

• 论著 •

桔梗皂苷 D 基于 TGF- β /Smad 通路调控上皮-间质转化 对人子宫内膜癌 Ishiwaka 细胞迁移及侵袭的作用

李瑞锋 崔燕 曾湘晖 李文元 郭清民

(青海省人民医院妇科, 青海 西宁 810000)

【摘要】 目的 探讨桔梗皂苷 D 调控上皮间质转化(EMT)对人子宫内膜癌 Ishiwaka 细胞迁移、侵袭的影响,及转化生长因子 β (TGF- β)/Smad 信号通路的调节作用。方法 取第 4 代对数生长期的人子宫内膜癌 Ishiwaka 细胞,随机分为对照组、桔梗皂苷 D 组、激动剂组和桔梗皂苷 D+激动剂组。桔梗皂苷 D 组细胞加入桔梗皂苷 D 18 μ mol/L 培养 24 h,激动剂组细胞加入重组人 TGF- β 20 ng/mL 刺激 24 h,桔梗皂苷 D 组+激动剂组细胞先加入重组人 TGF- β 20 ng/mL 刺激 24 h 后,再加入桔梗皂苷 D 培养 24 h。MTT 法检测细胞存活率,Transwell 实验检测细胞侵袭能力,划痕实验检测细胞迁移能力及蛋白印迹法检测 TGF- β 1、p-smad2/3、上皮钙粘蛋白(E-cad)和神经钙粘蛋白(N-cad)相对表达量。结果 与对照组比较,桔梗皂苷 D 组细胞存活率及 TGF- β 1、p-smad2/3 和 N-cad 蛋白相对表达量降低,细胞迁移和侵袭能力减弱,E-cad 蛋白相对表达量升高,激动剂组 TGF- β 1、p-smad2/3 和 N-cad 蛋白相对表达量升高,细胞迁移和侵袭能力增强,E-cad 蛋白相对表达量降低($P < 0.05$);与桔梗皂苷组比较,桔梗皂苷 D+激动剂组细胞存活率及 TGF- β 1、p-smad2/3 和 N-cad 蛋白相对表达量升高,细胞迁移和侵袭能力增强,E-cad 蛋白相对表达量降低($P < 0.05$);与激动剂组比较,桔梗皂苷 D+激动剂组细胞存活率及 TGF- β 1、p-smad2/3 和 N-cad 蛋白相对表达量降低,细胞迁移和侵袭能力减弱,E-cad 蛋白相对表达量升高($P < 0.05$)。结论 桔梗皂苷 D 可能通过抑制 TGF- β 1/Smad2/3 信号通路调控上皮间质转化降低人子宫内膜癌 Ishiwaka 细胞迁移及侵袭能力。

【关键词】 子宫内膜癌;桔梗皂苷 D;上皮间质转化;转化生长因子 β /Smad 信号通路;Ishiwaka 细胞

【中图分类号】 R737.3 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 05. 002

Effect of platycodin D on migration and invasion of human endometrial carcinoma Ishiwaka cells by regulating epithelial mesenchymal transformation based on TGF- β /Smad pathway

LI Ruifeng, CUI Yan, ZENG Xianghui, LI Wenyuan, GUO Qingmin

(Department of Gynecology, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining 810000, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of platycodin D on epithelial mesenchymal transformation (EMT) in human endometrial carcinoma Ishiwaka cell migration and invasion, and the regulation of transforming growth factor β (TGF- β) /Smad signaling pathway. **Methods** Ishiwaka cells in the fourth generation of logarithmically growing stage were randomly divided into control group, platycodin D group, agonist group and platycodin D+ agonist group. Cells in platycodin D group were added with platycodin D 18 μ mol/L and cultured for 24 h. Cells in the agonist group were added with 20 ng/mL recombinant human TGF- β for 24 h, and cells in the platycodin D + agonist group were first added with 20 ng/mL recombinant human TGF- β for 24 h and then cultured with platycodin D for 24 h. Cell viability was detected by MTT assay, cell invasion ability was detected by transwell assay, cell migration ability was detected by scratch assay, and TGF- β 1, p-Smad2/3, epithelial cadherin(E-cad) and neural cadherin (N-cad) were detected by western blotting. **Results** Compared with the control group, cell survival rate and relative expression levels of TGF- β 1, p-Smad2/3, N-cad and cell migration and invasion ability in platycodin D group were decreased, and the relative expression level of E-cad protein was increased. The relative expression levels of TGF- β 1, p-Smad2/3 and N-cad, cell migration and invasion ability

引用本文:李瑞锋,崔燕,曾湘晖,等. 桔梗皂苷 D 基于 TGF- β /Smad 通路调控上皮-间质转化对人子宫内膜癌 Ishiwaka 细胞迁移及侵袭的作用

[J]. 西部医学, 2022, 34(5): 633-638. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 05. 002

in agonist group were increased, and the relative expression level of E-cad protein was decreased ($P < 0.05$). Compared with the platycodin D group, the cell survival rate and the relative expression levels of TGF- β 1, p-Smad2/3 and N-cad protein, the cell migration and invasion ability were increased in platycodin D + agonist group, and the relative expression level of E-cad protein was decreased ($P < 0.05$). Compared with agonist group, cell survival rate and relative expression levels of TGF- β 1, p-Smad2/3 and N-cad, cell migration and invasion ability in platycodin D + agonist group were decreased, and the relative expression level of E-cad was increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Platycodin D may regulate epithelial-mesenchymal transformation by inhibiting TGF- β 1/Smad2/3 signaling pathway and reduce the invasion and migration of human endometrial carcinoma Ishiwaka cells.

【Key words】 Endometrial cancer; Platycodin D; Epithelial-mesenchymal transformation; Transforming growth factor β /Smad signaling pathway

子宫内膜癌常发生于围绝经期和绝经后女性,近几年发病率有升高趋势,已成为女性生殖道发病率最高的恶性肿瘤^[1]。桔梗皂苷 D 是传统中药桔梗的有效活性成分之一,具有广泛抗肿瘤作用,如胃癌、宫颈癌和肝癌^[2-4]。转化生长因子 β (Transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)/Smad 信号通路参与细胞生长、分化和细胞稳态等生理过程,研究发现, TGF- β /Smad 信号通路抑制剂可降低子宫内膜癌细胞增殖、迁移和侵袭能力^[5]。上皮间质转化 (Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT) 在肿瘤细胞的侵袭和浸润过程中起重要作用,研究发现,子宫内膜癌细胞发生 EMT,癌细胞侵袭和迁移能力增强^[6]。高尔基磷酸蛋白 3 通过调节 EMT,促进子宫内膜癌细胞侵袭和迁移^[7]。已有研究表明,桔梗皂苷 D 可抑制子宫内膜癌细胞侵袭和浸润,诱导癌细胞凋亡^[8],但其具体机制尚不清楚。本研究以人子宫内膜癌 Ishiwaka 细胞为对象,探讨桔梗皂苷 D 对癌细胞增殖、迁移和侵袭的调控机制,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 细胞系 人子宫内膜癌 Ishiwaka 细胞购自中国科学院上海细胞库。

1.2 试剂和仪器 桔梗皂苷 D (纯度 $> 98\%$) 购自上海源叶生物科技有限公司;重组人 TGF- β 购自美国 Peprotech 公司;兔抗人上皮钙粘蛋白 (E-cadherin, E-cad)、神经钙粘蛋白 (N-cadherin, N-cad)、Smad2/3、p-Smad2/3 和 TGF- β 1 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;Transwell 小室和基质胶购自美国 Thermo 公司;酶标仪购自美国 Bio-Tek 公司。

1.3 细胞培养与分组 人子宫内膜癌 Ishiwaka 细胞培养于含 10% 胎牛血清的培养基,置于 37℃、5% CO₂ 和饱和湿度的培养箱中,待细胞融合到 80% 时,预冷 PBS 清洗,胰蛋白酶消化传代,培养至第 4 代后用于实验。取对数生长期的 Ishiwaka 细胞,DMEM 培养基将细胞重悬,制成单细胞悬液,以每孔 1×10^5 个/孔的密度接种于 96 孔板,待细胞贴壁生长后,随

机分为对照组、桔梗皂苷 D 组、激动剂组、桔梗皂苷 D 组 + 激动剂组,每组设定 5 个复孔。桔梗皂苷 D 组细胞加入桔梗皂苷 D 18 $\mu\text{mol/L}$ 培养 24 h,激动剂组细胞加入重组人 TGF- β 20 ng/mL 刺激 24 h,桔梗皂苷 D 组 + 激动剂组细胞先加入重组人 TGF- β 20 ng/mL 刺激 24 h 后,弃掉原有培养基,加入新的培养基后,加入桔梗皂苷 D 18 $\mu\text{mol/L}$ 培养 24 h。

1.4 MTT 法检测细胞存活率 收集 Ishiwaka 细胞,将细胞制成密度为 1×10^5 个/mL 的单细胞悬液,以每孔 100 μL 接种于 96 孔板,置于培养箱中培养 24 h 后,每孔加入 20 μL MTT 工作液,37℃ 培养 4 h,弃去原有培养基,加入 100 μL DMSO,轻轻振荡混匀,酶标仪测定 490 nm 处的吸光度 (A) 值,细胞存活率 (%) = 实验组 A 值 / 对照组 A 值 $\times 100\%$ 。

1.5 划痕实验检测细胞迁移能力 收集 Ishiwaka 细胞,将细胞制成密度为 1×10^5 个/mL 的单细胞悬液,以每孔 100 μL 接种于 6 孔板,培养箱中培养,待细胞融合度达到 80% 时,弃掉原有培养基,预冷 PBS 清洗 2 次,200 μL 无菌枪头垂直 6 孔板底部均匀划线,预冷 PBS 清洗 2 次,培养箱中培养 24 h 后,显微镜下拍照,观察划痕愈合程度,分别在 0 h 和 24 h 测量图像中的划痕面积,计算细胞迁移率,细胞迁移率 = [(0 h 划痕面积 - 24 h 后划痕面积) / 0 h 划痕面积] $\times 100\%$ 。

1.6 Transwell 实验检测细胞侵袭能力 冰浴条件下,10 mg/mL 基质胶与等体积无血清培养基振荡混匀,加入 Transwell 小室上室,37℃ 培养箱中静置 4 h,基质胶凝固后,收集 Ishiwaka 细胞,制成单细胞悬液,小室每孔加入 200 μL 密度为 1×10^5 个/mL 的细胞悬液到 Transwell 小室上室,下室中加入 500 μL 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,置于培养箱中培养 24 h,弃去小室内的培养基,棉签轻轻擦掉小室底部内面细胞,预冷 PBS 清洗 2 次,室温下 4% 多聚甲醛固定 15 min,0.4% 结晶紫染色 5 min,PBS 清洗,置于显微镜下观察并计数侵袭到微孔膜下层的细胞,每孔取 5 个不重复视野,将 5 个视野细胞数的平均值记

为该孔的侵袭细胞数。

1.7 蛋白印迹法检测各蛋白相对表达量 收集 Ishi-waka 细胞, 预冷 PBS 清洗 2 次, 加入蛋白裂解液提取蛋白, 根据 BCA 试剂盒说明书测定蛋白浓度, 100℃ 煮沸使蛋白变性稳定, 根据所需蛋白分子量配制 10% 的分离胶, 每孔加入 20 μ L 蛋白样品, 电泳 2 h 后, 0.3 A 恒流将蛋白湿转至 PVDF 膜上, 室温封闭 1 h, TGF- β 1、p-smad2/3、Smad2/3、E-cad、N-cad 和 GAPDH 一抗(1:1000)4℃ 孵育过夜, 二抗(1:5000)室温孵育 1 h, ECL 法显影, Image J 分析条带灰度值, 目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白条带灰度值 / GAPDH 条带灰度值。

1.8 统计学分析 采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多样本计量资料比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞存活率检测结果 细胞存活率组间比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 桔梗皂苷 D 组细胞存活率降低 ($P < 0.05$); 与桔梗皂苷 D 组比较, 桔梗皂苷 D+激动剂组细胞存活率升高 ($P < 0.05$); 与激动剂组比较, 桔梗皂苷 D 组+激动剂组细胞存活率降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 细胞迁移能力检测结果 细胞迁移率组间比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 桔

表 1 各组细胞存活率比较 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 1 Comparison of survival rate of cells in each group

组别	细胞存活率 ($\times 10^{-2}$)
对照组	100.0
桔梗皂苷 D 组	66.03 \pm 5.82 ^①
激动剂组	98.15 \pm 6.76 ^②
桔梗皂苷 D+激动剂组	79.94 \pm 6.27 ^{①②③}
F	43.692
P	<0.001

注: 与对照组比, ① $P < 0.05$; 与桔梗皂苷 D 组比, ② $P < 0.05$; 与激动剂组比, ③ $P < 0.05$

梗皂苷 D 组细胞迁移率降低, 激动剂组细胞迁移率升高 ($P < 0.05$); 与桔梗皂苷 D 组比较, 桔梗皂苷 D+激动剂组细胞迁移率升高 ($P < 0.05$); 与激动剂组比较, 桔梗皂苷 D 组+激动剂组细胞迁移率降低 ($P < 0.05$)。见表 2、图 1。

表 2 各组细胞迁移率比较 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 2 Comparison of migration rate of cells in each group

组别	细胞迁移率 ($\times 10^{-2}$)
对照组	64.52 \pm 3.47
桔梗皂苷 D 组	25.66 \pm 3.28 ^①
激动剂组	76.30 \pm 3.06 ^{①②}
桔梗皂苷 D+激动剂组	32.45 \pm 3.78 ^{①②③}
F	206.772
P	<0.001

注: 与对照组比, ① $P < 0.05$; 与桔梗皂苷 D 组比, ② $P < 0.05$; 与激动剂组比, ③ $P < 0.05$

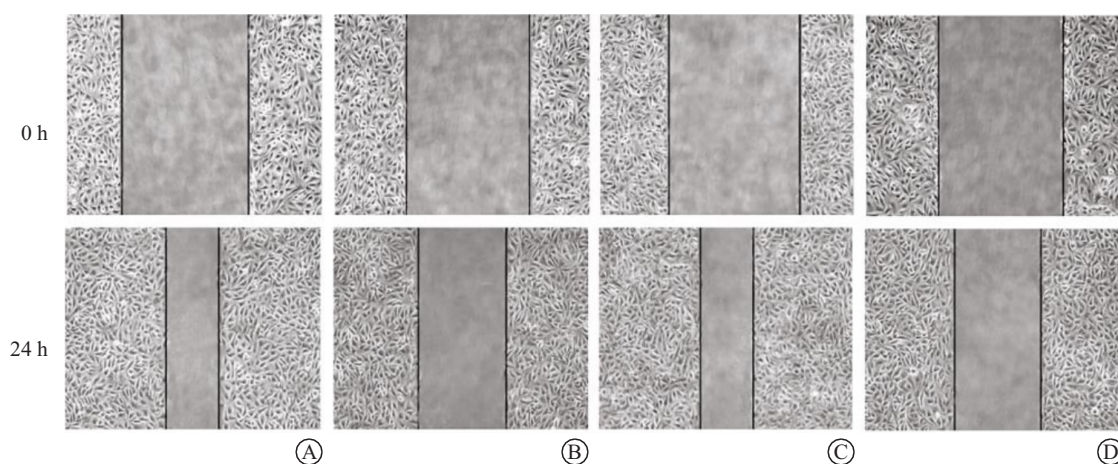


图 1 细胞划痕实验图

Figure 1 The scratch assay of cells

注: A. 对照组; B. 桔梗皂苷 D 组; C. 激动剂组; D. 桔梗皂苷 D+激动剂组

2.3 侵袭细胞数检测结果 侵袭细胞数组间比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 桔梗皂苷 D 组侵袭细胞数减少, 激动剂组侵袭细胞数增多 ($P < 0.05$); 与桔梗皂苷 D 组比较, 桔梗皂苷 D+激

动剂组侵袭细胞数增多 ($P < 0.05$); 与激动剂组比较, 桔梗皂苷 D 组+激动剂组侵袭细胞数减少 ($P < 0.05$)。见图 2、表 3。

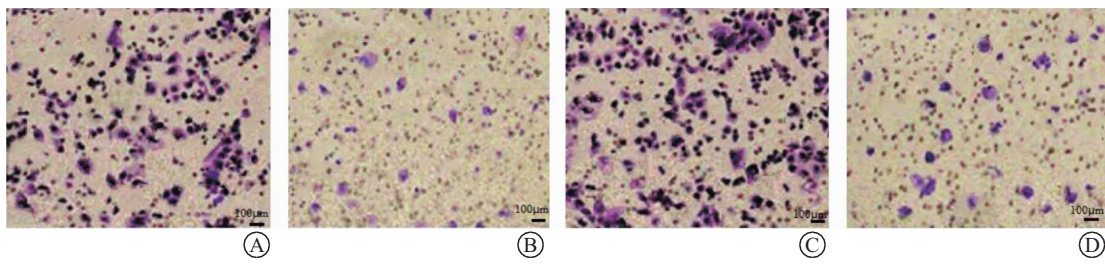


图 2 细胞 Transwell 实验(200×)

Figure 2 The transwell assay of cells

注: A. 对照组; B. 桔梗皂苷 D 组; C. 激动剂组; D. 桔梗皂苷 D+激动剂组

表 3 各组侵袭细胞数比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 3 Comparison of the number of invaded cells in each group

组别	侵袭细胞数(个)
对照组	108.47±10.62
桔梗皂苷 D 组	65.82±8.68 ^①
激动剂组	159.35±11.96 ^{①②}
桔梗皂苷 D+激动剂组	87.26±8.55 ^{①②③}
F	79.411
P	<0.001

注:与对照组比,①P<0.05;与桔梗皂苷 D 组比,②P<0.05;与激动剂组比,③P<0.05

2.4 蛋白印迹法检测结果 TGF-β1、p-smad2/3、E-

cad 和 N-cad 蛋白相对表达量组间比较,差异有统计学意义(P<0.05)。与对照组比较,桔梗皂苷 D 组 TGF-β1、p-smad2/3 和 N-cad 蛋白相对表达量降低,E-cad 蛋白相对表达量升高,激动剂组 TGF-β1、p-smad2/3 和 N-cad 蛋白相对表达量升高,E-cad 蛋白相对表达量降低(均 P<0.05);与桔梗皂苷 D 组比较,桔梗皂苷 D+激动剂组 TGF-β1、p-smad2/3 和 N-cad 蛋白相对表达量升高,E-cad 蛋白相对表达量降低(均 P<0.05);与激动剂组比较,桔梗皂苷 D 组+激动剂组 TGF-β1、p-smad2/3 和 N-cad 蛋白相对表达量降低,E-cad 蛋白相对表达量升高(均 P<0.05)。见表 4、图 3。

表 4 各组 TGF-β1、p-smad2/3、E-cad 和 N-cad 蛋白相对表达量比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 4 Comparison of the relative expression levels of TGF-β1, p-smad2/3, E-cad and N-cad in each group

组别	TGF-β1	p-smad2/3	Smad2/3	N-cad	E-cad
对照组	0.91±0.08	0.59±0.05	0.98±0.08	0.83±0.07	0.31±0.05
桔梗皂苷 D 组	0.52±0.06 ^①	0.33±0.06 ^①	0.96±0.07 ^①	0.25±0.05 ^①	0.56±0.07 ^①
激动剂组	1.05±0.08 ^{①②}	0.84±0.07 ^{①②}	1.02±0.06 ^{①②}	1.01±0.07 ^{①②}	0.20±0.06 ^{①②}
桔梗皂苷 D+激动剂组	0.64±0.07 ^{①②③}	0.47±0.06 ^{①②③}	1.05±0.08 ^{①②③}	0.37±0.06 ^{①②③}	0.44±0.05 ^{①②③}
F	55.399	64.053	1.526	165.828	36.185
P	<0.001	<0.001	0.246	<0.001	<0.001

注:与对照组比,①P<0.05;与桔梗皂苷 D 组比,②P<0.05;与激动剂组比,③P<0.05

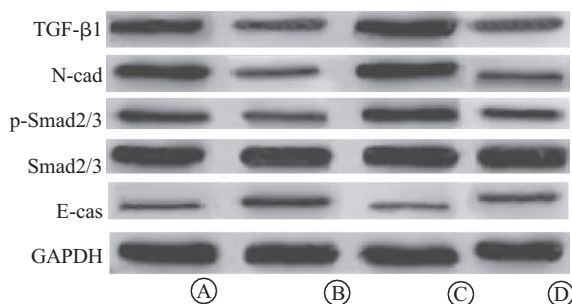


图 3 细胞中各蛋白表达

Figure 3 The expression level of proteins in cell

注: A. 对照组; B. 桔梗皂苷 D 组; C. 激动剂组; D. 桔梗皂苷 D+激动剂组

3 讨论

近年来,子宫内膜癌发病人群逐渐趋于年轻化,

且呈升高趋势,严重威胁女性生命安全。根据病理特征子宫内膜癌分为雌激素依赖性内膜样癌和非雌激素依赖性浆液性癌,其中以发生于子宫内膜腺体上皮的雌激素依赖性腺癌最为常见,在无孕激素拮抗的情况下,雌激素长期刺激下,子宫内膜发生增生或不典型增生,继而出现癌变^[9]。研究发现,雌激素上调 HOTAIR 表达促进子宫内膜癌细胞增殖,增强裸鼠致癌能力^[10]。Liu 等^[11]研究发现雌激素上调 UBE2C 通过 p53 促进 EMT,从而增强子宫内膜癌的侵袭和迁移。子宫内膜癌发病早期即已出现临床症状,且具有相对惰性,因此早期子宫内膜癌具有较高的可治愈性,而在疾病晚期或复发时,癌细胞侵袭性增强,病死率显著升高^[12]。雌、孕激素与子宫内膜癌的发生密切相关,无论是内源性还是外源性雌激素长期刺激都会

导致子宫内膜过度增生,而孕激素可拮抗雌激素的作用,抑制上皮细胞增殖、分化并诱导细胞凋亡^[13]。子宫内分泌治疗是一种传统治疗方法,尤其对于希望保留生育功能的年轻女性,该治疗方法尤为重要,临床研究表明,外源性给予孕激素治疗的子宫内膜癌患者,具有良好的疗效^[14]。本研究以 Ishiwaka 细胞为研究对象,探讨桔梗皂苷 D 抑制子宫内膜癌发生发展的机制。

桔梗是一种始载于《神农本草经》的传统中药,其活性成分包括多种皂苷、多聚糖和脂肪酸等,其中以皂苷为主,而桔梗皂苷 D 是主要的皂苷成分,其含量相对较高。桔梗皂苷 D 药理学作用广泛,在抗炎镇痛、抗衰老、降脂降糖和抗肿瘤方面的作用多有报道^[15-16]。研究发现,桔梗皂苷 D 可前列腺癌细胞增殖,诱导其凋亡^[17]。Li 等^[18]研究发现,桔梗皂苷 D 通过阻滞细胞周期,调节细胞凋亡相关蛋白,诱导细胞凋亡。体内外研究均表明,miR-34a 过表达或抑制 survivin 均可增强胃癌对桔梗皂苷 D 的敏感性^[19]。本研究用桔梗皂苷 D 处理人子宫内膜癌 Ishiwaka 细胞,探讨其对子宫内膜癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。结果显示,桔梗皂苷 D 处理后,癌细胞存活率降低,迁移和侵袭能力减弱。这表明桔梗皂苷 D 能抑制人子宫内膜癌 Ishiwaka 细胞增殖、迁移和侵袭。

EMT 是上皮细胞逐渐失去上皮表型,而获得间质细胞表型的过程,主要表现为上皮细胞极性消失、细胞间黏附力降低,同时细胞迁移和运动能力增强,EMT 是肿瘤细胞发生浸润转移的关键步骤,是恶性肿瘤进展的重要标志^[20]。癌细胞发生 EMT 时,E-cad 表达降低,N-cad 表达升高,钙粘蛋白的这种变化被称为“钙粘蛋白开关”。在子宫内膜癌中,DACH1 通过 Notch1 信号通路抑制 EMT 过程,逆转癌细胞对孕激素的耐药性^[21]。研究表明,多种细胞生长因子可诱发 EMT,其中 TGF- β 1 促进肿瘤血管再生,在肿瘤细胞的浸润转移中发挥重要作用,TGF- β 1 与细胞膜表面其受体结合后,使 Smad2/3 磷酸化,磷酸化后的 Smad2/3 与 Smad4 结合,形成三聚体复合物,进入细胞核调控转录因子表达,诱导 EMT 发生,促进癌细胞侵袭转移^[22]。研究发现,TGF- β 1 促进喉鳞状细胞癌侵袭和转移,阻断 TGF- β 1/Smad2/3 信号通路后,可逆转 wnt1 诱导信号蛋白 1 导致的 EMT 过程,降低癌细胞迁移和侵袭能力^[23]。NRP1 通过 TGF- β 1/Smad2/3 信号通路促进电离辐射诱导肺腺癌细胞 A549 发生 EMT 及细胞形态学改变,同时癌细胞迁移和侵袭能力增强^[24]。Huo 等^[25]研究表明,miR-527 抑制 TGF- β /Smad 信号通路,抑制非小细胞肺癌

EMT 过程及癌细胞浸润。研究发现,水苏碱通过调节 TGF- β /Smad 信号通路抑制 TGF- β 1 诱导的肝癌细胞 EMT^[26]。本研究中,重组人 TGF- β 1 激活子宫内膜癌细胞 TGF- β 1/Smad2/3 信号通路后,E-cad 蛋白表达降低,而 N-cad 蛋白表达升高,给予桔梗皂苷 D 治疗后,TGF- β 1、p-Smad2/3 和 N-cad 蛋白表达降低,而 E-cad 蛋白表达升高。结果表明,桔梗皂苷 D 抑制 TGF- β 1/Smad2/3 信号通路,逆转 EMT 过程。

4 结论

桔梗皂苷 D 抑制人子宫内膜癌增殖、迁移和侵袭,其可能是通过抑制 TGF- β 1/Smad2/3 信号通路逆转 EMT 过程发挥作用,为临床治疗子宫内膜癌提供理论依据。

【参考文献】

- [1] GU B, SHANG X, YAN M, *et al.* Variations in incidence and mortality rates of endometrial cancer at the global, regional, and national levels, 1990-2019[J]. *Gynecol Oncol*, 2021, 161(2): 573-580.
- [2] 司仙科, 杨佳华, 李炜, 等. 桔梗皂苷-D 对胃癌 BGC823 细胞增殖、侵袭及迁移能力的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(12): 1275-1277.
- [3] 马琳琳, 何慧, 张世科, 等. 桔梗皂苷-D 诱导 HeLa 细胞凋亡的作用及机制研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2020, 29(22): 2429-2436.
- [4] 杨振杰, 杨景, 胡晓, 等. 桔梗皂苷 D 对 HCCLM3 细胞迁移侵袭影响机制探讨[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2018, 25(4): 238-242.
- [5] 魏旭静, 李林, 张红真, 等. LncRNA CCAT1 通过 TGF- β /Smad 信号通路对子宫内膜癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2020, 46(5): 1016-1022.
- [6] 马香莲, 冯海霞, 吴德慧. miR-122 通过 AXL/HIF-1 α 通路抑制子宫内膜癌细胞增殖和上皮间质转化[J]. *西部医学*, 2020, 32(9): 1318-1323.
- [7] 曹俊红, 许雪梅, 李潇, 等. 桔梗皂苷 D 对子宫内膜癌细胞凋亡和侵袭的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(11): 1535-1539.
- [8] WEN Y, TAN X, WU X, *et al.* Golgi phosphoprotein 3 (GOLPH3) promotes endometrial carcinoma cell invasion and migration by regulating the epithelial-mesenchymal transition[J]. *Cancer Biomark*, 2019, 26(1): 21-30.
- [9] 姜宙, 王丽娥, 臧丽丽, 等. PI3 K 抑制剂拮抗雌激素介导的子宫内膜癌细胞 Ishikawa 增殖的研究[J]. *现代妇产科进展*, 2018, 27(7): 501-504.
- [10] 马旭兰, 夏迪, 王慧霄, 等. 雌激素通过介导 HOTAIR 表达对子宫内膜癌细胞增生及裸鼠致瘤能力的影响[J]. *首都医科大学学报*, 2019, 40(6): 894-900.
- [11] LIU Y, ZHAO R, CHI S, *et al.* UBE2C is upregulated by estrogen and promotes epithelial-mesenchymal transition via p53 in endometrial cancer[J]. *Mol Cancer Res*, 2020, 18(2): 204-215.
- [12] MAH V, ELSHIMALI Y, CHU A, *et al.* ALDH1 expression

- predicts progression of premalignant lesions to cancer in Type I endometrial carcinomas[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 11949.
- [13] 张广平, 龚时鹏, 邓婉文, 等. miR-200a 靶向雌孕激素受体抑制子宫内膜癌细胞生长的作用研究[J]. *现代妇产科进展*, 2018(12): 886-890, 895.
- [14] 江娟, 郑超群, 陈娟. 孕激素和米非司酮治疗子宫内膜癌的效果对比[J]. *内蒙古医学杂志*, 2018, 50(11): 1340-1341.
- [15] ZHANG J, SONG N, LIU Y, *et al.* Platycodin D inhibits β -amyloid-induced inflammation and oxidative stress in BV-2 cells via suppressing TLR4/NF- κ B signaling pathway and activating Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Neurochem Res*, 2021, 46(3): 638-647.
- [16] SHI C, LI Q, ZHANG X. Platycodin D protects human fibroblast cells from premature senescence induced by H₂O₂ through improving mitochondrial biogenesis[J]. *Pharmacology*, 2020, 105(9-10): 598-608.
- [17] 宋伟, 王佳佳, 王贺, 等. 桔梗皂苷 D 通过 FOXO3a 通路介导前列腺癌 PC-3 细胞程序性坏死[J]. *肿瘤*, 2018, 38(2): 85-93.
- [18] LI X G, GAO S, YANG W S, *et al.* Investigation of the Inhibitory Effect of Platycodin D in Human Transitional Cell Carcinoma Cell Line 5637[J]. *Folia Biol (Praha)*, 2021, 67(1): 37-47.
- [19] PENG Y, FAN J Y, XIONG J, *et al.* miR-34a Enhances the Susceptibility of Gastric Cancer to Platycodin D by Targeting Survivin[J]. *Pathobiology*, 2019, 86(5-6): 296-305.
- [20] YOU X, WU J, ZHAO X, *et al.* Fibroblastic galectin-1-fostered invasion and metastasis are mediated by TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(14): 18464-18481.
- [21] ZHOU Q, LI W, KONG D, *et al.* DACH1 suppresses epithelial to mesenchymal transition (EMT) through Notch1 pathway and reverses progesterin resistance in endometrial carcinoma[J]. *Cancer*, 2019, 8(9): 4380-4388.
- [22] XU L, LIU W, LI T, *et al.* Long non-coding RNA SMASR inhibits the EMT by negatively regulating TGF- β /Smad signaling pathway in lung cancer[J]. *Oncogene*, 2021, 40(20): 3578-3592.
- [23] SONG D, WANG L, SU K, *et al.* WISP1 aggravates cell metastatic potential by abrogating TGF- β -Smad2/3-dependent epithelial-to-mesenchymal transition in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2021, 246(11): 1244-1252.
- [24] CHEN Z, GAO H, DONG Z, *et al.* NRP1 regulates radiation-induced EMT via TGF- β /Smad signaling in lung adenocarcinoma cells[J]. *Int J Radiat Biol*, 2020, 96(10): 1281-1295.
- [25] HUO W, ZHU X M, PAN X Y, *et al.* MicroRNA-527 inhibits TGF- β /SMAD induced epithelial-mesenchymal transition via downregulating SULF2 expression in non-small-cell lung cancer[J]. *Math Biosci Eng*, 2019, 16(5): 4607-4621.
- [26] CHEN X, YAN N. Stachydrine inhibits TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma cells through the TGF- β /Smad and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways[J]. *Anticancer Drugs*, 2021, 32(8): 786-792.

(收稿日期: 2021-07-24; 修回日期: 2022-02-06; 编辑: 张翰林)

(上接第 632 页)

- [59] ARMSTRONG P W, ROESSIG L, PATEL M J, *et al.* A multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the efficacy and safety of the oral soluble guanylate cyclase stimulator: the VICTORIA trial[J]. *JACC Heart Failure*, 2018, 6: 96-104.
- [60] PSOTKA M A, GOTTLIEB S S, FRANCIS G S, *et al.* Cardiac calcitropes, myotropes, and mitotropes: JACC review topic of the week[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(18): 2345-2353.
- [61] TEERLINK J R, DIAZ R, FELKER G M, *et al.* Cardiac myosin activation with omecamtiv mecarbil in systolic heart failure[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384: 105-116.
- [62] ROCHA B M L, CUNHA G J L, MENEZES FALCÃO L F. The Burden of Iron Deficiency in Heart Failure: Therapeutic Approach[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71(7): 782-793.
- [63] KLIP I T, COMIN-COLET J, VOORS A A, *et al.* Iron deficiency in chronic heart failure: an international pooled analysis[J]. *Am Heart J*, 2013, 165(4): 575-582, e3.
- [64] JANKOWSKA E A, ROZENTRYT P, WITKOWSKA A, *et al.* Iron deficiency: an ominous sign in patients with systolic chronic heart failure[J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(15): 1872-1880.
- [65] VON HAEHLING S, JANKOWSKA E A, VAN VELDHUIS-EN D J, *et al.* Iron deficiency and cardiovascular disease[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(11): 659-669.
- [66] ANAND I S, GUPTA P. Anemia and Iron Deficiency in Heart Failure: Current Concepts and Emerging Therapies[J]. *Circulation*, 2018, 138(1): 80-98.
- [67] IORIO A, SENNI M, BARBATI G, *et al.* Prevalence and prognostic impact of non-cardiac co-morbidities in heart failure outpatients with preserved and reduced ejection fraction: a community-based study[J]. *Eur J Heart Fail*, 2018, 20(9): 1257-1266.

(收稿日期: 2021-02-05; 编辑: 张翰林)