Rg5 对宫颈癌 Hela 细胞的 IC₅₀ 值最小, 说明在所测的五种癌细胞中, 宫颈癌 Hela 细胞对人参皂苷 Rg5 的敏感度最高。基于此, 本文以早期宫颈癌药物 5-FU (5-氟尿嘧啶) 为阳性对照, 考察了三种宫颈癌细胞 (Hela、SiHa、CaSki) 对 Rg5 的敏感性。表 2 结果显示, Rg5 的体外抑制活性全面弱于 5-FU, 且敏感细胞株与 5-FU 不同。CaSki 细胞对 5-FU 最为敏感, IC₅₀ 值为 15.31 μmol·L⁻¹。而 Rg5 则对 Hela 细胞表现了选择性抑制, IC₅₀ 值为 53.02 μmol·L⁻¹。因此本文选用 Hela 作为敏感细胞株进行后续研究。

表 2 Rg5和5-FU对不同宫颈癌细胞的体外活性 (IC₅₀值, μmol · L⁻¹)

Table 2 The <i>in vitro</i> activity of Rg5 and 5-FU towards different cancer cell lines (μmol·L ⁻¹)			
Compounds	Hela	SiHa	CaSki
Rg5	53.02 ± 0.91 ^a	132 ± 1.57 ^a	81.64 ± 1.95 ^a
5-FU	31.27 ± 0.26 ^b	95.16 ± 1.11 ^b	15.31 ± 0.93 ^b

注: 表中同列不同的小写字母表示具有显著差异 ($P<0.05$)。

此外, 本研究还探究了不同浓度 Rg5 作用于 Hela 细胞不同时间后对细胞增殖的抑制情况, 结果如图 2 所示。结果显示, 人参皂苷 Rg5 对 Hela 细胞增殖的抑制具有剂量和时间依赖性。随着给药浓度升高, Hela 细胞的存活率逐渐降低; 随着作用时间的延长, Hela 细胞的活力逐渐下降。但在较短时间的情况下, 较低浓度 Rg5 造成的细胞抑制与空白对照组间无显著性差

异。而作用 72 h 的条件下, 较低浓度 Rg5 造成的细胞增殖抑制与对照组相比也具有显著性差异。基于本实验结果, 为保证后续实验结果的可靠性, 细胞周期、凋亡的表观和机制实验中, Rg5 最高给药浓度为 $40.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

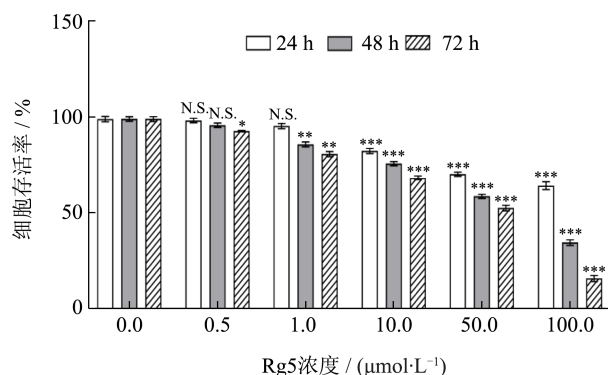


图2 不同浓度人参皂苷 Rg5 作用于 HeLa 细胞 24、48、72 h 后对细胞的抑制作用

Fig.2 The cell proliferation inhibition effect of different concentration of Rg5 towards HeLa cells after incubation for 24, 48, and 72 h

注: N.S. 表示与 Control 相比无显著性差异 ($P>0.05$); * 表示与 Control 相比差异显著 ($P<0.05$); ** 表示与 Control 相比差异极显著 ($P<0.01$); *** 表示与 Control 相比差异高度显著 ($P<0.001$)。

2.2 不同浓度人参皂苷 Rg5 对宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的影响

为了探究 Rg5 能否诱导 HeLa 细胞凋亡, 以 Annexin V-FITC/PI 双染技术测定肿瘤细胞凋亡率。10.0、20.0、40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Rg5 处理 24 h 后的宫颈癌 HeLa 细胞的凋亡率分别为 22.1%、26.5% 和 37.2%, 显著高于空白对照组 (凋亡率为 6.4%), 且呈剂量依赖性 (图 3)。40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg5 处理 24 h 后的细胞凋亡率增幅远高于 20.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。本文推测其原因可能是在较高浓度下, 细胞状态较差, 而本实验复杂的细胞操作和较长的操作时间有可能造成高浓度下凋亡结果的偏高。本实验结果表明, 人参皂苷 Rg5 能够有效诱导 HeLa 细胞凋亡, 该实验结果与体外抗增殖活性实验结果一致。

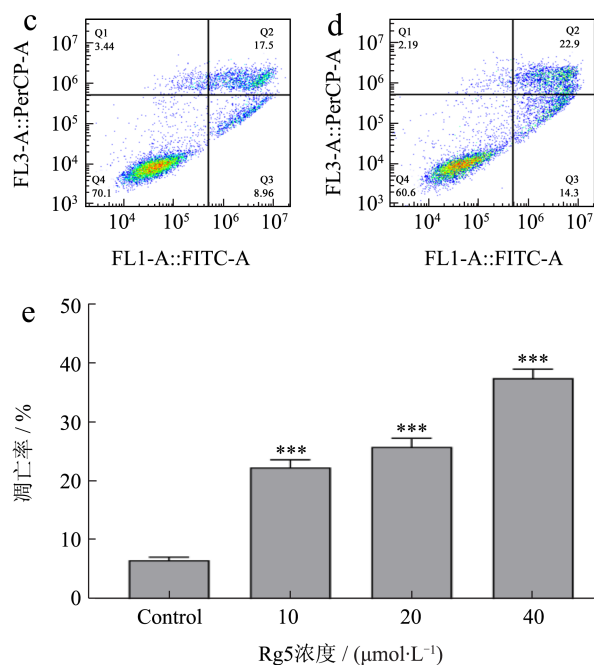
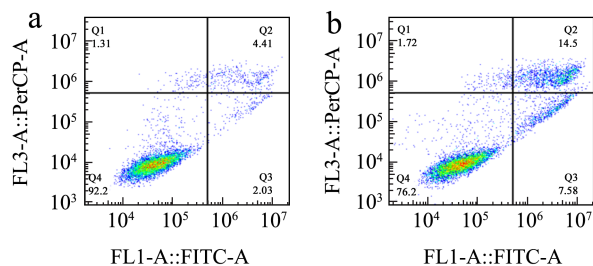


图3 不同浓度人参皂苷 Rg5 对宫颈癌 HeLa 细胞凋亡率的影响

Fig.3 The influence of different concentration of Rg5 towards the apoptosis rate of HeLa cells

注: (a) Control; (b) 10.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; (c) 20.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; (d) 40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; (e) 凋亡率统计图。*** 表示与 Control 相比差异高度显著 ($P<0.001$)。

2.3 不同浓度人参皂苷 Rg5 对宫颈癌 HeLa 细胞周期的影响

在细胞抑制实验的基础上, 为了探讨 Rg5 能否对 HeLa 细胞产生周期阻滞作用, 使用流式细胞术检测人参皂苷 Rg5 处理 HeLa 细胞 24 h 后的细胞周期分布情况。结果如图 4 所示。与空白对照组比较, 各给药组 HeLa 细胞 G2/M 期比例随着给药浓度的增加而逐渐升高, 分别为 14.6%、16.5% 和 21.8%, 显著高于空白对照组, 且呈浓度依赖性。G0/G1 期的比例则被逐渐压缩。S 期细胞的占比也有所增加, 但在最高浓度下呈现轻微降低趋势。因此, 本文认为人参皂苷 Rg5 能够将 HeLa 细胞阻滞在 G2/M 期。

2.4 人参皂苷 Rg5 对宫颈癌 HeLa 细胞迁移的影响

细胞的迁移和侵袭与癌症的复发与转移密切相关^[4], 为此, 使用划痕实验验证 Rg5 对 HeLa 细胞迁移的抑制作用。为了避免浓度过高对细胞活性产生抑制作用, 此处选用 25.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为给药浓度, 作用 24 h。如图 5 所示, 划痕实验结果表明, 使用 25.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Rg5 处理 24 h 后的 HeLa 细胞, 划痕愈合率为 10.75%, 显著低于空白对照组的 38.3% ($P<0.001$)。说明人参皂苷 Rg5 能够抑制 HeLa 细胞的迁移。而对宫

颈癌 Hela 细胞迁移的抑制将对克服癌症的转移带来积极影响。

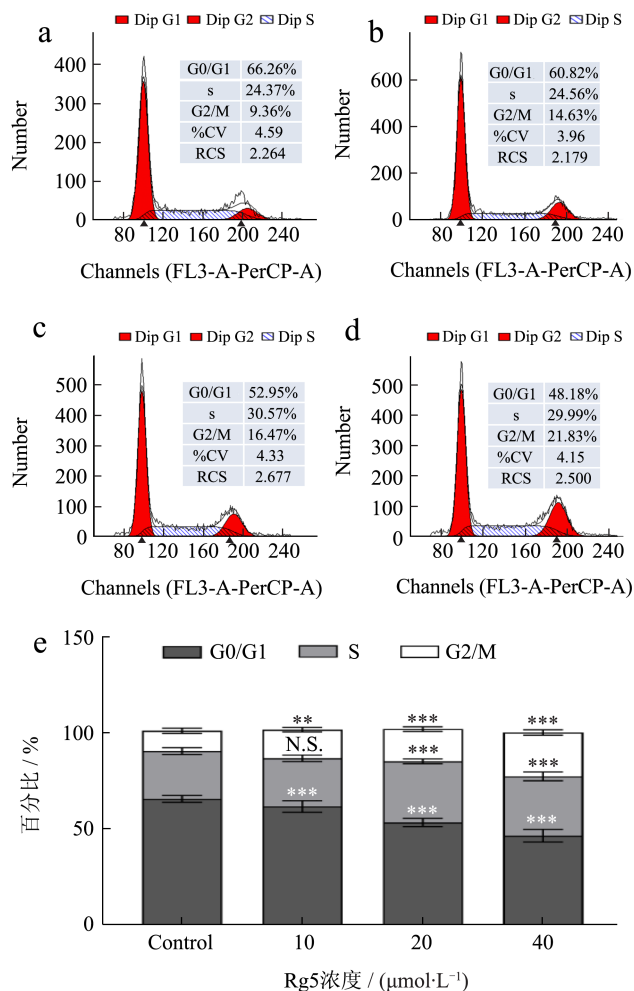


图4 不同浓度人参皂苷 Rg5 对宫颈癌 Hela 细胞周期的影响

Fig.4 The disturbance of different concentration of Rg5 towards the cell cycle of Hela cells

注: (a) 空白对照; (b) $10.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; (c) $20.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; (d) $40.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; (e) 周期比例图。N.S. 表示与 Control 相比无显著性差异 ($P>0.05$); ** 表示与 Control 相比差异极显著 ($P<0.01$); *** 表示与 Control 相比差异高度显著 ($P<0.001$)。

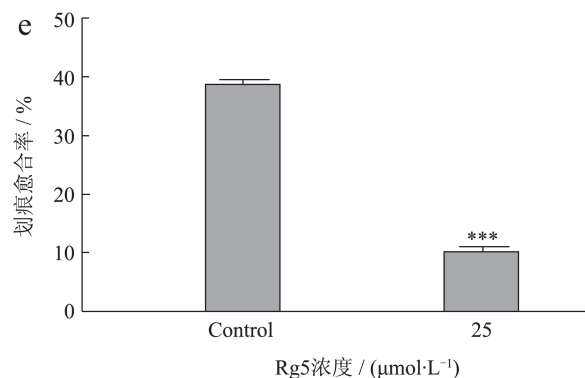
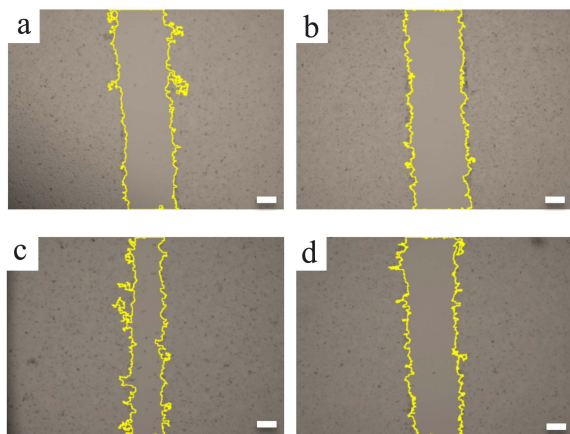


图5 $25.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Rg5 对宫颈癌 Hela 细胞迁移的影响

Fig.5 The influence of $25.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of Rg5 towards the migration of Hela cells

注: (a) 空白对照 0 h; (b) 给药 0 h; (c) 空白对照 24 h; (d) 给药 24 h; (e) 划痕愈合率统计图。10 $\times$, 标尺: 200 μm 。*** 表示与 Control 相比差异高度显著 ($P<0.001$)。

2.5 人参皂苷 Rg5 对宫颈癌 Hela 细胞侵袭的影响

为了进一步探究 Rg5 对宫颈癌转移的抑制, 本文进行了 Transwell 实验。结果如图 6e 所示, 1.0 、 25.0 、 $50.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Rg5 处理的宫颈癌 Hela 细胞 24 h 后的结晶紫洗出液在 590 nm 处的吸光度分别为 0.095、0.143 和 0.189, 显著高于空白对照组 (吸光度为 0.088)。这说明被穿透基质胶的细胞所吸收的结晶紫染液浓度逐渐降低。从图 6a~6d 中也可发现, 与空白对照相比, 24 h 人参皂苷 Rg5 处理明显降低了穿透基质胶 Hela 细胞的数量, 且随着 Rg5 浓度升高, 细胞数量逐渐降低。说明 Rg5 对 Hela 细胞侵袭的抑制也呈现剂量依赖性。值得一提的是, 在低浓度 ($1.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 下, Rg5 对 Hela 细胞的侵袭并未产生抑制作用。在 $50.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的给药浓度下, 侵袭细胞明显减少, 结合体外抑制活性实验结果, 本文认为这与细胞增殖活性受到抑制有关。

2.6 Western Blot 实验

结合上述表观实验结果, 本研究使用 Western Blot 实验检测了 Rg5 处理 24 h 对 Hela 细胞相关蛋白表达的扰动。细胞在 G2/M 期的周期进程由周期蛋白 CDK1 和 cyclin B1 形成的复合物调控并共同促进细胞的增殖。但对 CDK1 Tyr15 的磷酸化会阻碍该细胞进程^[21,22]。针对 Rg5 对 Hela 细胞周期阻滞于 G2/M 期的结果, 本研究考察了 Rg5 处理后 Hela 细胞中 p-CDK (Tyr15) 和 cyclin B1 的表达情况。结果 (图 7a) 显示, cyclin B1 蛋白的对照组和 10.0 、 20.0 、 $40.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

人参皂苷 Rg5 组的相对灰度值分别为 0.14 和 0.16、0.22、0.45, p-CDK (Tyr15) 的灰度值也逐渐升高。这说明 Rg5 能够提升 p-CDK (Tyr15) 和 cyclin B1 的表达, 呈现剂量依赖性, 尤其在较高浓度下, 这两种蛋白表达程度的提升较为突出。

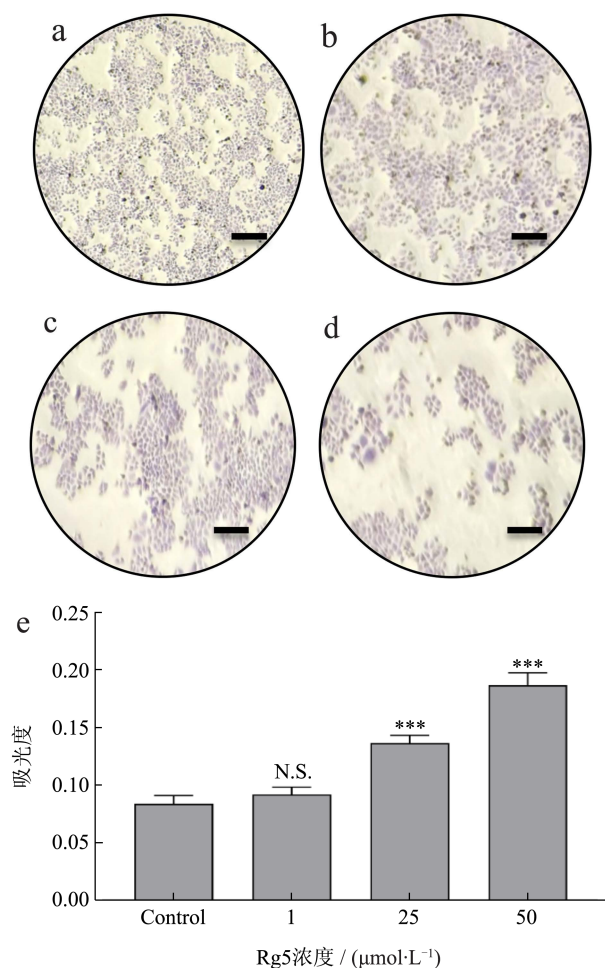


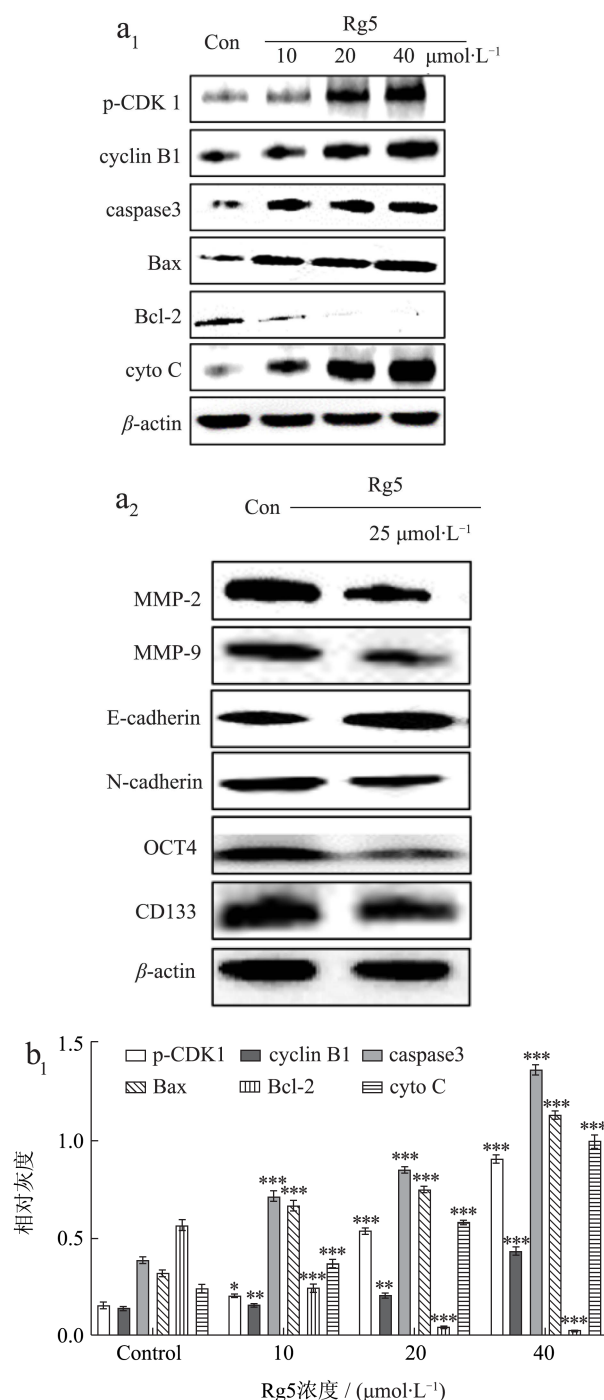
图 6 不同浓度人参皂苷 Rg5 作用 24 h 对宫颈癌 Hela 细胞侵袭的影响

Fig.6 Inhibitory effect of different concentration of Rg5 towards the invasion of Hela cells

注: (a) Control; (b) $1.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg5; (c) $25.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg5; (d) $50.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg5; (e) 结晶紫洗出液在 590 nm 处的吸光度; 10 $\times$, 标尺: 200 μm 。N.S. 表示与 Control 相比无显著性差异 ($P>0.05$)。*** 表示与 Control 相比差异高度显著 ($P<0.001$)。

结合 Rg5 诱导 Hela 细胞凋亡的结果, 本研究还探究了凋亡相关通路与胞质中细胞色素 C 的表达。剪切 caspase3 (c-caspase3) 是 caspase 级联的执行分子, c-caspase3 表达的提升能够诱发细胞 caspase 级联并发生内源性凋亡^[21,23]。因此, 本文考察了 Rg5 处理 24 h 后 c-caspase3、抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax^[24] 的表达情况。图 7 的条带和数据显示, c-caspase3

的表达被明显提升, Bax 蛋白的对照组和 10.0、20.0、 $40.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Rg5 组的相对灰度值分别为 0.32 和 0.67、0.75、1.14, 说明其表达也被逐渐提升。而 Bcl-2 的表达则被显著降低。这说明 Rg5 可以触发 Hela 细胞内源性凋亡通路。促凋亡蛋白 Bax 可以提升线粒体膜的通透性, 使细胞色素 C (cyto C) 被释放到胞质中。而 Bcl-2 抗凋亡蛋白则能够促使 Bax 失活^[25]。据此, 本文考察了 Rg5 处理后 Hela 细胞胞质中 cyto C 的水平。如图 7 所示, cyto C 的表达也被逐渐提升。综上, 本研究推测 Rg5 可以通过线粒体途径内源性凋亡通路诱导细胞凋亡。



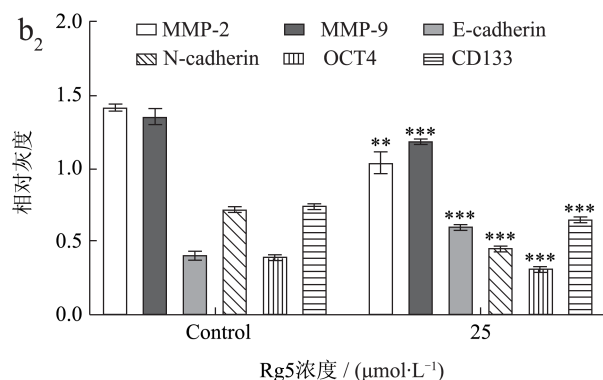


图7 不同浓度人参皂苷 Rg5 对宫颈癌 HeLa 细胞蛋白表达的影响

Fig.7 The influence of different concentration of Rg5 towards the protein expression of HeLa cells

注：(a) Western Blot 蛋白印记条带；(b) Western Blot 蛋白印记灰度。*表示与 Control 相比差异显著 ($P<0.05$)；**表示与 Control 相比差异极显著 ($P<0.01$)；***表示与 Control 相比差异高度显著 ($P<0.001$)。

基质金属蛋白酶 (MMPs) 能够水解细胞外基质，进而促进肿瘤侵袭和转移^[26]。因此，MMPs 的表达对癌细胞的侵袭具有关键作用^[27,28]，是细胞进行侵袭的必要先决条件^[29,30]。本实验还验证了人参皂苷 Rg5 对 HeLa 细胞中 MMP-2、MMP-9 这两种蛋白表达的扰动。结果显示 (图 7)，对照组与人参皂苷 Rg5 组 MMP-2、MMP-9 蛋白的灰度值对比分别为 1.42 对 1.04 和 1.35 对 1.18。这表明人参皂苷 Rg5 处理后的 HeLa 细胞中 MMP-2 与 MMP-9 的表达显著降低。HeLa 细胞的上皮间质转化 (Epithelial-mesenchymal Transition, EMT) 能够使其具有迁移和侵袭的能力^[31]。在癌细胞生长过程中，N-cadherin 可以替换 E-cadherin，进而促进癌细胞转移^[32]。基于此，本文还考察了 Rg5 处理后 HeLa 细胞中 EMT 相关蛋白 E-cadherin 和 N-cadherin 的表达情况。如图 7 所示，Rg5 可以增强 E-cadherin 蛋白的表达 (对照组和给药组相对灰度为 0.40 对 0.60)，降低 N-cadherin 蛋白的表达 (对照组和给药组相对灰度为 0.72 对 0.45)，同样说明 Rg5 能够抑制 HeLa 细胞的迁移和侵袭。以上结果均与前文细胞迁移和侵袭实验结果一致，说明 Rg5 能够通过降低 MMP 的表达和阻止上皮间质转化抑制癌细胞的迁移和侵袭。癌症的侵袭、转移与复发同癌细胞干性息息相关^[33]，因此，本研究还验证了肿瘤干细胞相关蛋白 OCT4 和 CD133 的表达。结果显示 (图 7)，Rg5 处理后癌细胞干性相关因子 OCT4 和 CD133 蛋白表达量均降低 (与对照组相比相对灰度值分别为 0.39 对 0.31 和 0.74 对 0.65)。结合细胞侵袭实验结果，本实验验证人参皂苷 Rg5 能够通过下调相关蛋白的表达和抑制宫颈癌的 HeLa 癌细胞

干性，抑制 HeLa 细胞的侵袭。

2.7 分子对接实验

对接模拟技术是探究小分子与目标靶点相互作用的便捷有效手段。在此，基于 Rg5 可以降低 MMP-2 和 MMP-9 在 HeLa 细胞中的表达，本研究使用 Auto Dock Vina 1.2.3 软件对化合物 Rg5 与 MMP-2 和 MMP-9 蛋白进行对接研究，以探究 Rg5 与这两种酶直接作用的可能并模拟其结合模式。

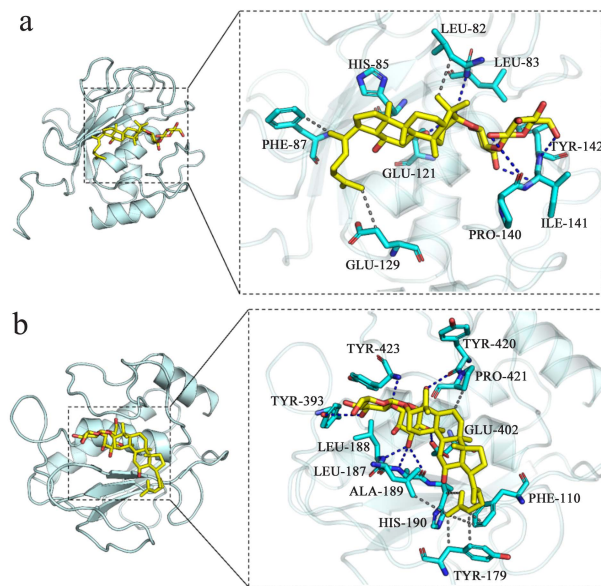


图8 分子对接结果

Fig.8 Molecular docking results

注：(a) Rg5 与 MMP-2 蛋白的相互作用图；(b) Rg5 与 MMP-9 蛋白的相互作用图。

如图 8 所示，以 MMP-2 和 MMP-9 蛋白的疏水口袋为对接靶标，Rg5 与 MMP-2 蛋白上的 LEU-83、ILE-141、TYR-142、GLU-121、PRO-140 形成氢键；与 MMP-9 蛋白上的 HIS-190、LEU-187、TYR-179、PRO-421、PHE-110 也能形成氢键，使 MMP 蛋白与 Rg5 紧密结合。同时 Rg5 还分别与 MMP-2 和 MMP-9 蛋白中的 GLU-129、PHE-87、HIS-85、LEU-82 和 TYR-423、ALA-189、TYR-393、LEU-188、GLU-402、TYR-420 形成疏水作用。以上分子间作用力为 Rg5 与 MMP 蛋白间的结合提供了有利条件。

结合亲和力的值为负数则表示存在结合的可能，通常数值小于 $-5.0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 被认为存在较好的结合活性^[22]。对接验证结果显示，在该复合物中 Rg5 与 MMP-2 结合亲和力评分为 $-8.463 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，与 MMP-9 结合亲和力评分为 $-8.227 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，意味着 Rg5 具有与 MMP-2 和 MMP-9 稳定结合的可能。上述结果说明，Rg5 有较大可能通过氢键、亲疏水作用等

分子间作用直接与 MMP-2 和 MMP-9 结合，抑制其催化活性，降低细胞外基质的水解程度，从而阻止癌细胞的迁移和侵袭，并最终抑制宫颈癌的转移与复发。

2.8 体内安全性试验

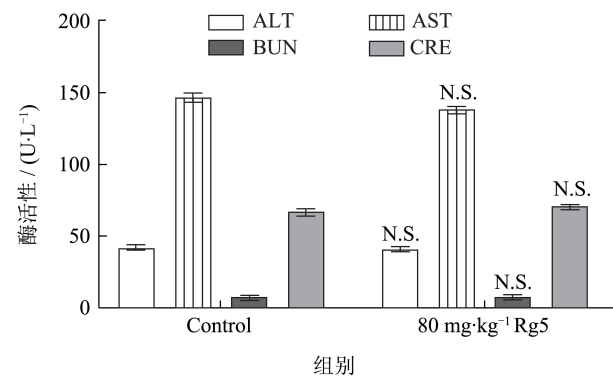


图 9 人参皂苷 Rg5 对小鼠肝、肾损伤的影响
Fig.9 The effect of ginsenoside Rg5 on liver and kidney injury in mice

注: N.S. 表示与 Control 相比无显著性差异 ($P>0.05$)。

为了研究人参皂苷 Rg5 对小鼠肝、肾损伤的影响，本研究分别评估了小鼠血清中两种可以反映肝损伤的主要转氨酶 (ALT 和 AST) 和反应肾损伤的尿素氮 (BUN) 和肌酐 (CRE) 的水平。结果如图 9 所示，空白对照组与 $80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Rg5 组相比，无显著性

差异，说明人参皂苷 Rg5 对小鼠肝、肾功能没有明显影响。此外，血常规检测结果 (表 3) 也表明，人参皂苷 Rg5 未表现出明显的指标扰动。

为进一步验证人参皂苷 Rg5 的体内安全性，以昆明鼠为试验模型，通过组织切片考察了人参皂苷 Rg5 灌胃后对小鼠主要器官的影响。实验中小鼠均未出现不良反应。得到结果如图 10 所示，与空白对照组相比， $80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Rg5 组的小鼠主要器官，包括心、肝、脾、肺、肾均未出现炎症、组织坏死等现象。以上实验结果证实，人参皂苷 Rg5 具有一定的体内安全性，这对 Rg5 的进一步利用与开发具有重要意义。

表 3 小鼠血常规指标的测定结果
Table 3 Measurement results of mouse blood routine indicators

组别 Group	Control	$80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Rg5
红细胞 RBC	$7.25\pm0.51\times10^{12}/\text{L}$	$7.41\pm0.32\times10^{12}/\text{L}$ N.S.
白细胞 WBC	$6.86\pm1.01\times10^9/\text{L}$	$6.79\pm0.98\times10^9/\text{L}$ N.S.
淋巴细胞比例 LYM	$72.65\%\pm22.58\%$	$76.31\%\pm18.42\%$ N.S.
血小板 PLT	$614.74\pm74.18\times10^9/\text{L}$	$626.74\pm61.25\times10^9/\text{L}$ N.S.
血糖 GLU	$2.56\pm0.76\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	$2.31\pm0.52\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ N.S.
中性粒细胞数 GRA	$7.853\pm3.235\times10^9/\text{L}$	$7.756\pm3.126\times10^9/\text{L}$ N.S.
单核细胞数 MON	$3.37\%\pm2.01\%$	$2.45\%\pm1.25\%$ N.S.

注: N.S. 表示与 Control 相比无显著性差异 ($P>0.05$)。

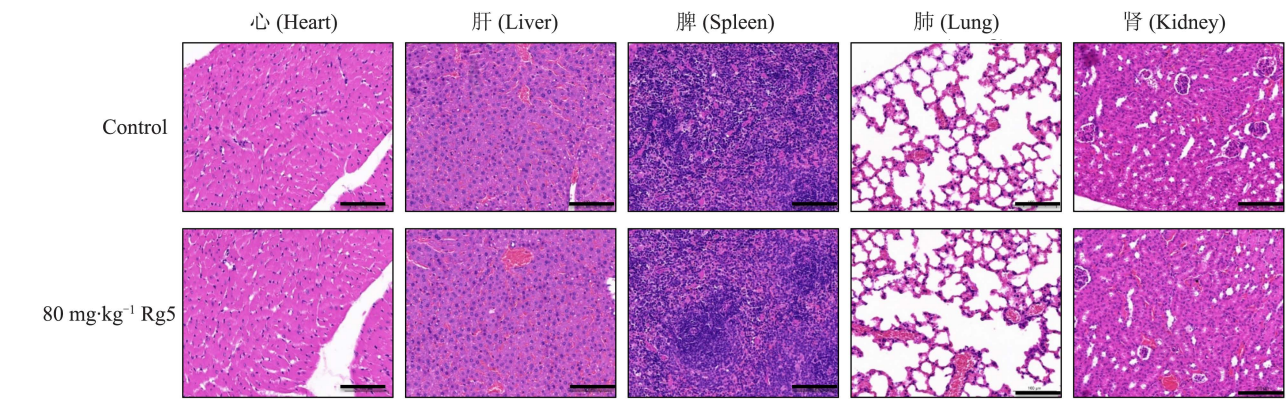


图 10 人参皂苷 Rg5 处理后小鼠主要器官的组织切片
Fig.10 The tissue slides of major organs of Rg5-treated mice

注: $20\times$ ，标尺: $100\text{ }\mu\text{m}$ 。

3 结论

综上所述，人参皂苷 Rg5 能够有效抑制宫颈癌 Hela 细胞的增殖，其 IC_{50} 值为 $51.33\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。Rg5 通过改变 p-CDK (Tyr15) 和 cyclin B1 的表达将 Hela 细胞阻滞于 G2/M 期，通过调控线粒体途径凋亡通路相关蛋白的表达诱导细胞凋亡。此外，Rg5 还能够通过降低 MMP-2、MMP-9、N-cadherin 的表达抑制 Hela

细胞的迁移和侵袭，并降低 Hela 细胞中干性相关因子 OCT4 与 CD133 的水平，克服癌细胞干性。体内实验证实了 Rg5 的安全性。考虑到宫颈癌晚期和转移患者的不良预后与 Hela 癌细胞干性、转移、侵袭之间的关系，以及 Rg5 对宫颈癌 Hela 细胞上述恶性生物学行为的抑制，人参皂苷 Rg5 有望成为一种新型的抗癌试剂或抗癌新药的先导化合物。含有人参皂苷 Rg5 的红参具有悠久的食用历史，结合 Rg5 的上述功能

和优势,本研究结果为人参皂苷 Rg5 在防癌、抗癌功能性食品和保健品开发领域的应用提供了一定的理论基础。

然而,本研究还面临如下不足:1. 缺乏动物模型体内抗癌活性的研究,未能在复杂的体内代谢条件下阐述人参皂苷 Rg5 的抗癌活性和药动学性能;2. 未能以肿瘤干细胞为模型深入研究并解释人参皂苷 Rg5 克服癌细胞干性的具体机制。针对以上不足,本课题组将以荷瘤裸鼠为模型考察 Rg5 的体内抗癌效果和药代动力学性能,并通过细胞分选技术获得肿瘤干细胞,开展与癌细胞、正常细胞的平行实验,研究其对肿瘤细胞干性抑制机制。

参考文献

- [1] ZIMMER-STELMACH A, ZAK J, PAWLOSEK A, et al. The application of artificial intelligence-assisted colposcopy in a tertiary care hospital within a cervical pathology diagnostic unit [J]. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 2022, 12(1): 106.
- [2] WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Cervical cancer* [R]. Geneva: World Health Organization, 2024.
- [3] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *A Cancer Journal for Clinicians*, 2021, 71(3): 209-249.
- [4] 肖艳,肖振君.雷帕霉素对宫颈癌HeLa细胞增殖、侵袭转移的影响及机制[J].*中国妇幼保健*,2017,32(16):3925-3927.
- [5] LIU H, LU X, HU Y, et al. Chemical constituents of *Panax ginseng* and *Panax notoginseng* explain why they differ in therapeutic efficacy [J]. *Pharmacological Research*, 2020, 16(1): 105263.
- [6] ASHRAFIZADEH M, AHMADI Z, MOHAMMADINEJAD R, et al. MicroRNAs mediate the anti-tumor and protective effects of ginsenosides [J]. *Nutrition and Cancer*, 2020, 72(8): 1264-1275.
- [7] TIAN T T, KO C N, LUO W, et al. The anti-aging mechanism of ginsenosides with medicine and food homology [J]. *Food & function*, 2023, 14(20): 9123-9136.
- [8] LEI C, CHEN J, HUANG Z, et al. Ginsenoside Rg1 can reverse fatigue behavior in CFS rats by regulating EGFR and affecting Taurine and Mannose 6-phosphate metabolism [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14: 1163638.
- [9] YANG S, LI F Y, LU S Y, et al. Ginseng root extract attenuates inflammation by inhibiting the MAPK/NF- κ B signaling pathway and activating autophagy and p62-Nrf2-Keap1 signaling *in vitro* and *in vivo* [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 28(3): 114739.
- [10] 刘敏敏.人参皂苷Rg5在前列腺癌中的抗肿瘤活性及机制研究[D].长春:吉林大学,2023.
- [11] GAO X F, ZHANG J J, GONG X J, et al. Ginsenoside Rg5: a review of anticancer and neuroprotection with network pharmacology approach [J]. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2022, 50(8): 2033-2056.
- [12] LIU M Y, LIU F, GAO Y L, et al. Pharmacological activities of ginsenoside Rg5(Review) [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2021, 22(2): 840.
- [13] LIU M Y, LIU F, LI Y J, et al. Ginsenoside Rg5 inhibits human osteosarcoma cell proliferation and induces cell apoptosis through PI3K/Akt/mTORC1-related LC3 autophagy pathway [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021: 5040326.
- [14] 徐小雪,张文文,杨潮.人参皂苷Rg5的抗癌作用研究进展[J].*中国当代医药*,2023,30(11):29-32,37.
- [15] 马春兰,李富娟,张常虹.人参皂苷Rg5介导Notch信号通路对宫颈癌细胞转移的作用[J].*中国优生与遗传杂志*,2021,29(10):1365-1368.
- [16] SONG L X, YANG F, WANG Z T, et al. Ginsenoside Rg5 inhibits cancer cell migration by inhibiting the nuclearfactor- κ B and erythropoietin-producing hepatocellular receptor A2 signaling pathways [J]. *Oncology Letters*, 2021, 21(6): 1-8.
- [17] JANANI R, REJANI CT, RAJA MG, et al. Ginsenoside Rg5 sensitizes paclitaxel-resistant human cervical-adeno-carcinoma cells to paclitaxel-and enhances the anticancer effect of paclitaxel [J]. *Genes*, 2022, 13(7): 1142-1161.
- [18] HU W W, ZHAO J, HUA W Y, et al. A study on platinum (iv) species containing an estrogen receptor modulator to reverse tamoxifen resistance of breast cancer [J]. *Metallomics*, 2018, 10(2): 346-359.
- [19] EBERHARDT J, SANTOS-MARTINS D, TILLACK AF, et al. AutoDock Vina 1.2.0: New docking methods,expanded force field, and python bindings [J]. *Journal of Chemical information and Modeling*, 2021, 61(8): 3891-3898.
- [20] 屈琳琳,刘彦楠,范代娣.人参皂苷Rg5通过诱导凋亡抑制原发性肝癌小鼠肿瘤生长[J].*生物加工过程*,2023,21(5):582-588.
- [21] 李茉.基于ROS介导JNK/p38 MAPK的激活对人参皂苷Rg5促进人肺腺癌凋亡及细胞周期阻滞的机制研究[D].长春:吉林大学,2023.
- [22] HARPER J W, ADAMS P D. Cyclin-dependent kinases [J]. *Chemical Reviews*, 2001, 101(8): 2511-2526.
- [23] FAN T J, HAN L H, CONG R S, et al. Caspase family proteases and apoptosis [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2005, 37(11): 719-727.
- [24] 赖颖蓉,赵倩琳,姜丽红.基于Bcl-2/Bax/Caspase-3信号通路探究参红通络方对心肌缺血再灌注损伤大鼠细胞凋亡的影响[J].*中国实验方剂学杂志*,2024,30(11):104-110.
- [25] 谢金金,陈燕,杜鑫,等.小檗碱抑制肿瘤干细胞增殖的机制研究及体内安全性评价[J].*中国药房*,2024,35(12):1443-1450.
- [26] DAS S, AMIN S A, JHA T. Inhibitors of gelatinases (MMP-2 and MMP-9) for the management of hematological malignancies [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 223: 113623-

113649.

[27] 田冲冲,张琦,刘开娜,等.基于网络药理学的灯盏花乙素抗乳腺癌机制研究及实验验证[J].天然产物研究与开发,2024,9(2):1-18.

[28] ZHANG H, DONG R, ZHANG P, et al. Songorine suppresses cell growth and metastasis in epithelial ovarian cancer via the Bcl-2/Bax and GSK3 β / β -catenin signaling pathways [J]. *Oncology Reports*, 2019, 41(5): 3069-3079.

[29] IYER R P, PATTERSON N L, FIELDS G B, et al. The history of matrix metalloproteinases: milestones, myths, and misperceptions [J]. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 2012, 303(8): H919-H930.

[30] LIU X R, LI S F, MEI W Y, et al. Isorhamnetin downregulates MMP2 and MMP9 to inhibit development of rheumatoid arthritis through SRC/ERK/CREB pathway [J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 2024, 30(4): 299-310.

[31] XU D, FENG H, REN Z, et al. SNHG3/WISP2 axis promotes hela cell migration and invasion via activating Wnt/ β -Catenin signaling [J]. *Cancer Genomics & Proteomics*, 2023, 20(6Suppl): 744-753.

[32] 张秋艳,黄丽松,张琳婧,等.黄芪和天花粉对小鼠恶性黑色素瘤B16细胞增殖和迁移及E-cadherin、N-cadherin蛋白表达的影响[J].中国中医药信息杂志,2020,27(5):28-34.

[33] AUBERGER J, DLASKA M, AUBERGER T, et al. Increased CD133 expression in bone marrow of my elodysplastic syndromes [J]. *Leukemia Research*, 2005, 29: 995.