

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.05.006

· 基础研究 ·

人参皂苷 Rg3 体外通过抑制 Wnt/ β 联蛋白通路阻止胃癌 SGC7901 细胞血管生成拟态的形成

李烨婷, 唐有为(重庆大学附属肿瘤医院/重庆市肿瘤研究所/重庆市肿瘤医院 药学部, 重庆 400030)

[摘要] **目的:**探索人参皂苷 Rg3 体外对胃癌 SGC7901 细胞血管生成拟态 (VM) 形成的影响及其分子机制。**方法:** MTT 法检测不同浓度 Rg3 对 SGC7901 细胞增殖的影响; SGC7901 细胞分为 BML-284 组、XAV-939 组、Rg3 组、Rg3+BML-284 组和空白组, Transwell 实验检测细胞的侵袭和迁移, 成管实验观察细胞管样结构的形成, ELISA 检测细胞 MMP-9 和 MMP2 分泌变化, qPCR 检测细胞中 GSK-3 β 、Wnt2B mRNA 表达水平, WB 检测细胞中 β 联蛋白表达水平, 免疫荧光检测 β 联蛋白进入细胞核情况。**结果:** 人参皂苷 Rg3 可以时间-浓度依赖的方式抑制 SGC7901 细胞增殖。与空白组相比, 40 mg/L Rg3 显著抑制 SGC7901 细胞侵袭和迁移 (均 $P < 0.05$)、VM 的形成 ($P < 0.05$), 同时细胞中 GSK-3 β 、Wnt2B mRNA 和 β 联蛋白的表达及其进核行为均受到显著抑制 (均 $P < 0.05$); Rg3+BML-284 组细胞的侵袭、迁移以及 VM 的形成情况与空白组无显著差异 (均 $P > 0.05$)。**结论:** Rg3 通过抑制 SGC7901 细胞中 Wnt/ β 联蛋白通路激活从而抑制细胞的侵袭、迁移以及 VM 的形成。

[关键词] 人参皂苷 Rg3; 胃癌; SGC7901 细胞; 血管生成拟态; Wnt/ β 联蛋白通路; 侵袭; 迁移

[中图分类号] R735.2; R730.59; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)05-0518-06

Ginsenoside Rg3 suppresses the formation of vasculogenic mimicry of gastric cancer SGC7901 cells by inhibiting Wnt/ β -catenin pathway *in vitro*

LI Yeting, TANG Youwei (Department of Pharmacy, Cancer Hospital of Chongqing & Chongqing Cancer Institute & Cancer Hospital Affiliated to Chongqing University, Chongqing 400030, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of ginsenoside Rg3 on the formation of vasculogenic mimicry (VM) in gastric cancer cell line SGC7901 and its molecular mechanism. **Methods:** MTT assay was used to detect the effect of different concentrations of Rg3 on the proliferation of SGC7901 cells. SGC7901 cells were grouped as follows: BML-284 group, XAV-939 group, Rg3 group, Rg3+BML-284 group and blank group. Transwell chamber assay was used to detect cell invasion and migration; the formation of VM was observed by tube formation assay; the secretion of MMP-9 and MMP2 was detected by ELISA; the mRNA expressions of GSK-3 β and Wnt2B were detected by qPCR; the expression of β -Catenin protein in cells was analyzed by WB; and nuclear entry of β -Catenin was examined by Immunofluorescence. **Results:** Ginsenoside Rg3 inhibited the proliferation of SGC7901 cells in a time- and concentration-dependent manner; compared with the blank group, 40 mg/L Rg3 significantly inhibited the invasion and migration of SGC7901 cells (both $P < 0.05$) and VM formation ($P < 0.05$); in the meanwhile, the expressions of intracellular GSK-3 β , Wnt2B mRNA and β -catenin protein, as well as the nuclear entry of β -catenin were significantly inhibited (all $P < 0.05$). The invasion, migration and VM formation of SGC7901 cells in Rg3+BML-284 group were not significantly different from those in the blank group (all $P > 0.05$). **Conclusion:** Rg3 can inhibit cell invasion, migration and VM formation in SGC7901 cells by inhibiting the activation of Wnt/ β -Catenin pathway.

[Key words] ginsenoside Rg3; gastric cancer; SGC7901 cell; vasculogenic mimicry; Wnt/ β -Catenin pathway; invasion; migration

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(5): 518-523. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.05.006]

在世界范围内,胃癌发病率居恶性肿瘤的第4位,多数胃癌患者在被确诊时已处于晚期,病死率位列恶性肿瘤的第3位^[1],发掘良好的抗胃癌药物具有重要意义。基于抗血管生成开发的药物在肿瘤治疗中被广泛应用,但是在很多肿瘤中存在血管生成拟态 (vasculogenic mimicry, VM), VM 与正常血管不同,其管壁由轻度分化的肿瘤细胞组成,没有血管内皮细胞^[2],抗血管生成药物无法靶向作用于 VM。肿

瘤细胞极易从 VM 壁上脱落,进入正常血管向远处转移^[3]。VM 在为快速生长的肿瘤提供营养和氧气、以及促进肿瘤转移中具有重要作用,构成了肿瘤的微

[作者简介] 李烨婷(1985-),女,主管药师,主要从事药物抗肿瘤机制的研究, E-mail: 525005301@qq.com

[通信作者] 唐有为(TANG Youwei, corresponding author),主管药师,主要从事药物的抗肿瘤机制的研究, E-mail: maxiaofengqin hai2@163.com

循环^[4]。在高度恶化的肿瘤中均发现 VM 的存在, 如胃癌具有明显的 VM 形成^[5]。抑制 VM 形成对抑制肿瘤生长、转移具有重要作用。在肝癌、肺癌、卵巢癌、胶质瘤等恶性肿瘤中均发现 Wnt/ β 联蛋白异常激活对 VM 形成具有重要作用^[6-9], 抑制该通路可有效抑制 VM 的形成。人参的主要活性成分是人参皂苷, 不同的人参皂苷具有不同的药理作用, 其中 Rg3 是抗肿瘤效果最好的^[10]。目前 Rg3 已经大量应用于临床抗肿瘤血管生成^[11-12]。在基础研究中 Rg3 表现出对肿瘤细胞增殖、转移的抑制, 诱导肿瘤细胞凋亡, 增加肿瘤细胞的化疗敏感性^[13-15]。但是 Rg3 对于胃癌的 VM 形成的影响尚未有研究, 因此本研究将对 Rg3 的抗胃癌 VM 形成的作用及其机制进行探索, 为 Rg3 的抗胃癌作用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

胃癌 SGC7901 细胞购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, 用含有 10% 胎牛血清 (FBS) 的 H-DMEM 培养基培养于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中, 待细胞生长至 85% 汇合度时以 1:3 传代。

人参皂苷 Rg3 (批准文号: Z20030044) 购自吉林亚泰制药, Wnt 信号激活剂 BML-284 (批号: 853220-52-7) 购自美国 MCE 公司, Wnt 信号抑制剂 XAV-939 (S1180) 购自美国 Selleck Chemicals 公司, MTT、DMSO、DMEM 高糖培养基均购自北京 Solarbio 公司, Transwell 小室购自美国 Millipore 公司、Matrigel 基质胶购自美国 BD 公司, MMP-9 及 MMP-2 ELISA 试剂盒均购自上海酶联生物科技有限公司, 逆转录试剂盒、实时定量 PCR 试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司, 一抗: 兔抗 β 联蛋白单克隆抗体购自美国 Abcam 公司, HRP 标记的山羊抗兔二抗、Alexa Fluor 647 标记山羊抗兔 IgG(H+L)(A0468) 均购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 MTT 实验检测 Rg3 对 SGC7901 细胞增殖的影响

取对数生长期 SGC7901 细胞, 消化后配制成密度为 1.5×10^5 /ml 的悬液, 以每孔 100 μ l 加入到 96 孔板中, 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱培养 24 h 后, 以每孔 10、20、40、80、160 mg/L 终质量浓度加入 Rg3, 每组设 6 个平行孔, 加入相同体积的溶媒作为空白对照。分别处理 24、48、72 h 后, 每孔加入 5 mg/ml MTT 溶液 20 μ l, 继续培养 4 h 后, 弃去上清, 每孔加入 150 μ l DMSO 溶解 MTT, 于 490 nm 波长处检测光密度 (D) 值, 计算细胞增殖抑制率。增殖抑制率 (%) = $[(D_{\text{空白组}} - D_{\text{实验组}}) / D_{\text{空白组}}] \times 100\%$ 。

1.3 实验分组

取对数生长期 SGC7901 细胞, 分组处理进行后续实验。BML-284 组: 加入 1 μ mol/L 的 BML-284 干预; XAV-939 组: 加入 15 nmol/L 的 XAV-939 干预; Rg3 组: 加入 40 mg/L 的 Rg3 干预; Rg3+BML-284 组: 加入 40 mg/L 的 Rg3 和 1 μ mol/L 的 BML-284 干预; 空白组: 加入相同体积的 DMSO。

1.4 Transwell 实验检测 Rg3 对 SGC7901 细胞迁移、侵袭的影响

将 Transwell 小室放入 24 孔板, 4 °C 预冷后, 上室加入 1:4 稀释的 Matrigel 基质胶, 待凝固后 (迁移实验不加 Matrigel 基质胶), 上室加入无血清培养基配制的细胞悬液 400 μ l, 下室加入 20% FBS 的培养基, 待细胞沉降后, 按照 1.3 节分组干预细胞, 每组设 6 个平行孔, 加入相同体积的溶媒作为空白对照, 处理 24 h 后, 取出小室, PBS 漂洗后 -20 °C 预冷甲醇固定 5 min, 用棉签轻轻拭去上室未迁移的细胞, 结晶紫染色 5 min, PBS 漂洗、拍照、计数穿膜细胞。

1.5 VM 形成实验

取各组对数生长期细胞, 消化后用无血清 H-DMEM 培养基制成 1.5×10^6 个/ml 密度的单细胞悬液, 以 100 μ l/孔加入底部事先用 Matrigel 胶 (胶: 培养基 = 2:1) 包埋的 96 孔板中, 随即按照 1.3 节分组干预细胞, 24 h 后, 拍照观察 VM 的形成情况。每孔选取 5 个视野进行管样结构计数, 以形成的完整封闭结构作为一个管样结构。

1.6 ELISA 实验检测 Rg3 对 SGC7901 细胞分泌 MMP-2、MMP-9 的影响

各组细胞处理 24 h 后, 收集无血清培养上清, 参照 ELISA 试剂盒说明书检测培养基中 MMP-9、MMP-2 的含量。

1.7 qPCR 检测 Rg3 对 SGC7901 细胞中 GSK-3 β 、Wnt2B mRNA 表达的影响

各组细胞处理 24 h, TRIzol 法提取总 mRNA, 用 DEPC 水溶解总 mRNA。然后按照逆转录试剂盒说明书操作, 依次经过去除基因组 DNA 反应、逆转录反应和实时荧光定量 PCR, 扩增程序为预变性: 95 °C、10 min; 扩增: 95 °C 5 s, 60 °C 15 s, 72 °C 30 s, 40 个循环。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因 GSK-3 β 、Wnt2B 的 mRNA 含量。引物序列见表 1。

1.8 WB 实验检测 Rg3 对 SGC7901 细胞中 β 联蛋白表达的影响

各组细胞处理 24 h 后, 加入 RIPA 裂解液, 置于冰上研碎至匀浆后, 4 °C 放置 30 min, 离心、取上清, BCA 试剂盒检测蛋白浓度后煮沸使蛋白变性, 10% SDS-PAGE 分离蛋白, 再经过转膜、封闭、4 °C 孵育一抗、室温孵育二抗、ECL 发光液显色、X 医用胶片显影、定影, 拍照并

采用 Image ProPlus 分析软件对条带光密度(D)值进行分析, 蛋白相对表达量= $D_{目的蛋白}/D_{内参}$ 。

表1 引物序列
Tab. 1 Sequences of primers

Gene	Sequence	Gene length (bp)
GSK-3β	F: CACCTCTGGCTACCATCCTTAT	119
	R: ATTATTGGTCTGTCCACGGTCT	
Wnt2B	F: GTGTCCTGGCTGGTTCCTTA	186
	R: AGCTGGTGCAAAGGAAAGAA	
GAPDH	F: AAGGCTGTGGGCAAGG	238
	R: TGGAGGAGTGGGTGTCG	

1.9 β联蛋白进核实验

各组细胞处理 24 h 后用 4% 多聚甲醛固定, PBS 洗涤, 在室温用含有 0.02% Triton、5% 脱脂牛奶的透膜液进行透膜封闭 30 min, PBS 洗涤, 4 °C 一抗孵育过夜, 洗涤, 室温孵育二抗 2 h, 洗涤, 荧光显微镜拍照观察 β 联蛋白进核情况。

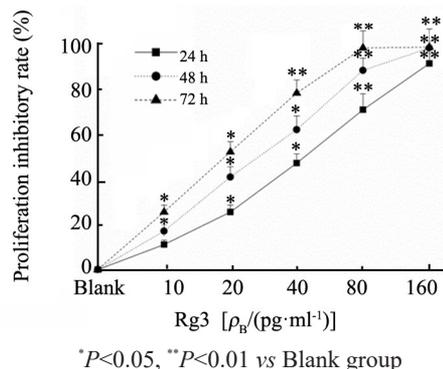
1.10 统计学处理

采用 SPSS21.0 统计软件分析, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 所有实验重复 3 次, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-t 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Rg3 抑制 SGC7901 细胞的增殖

在本实验浓度范围内, 相同时间内, Rg3 对 SGC7901 细胞增殖抑制具有浓度依赖性。相同浓度下, Rg3 对 SGC7901 细胞增殖抑制具有时间依赖性(图 1)。与空白组相比, 相同干预时间下的各实验组细胞增殖抑制率均显著升高($P < 0.05$)。24、48、72 h 下 Rg3 对 SGC7901 的 IC_{50} 分别为: 42.54、24.61、17.53 mg/L。



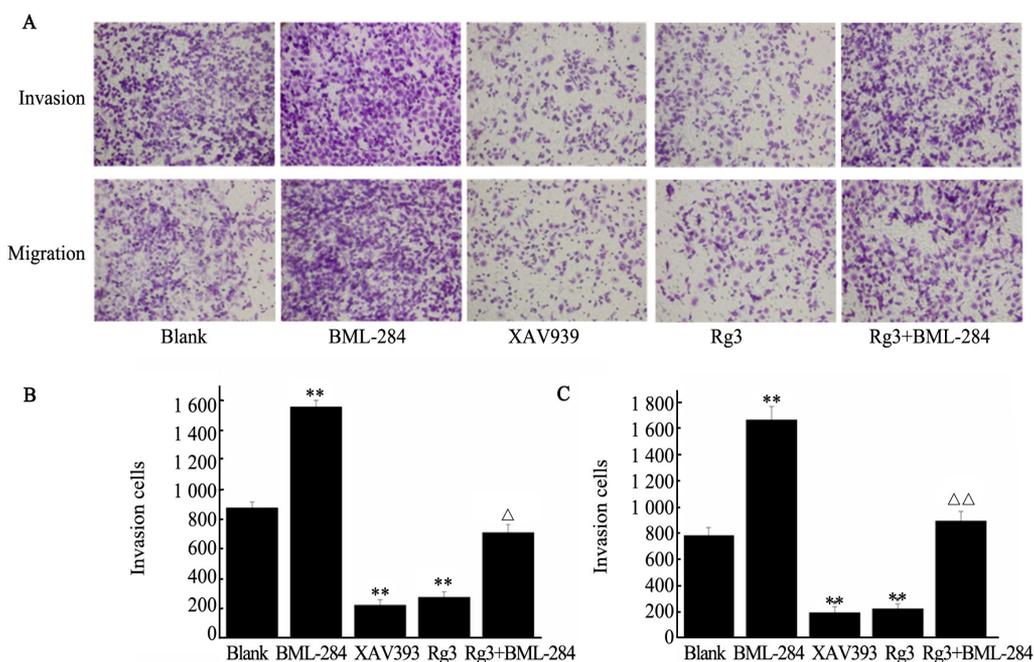
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Blank group

图1 Rg3 对 SGC7901 细胞的增殖抑制作用

Fig.1 Inhibitory effect of Rg3 on proliferation of SGC7901 cells

2.2 Rg3 抑制 SGC7901 细胞的侵袭和迁移

Transwell 实验结果(图 2)显示, 与空白组相比, BML-284 组侵袭、迁移细胞数显著增加($P < 0.05$), XAV-939 组和 Rg3 组侵袭、迁移细胞数显著减少($P < 0.05$); 与 Rg3 组相比, Rg3+BML-284 组侵袭、迁移细胞数显著增加($P < 0.05$), Rg3+BML-284 组与空白组之间侵袭、迁移细胞数无显著差异($P < 0.05$)。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Blank group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs Rg3 group

A: Invasion and migration image; B: Statistics of the invasive cells; C: Statistics of the migrated cells

图2 Rg3、BML-284 和 XAV939 对 SGC7901 细胞侵袭和迁移能力的影响($\times 200$)

Fig.2 Effects of Rg3, BML-284 and XAV939 on invasion and migration of SGC7901 cells ($\times 200$)

2.3 Rg3抑制SGC7901细胞VM形成

空白组和BML-284组细胞在Matrigel胶上均可形成良好的管样结构, XAV-939组和Rg3组细胞管样结构的形成被破坏, 与空白组相比, BML-284组管样结构数目显著增多[(34.67±2.18) vs (22.23±3.17)个,

$P<0.05$], XAV-939组和Rg3组[(10.78±1.12) vs (9.56±2.11)个]细胞管样结构数目显著减少($P<0.05$); 与Rg3组相比, Rg3+BML-284组[(32.17±3.56)个]细胞管样结构数目显著增加($P<0.05$)。见图3。

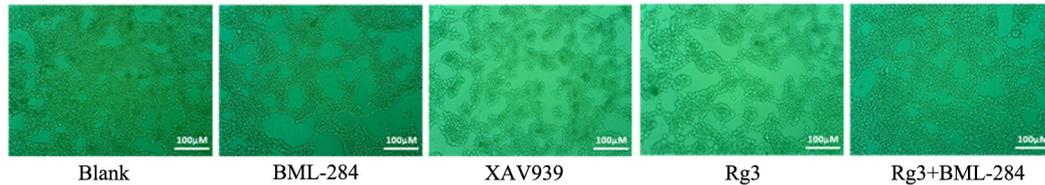


图3 Rg3、BML-284和XAV939对SGC7901细胞VM形成的影响($\times 100$)

Fig.3 Effects of Rg3, BML-284 and XAV939 on the formation of vasculogenic mimicry of SGC7901 cells($\times 100$)

2.3 SGC7901细胞分泌MMP-2、MMP-9的变化

ELISA检测结果(表2)显示, 与空白组相比, BML-284组细胞上清中MMP-2、MMP-9含量显著上升(均 $P<0.05$), XAV-939组和Rg3组细胞上清中MMP-2、MMP-9含量显著减少(均 $P<0.05$); 与Rg3组相比, Rg3+BML-284组细胞上清中MMP-2、MMP-9含量显著增加(均 $P<0.05$)。

mRNA含量显著下降, Wnt2B mRNA含量显著上升(均 $P<0.05$)。

表2 各组SGC7901细胞上清液中MMP-2、MMP-9含量变化 [$\rho_B/(\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1})$]

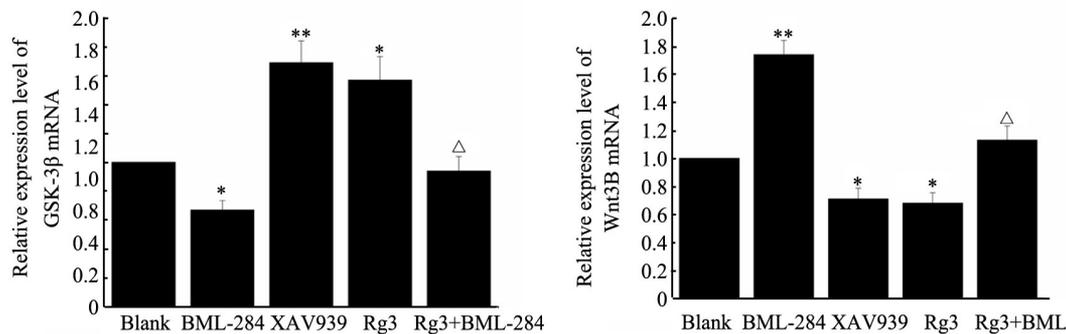
Tab. 2 Changes of MMP-2 and MMP-9 in the supernatant of SGC7901 cells in each group [$\rho_B/(\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1})$]

Group	MMP-2	MMP-9
Blank	34.31±6.87	60.73±7.47
BML-284	55.19±9.39*	95.76±10.98**
XAV939	19.96±6.37**	34.35±6.22**
Rg3	22.36±5.45*	41.47±5.55*
Rg3+BML-284	35.12±5.49 Δ	66.75±8.42 Δ

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Blank group; Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$ vs Rg3 group

2.5 Rg3影响SGC7901细胞GSK-3 β 、Wnt2B mRNA的表达

qPCR检测结果(图4)显示, 与空白组相比, BML-284组细胞中GSK-3 β mRNA含量显著下降($P<0.05$), Wnt2B mRNA含量显著上升($P<0.01$), XAV-939组和Rg3组细胞中GSK-3 β mRNA含量显著上升, Wnt2B mRNA含量显著下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与Rg3组相比, Rg3+BML-284组细胞GSK-3 β



* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Blank group; Δ $P<0.05$ vs Rg3 group

图4 Rg3、BML-284和XAV939对SGC7901细胞GSK-3 β 、Wnt mRNA表达的影响

Fig.4 Effects of Rg3, BML-284 and XAV939 on the expression of GSK-3 β and Wnt mRNA in SGC7901 cells

2.6 Rg3处理降低SGC7901细胞中 β 联蛋白的表达量

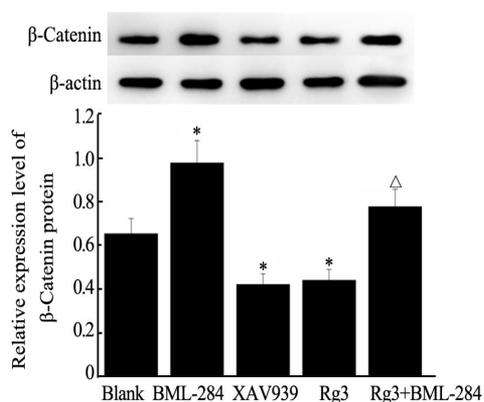
WB检测结果(图5)显示, 与空白组相比, BML-284组细胞中 β 联蛋白含量显著升高($P<0.05$), XAV-939组和Rg3组细胞中 β 联蛋白含量显著降低(均 $P<$

0.05); 与Rg3组相比, Rg3+BML-284组细胞中 β 联蛋白含量显著升高($P<0.05$)。

2.7 Rg3抑制SGC7901细胞中 β 联蛋白进核

如图6所示, 与空白组相比, BML-284组细胞中

β联蛋白进核量显著上升(2.67±0.21 vs 1.00±0.00, $P < 0.05$), XAV-939组和Rg3组(0.76±0.08、0.76±0.11)细胞中β联蛋白进核量显著下降($P < 0.05$);与Rg3组相比,Rg3+BML-284组(1.58±0.17)细胞中β联蛋白进核量显著上升($P < 0.05$)。



* $P < 0.05$ vs Blank group; [△] $P < 0.05$ vs Rg3 group

图5 Rg3、BML-284和XAV939对SGC7901细胞β联蛋白表达的影响

Fig.5 Effects of Rg3, BML-284 and XAV939 on the expression of β-catenin in SGC7901 cells

3 讨论

本研究发现Rg3对SGC7901细胞的增殖抑制作

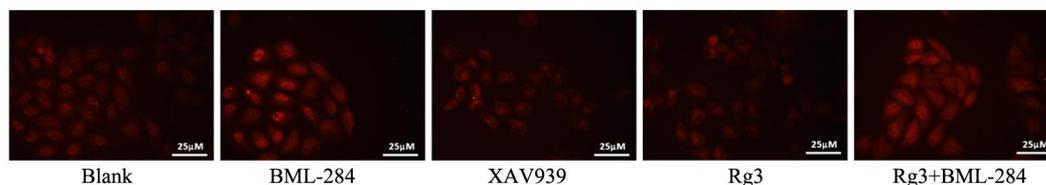


图6 Rg3、BML-284和XAV939对SGC7901细胞β联蛋白进核的影响(×400)

Fig.6 Effects of Rg3, BML-284 and XAV939 on the nuclear entry of β-catenin in SGC7901 cells

为在分子水平验证这种推测的真实性,本实验进一步检测了各组细胞Wnt/β联蛋白通路中各分子的变化,发现Rg3可抑制SGC7901细胞Wnt mRNA表达,降低β联蛋白进核量,促进GSK-3β mRNA表达和β联蛋白的磷酸化。然而在加入Rg3的同时加入Wnt/β联蛋白通路激活剂后在一定程度上逆转了由Rg3引起的该通路的抑制。Wnt/β联蛋白信号通路的调节关键在于β联蛋白的稳定,当β联蛋白水平低下时,Wnt通路关闭;反之,Wnt通路开启。而维持β联蛋白稳定的关键蛋白是GSK-3β,在没有Wnt信号刺激的情况下,细胞质内的GSK-3β能磷酸化β联蛋白氨基末端丝氨酸/苏氨酸位点,使β联蛋白泛素化降解,维持细胞内β联蛋白的低水平状态。在有Wnt信号刺激的情况下,由细胞分泌的Wnt蛋白触发

用具有剂量、时间依赖性。考虑到Rg3浓度过高可能诱导SGC7901细胞凋亡影响后续实验结果,浓度过小又效果不明显,因此本研究通过计算比较IC₅₀,最终选取24 h的Rg3 IC₅₀附近的40 mg/L作为后续研究的干预浓度。

在VM形成过程中,肿瘤细胞对胞外基质的降解和侵袭迁移是重要环节。MMPs在胞外基质的降解中发挥重要作用,能促进肿瘤侵袭转移的VM的演变、形成^[16-19]。近年来研究^[20-21]发现,Wnt/β联蛋白通路与多种肿瘤的侵袭迁移相关,该通路可影响肿瘤细胞外基质的降解、血管生成以及细胞迁移黏附,同时在多种肿瘤中该通路的激活促进VM的形成。本研究发现,激活Wnt/β联蛋白通路可促进SGC7901细胞侵袭迁移、VM的形成,导致该SGC7901细胞对MMP-2和MMP-9的分泌能力增加,而抑制Wnt/β联蛋白通路后,SGC7901细胞的侵袭迁移、VM形成以及MMP-2、MMP-9的分泌能力均被抑制,以上提示SGC7901细胞中Wnt/β联蛋白通路激活可促进细胞侵袭迁移以及VM的形成。进一步将Rg3作用于SGC7901细胞后,SGC7901细胞的侵袭迁移、VM形成以及MMP-2、MMP-9的分泌能力均被抑制,再加入Wnt/β联蛋白通路激动剂后,这种抑制作用被解除,以上初步提示Rg3可能通过抑制Wnt/β联蛋白通路抑制VM形成。

细胞内的信号转导,抑制了GSK-3β对β联蛋白的磷酸化,导致β联蛋白在细胞内积累,并转移到细胞核与转录因子(TCF)相结合,在其他因子的辅助下协同激活靶基因如VEGF、MMP等侵袭迁移相关因子的表达,促进VM形成^[22]。

通过以上在细胞水平和分子水平的综合探索发现SGC7901细胞中Wnt/β联蛋白通路的激活可促进VM的形成,而Rg3可通过抑制该通路阻止SGC7901细胞VM的形成。但考虑到信号通路的复杂性,Rg3是否还通过其他通路抑制胃癌VM的形成还需进一步研究。

[参考文献]

[1] LAHMIDANI N, EL YOUSF M, AQODAD N, et al. Update on gas-

- tric cancer epidemiology and risk factors[J]. *JCT*, 2018, 9(3): 242-254. DOI:10.4236/jct.2018.93021.
- [2] RACORDON D, VALDIVIA A, MINGO G, et al. Structural and functional identification of vasculogenic mimicry in vitro[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6985[2018-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5539303/>. DOI:10.1038/s41598-017-07622-w.
- [3] ZHANG J, QIAO L, LIANG N, et al. Vasculogenic mimicry and tumor metastasis[J/OL]. *J Buon*, 2016, 21(3): 533-541[2018-12-20]. <http://jbuon.com/pdfs/JBUON-21-3-1.pdf>.
- [4] 陈冠男, 余飞, 盛冠男, 等. 肿瘤血管生成拟态研究的希望与挑战[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(1): 138-141. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2017.01.038.
- [5] GUO Q J, YUAN Y, JIN Z C, et al. Association between tumor vasculogenic mimicry and the poor prognosis of gastric cancer in China: an updated systematic review and meta-analysis[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 2408645[2018-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5080470/>. DOI:10.1155/2016/2408645.
- [6] YAO L L, ZHANG D F, ZHAO X L, et al. Dickkopf-1-promoted vasculogenic mimicry in non-small cell lung cancer is associated with EMT and development of a cancer stem-like cell phenotype[J/OL]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(9): 1673-1685[2018-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4988283/>. DOI:10.1111/jcmm.12862.
- [7] GONG W C, SUN B C, ZHAO X L, et al. Nodal signaling promotes vasculogenic mimicry formation in breast cancer via the Smad2/3 pathway[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(43): 70152-70167[2018-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5342542/>. DOI:10.18632/oncotarget.12161.
- [8] QI L S, SONG W Z, LIU Z Y, et al. Wnt3a promotes the vasculogenic mimicry formation of colon cancer via wnt/ β -catenin signaling[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(8): 18564-18579. DOI: 10.3390/ijms160818564.
- [9] 汪丛丛, 庄静, 冯福彬, 等. 姜黄素抑制肺癌细胞血管拟态形成机制探讨[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2015, 22(4): 243-246. DOI: 10.16073/j.cnki.cjept.2015.04.001.
- [10] 黄月云, 夏婷, 赵成国, 等. 人参皂苷 Rh2 和 Rg3 抗肿瘤作用研究进展[J]. *实用中医药杂志*, 2016, 32(8): 846-847. DOI:10.3969/j.issn.1004-2814.2016.08.084.
- [11] KIM J W, JUNG S Y, KWON Y H, et al. Ginsenoside Rg3 attenuates tumor angiogenesis via inhibiting bioactivities of endothelial progenitor cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(7): 504-515. DOI: 10.4161/cbt.19599.
- [12] TANG M Y, WANG W B, CHENG L Y, et al. The inhibitory effects of 20(R)-ginsenoside Rg3 on the proliferation, angiogenesis, and collagen synthesis of hypertrophic scar derived fibroblasts in vitro[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2018, 21(3): 309-317. DOI: 10.22038/ijbms.2018.19451.5153.
- [13] ZHOU Y Y, ZHENG X, LU J J, et al. Ginsenoside 20(S)-rg3 inhibits the warburg effect via modulating DNMT3A/miR-532-3p/HK2 pathway in ovarian cancer cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(6): 2548-2559. DOI:10.1159/000488273.
- [14] 杨茂鹏, 王艳, 王晓红, 等. 人参皂苷 Rg3 对大肠癌细胞系 Lovo/5-Fu 侵袭性及耐药影响的相关研究[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2018, 52(1): 24-28.
- [15] LU M X, FEI Z H, ZHANG G L. Synergistic anticancer activity of 20(S)-Ginsenoside Rg3 and Sorafenib in hepatocellular carcinoma by modulating PTEN/Akt signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 1282-1288. DOI:10.1016/j.biopha.2017.11.006.
- [16] MA J L, HAN S X, ZHU Q, et al. Role of Twist in vasculogenic mimicry formation in hypoxic hepatocellular carcinoma cells in vitro[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 408(4): 686-691. DOI:10.1016/j.bbrc.2011.04.089.
- [17] 林俊豪, 冯思同, 栗泉杰, 等. 基质金属蛋白酶和肿瘤血管生成拟态的相关研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(3): 470-473. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2017.03.036.
- [18] 顾晓萌, 于涛. 恶性胃间质瘤的血管生成拟态与恶性程度的关系[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2009, 47(5): 117-119+130.
- [19] 朱磊, 薛英威. 胃癌血管生成拟态与胃癌分期及预后的研究[C]. 北京: 阳光长城肿瘤学术会议, 2013.
- [20] LI Y L, SUN B C, ZHAO X L, et al. MMP-2 and MMP-13 affect vasculogenic mimicry formation in large cell lung cancer[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(12): 3741-3751. DOI:10.1111/jcmm.13283.
- [21] 李国栋, 姚碧辉, 金文海, 等. Wnt/ β -catenin 的表达与肿瘤关系研究进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2018, (7): 30-31.
- [22] CLEVERS H, NUSSE R. Wnt/ β -catenin signaling and disease[J]. *Cell*, 2012, 149(6): 1192-1205. DOI:10.1016/j.cell.2012.05.012.

[收稿日期] 2018-12-27

[修回日期] 2019-04-03

[本文编辑] 黄静怡