

• 论著 •

人参皂甙 Rg3 对正常和缺氧条件下人视网膜血管内皮细胞的作用

曹亮 宋愈 吴莹 孙志敏 黄黎黎

【摘要】 目的 观察正常和缺氧条件下人参皂甙 Rg3 对人视网膜血管内皮细胞(HRCEC)增生、迁徙和管腔形成的影响。**方法** 在正常条件的培养基中,分别加入 0.0、0.1、0.5 mmol/L 的人参皂甙 Rg3,依序分为 A、B、C 3 个组;在 150 μ mol/L 氯化钴缺氧条件的培养基中,分别加入 0.0、0.1、0.5 mmol/L 的人参皂甙 Rg3,依序分为 D、E、F 3 个组。在培养后 24、48、72 h 用噻唑蓝比色法检测 HRCEC 的增生;在 24 h,用 Transwell 小室检测细胞迁徙,用基质胶检测细胞管腔形成,实时荧光定量逆转录-酶链聚合反应和蛋白质免疫印迹法检测细胞中血管内皮生长因子(VEGF)mRNA 和蛋白质表达。**结果** 正常或缺氧条件培养基中,均可观察到人参皂甙 Rg3 对 HRCEC 增生的抑制作用,并且这种抑制作用呈浓度与时间依赖性($F_{\text{正常组浓度}} = 30.331, F_{\text{缺氧组浓度}} = 33.402, F_{\text{正常组时间}} = 85.462, F_{\text{缺氧组时间}} = 136.045, P \text{ 均} < 0.05$)。Transwell 小室结果显示,A、B、C、D、E、F 组 HRCEC 细胞的移行细胞数分别为 (103.33 ± 3.54) 、 (92.25 ± 3.68) 、 (78.64 ± 4.66) 、 (125.76 ± 3.11) 、 (90.27 ± 3.55) 、 (77.81 ± 5.01) 个。正常和缺氧条件下各组间 HRCEC 细胞的移行细胞数比较,差异有统计学意义($F_{\text{正常组组间}} = 28.801, F_{\text{缺氧组组间}} = 117.594, P \text{ 均} < 0.05$)。基质胶检测结果显示,A、B、C、D、E、F 组 HRCEC 细胞的完整管腔形成数分别为 (24.3 ± 2.2) 、 (15.7 ± 1.7) 、 (10.1 ± 2.3) 、 (26.2 ± 1.9) 、 (15.1 ± 2.6) 、 (8.6 ± 1.9) 个。正常和缺氧条件下各组间 HRCEC 细胞的完整管腔形成数比较,差异有统计学意义($F_{\text{正常组组间}} = 35.364, F_{\text{缺氧组组间}} = 50.989, P \text{ 均} < 0.05$)。实时荧光定量逆转录-酶链聚合反应检测结果显示,A、B、C、D、E、F 组 HRCEC 细胞的 VEGF mRNA 相对表达量分别为 1.00 ± 0.06 、 0.79 ± 0.06 、 0.68 ± 0.02 、 3.88 ± 0.12 、 2.83 ± 0.09 、 1.15 ± 0.05 。正常和缺氧条件下各组间 HRCEC 细胞的 VEGF mRNA 相对表达量比较,差异有统计学意义($F_{\text{正常组组间}} = 31.303, F_{\text{缺氧组组间}} = 682.668, P \text{ 均} < 0.05$)。蛋白质免疫印迹法检测结果显示,A、B、C、D、E、F 组 HRCEC 细胞的 VEGF 蛋白质相对表达量分别为 0.62 ± 0.03 、 0.41 ± 0.02 、 0.32 ± 0.02 、 0.91 ± 0.03 、 0.82 ± 0.03 、 0.71 ± 0.02 。正常和缺氧条件下各组间 HRCEC 细胞的 VEGF 蛋白质相对表达量比较,差异有统计学意义($F_{\text{正常组组间}} = 125.471, F_{\text{缺氧组组间}} = 41.045, P \text{ 均} < 0.05$)。**结论** 人参皂甙 Rg3 可通过抑制 HRCEC 细胞增生、迁徙和管腔形成来抑制新生血管的形成,其机制可能通过抑制 VEGF 的表达来实现。

【关键词】 内皮细胞/病理生理学; 人参皂甙/拮抗剂和抑制剂; 血管内皮生长因子类

中图分类号:R961

The effect of ginsenoside Rg3 on human retinal capillary endothelial cells cultured in normal and hypoxia condition CAO Liang, SONG Yu, WU Ying, et al. Department of Ophthalmology, The First People's Hospital of Nantong, Nantong 226001, China

Corresponding author: SONG Yu, Email: songyudoc@yahoo.cn

【Abstract】 Objective To observe the effect of ginsenoside Rg3 on the proliferation, migration, and tube formation of human retinal capillary endothelial cell (HRCEC) cultured in normal and hypoxia condition. **Methods** HRCEC was cultured in normal condition and treated with 0.0 mmol/L (group A), 0.1 mmol/L (group B) and 0.5 mmol/L (group C) ginsenoside Rg3. HRCEC was also cultured in hypoxia condition and treated with 0.0 mmol/L (group D), 0.1 mmol/L (group E) and 0.5 mmol/L (group F) ginsenoside Rg3. The effects of ginsenoside Rg3 on HRCEC proliferation were measured by methylthiazolotetrazolium assay in 24, 48 and 72 hours after culture. In 24 hours after culture, the effect of cell migration was evaluated by transwell chamber; the effect of tube formation was evaluated by Matrigel; the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) protein and mRNA were detected by Western blot and real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. **Results** Ginsenoside Rg3

DOI:10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2013.02.015

作者单位:226001 江苏省南通市第一人民医院眼科

通信作者:宋愈,Email:songyudoc@yahoo.cn

could inhibit proliferation of HRCEC, depending on the concentration ($F=30.331$ and 33.402 in normal and hypoxia condition, respectively; $P<0.05$) and time ($F=85.462$ and 136.045 in normal and hypoxia condition, respectively; $P<0.05$). The number of cell migration was 103.33 ± 3.54 , 92.25 ± 3.68 , 78.64 ± 4.66 in group A, B and C, the difference among three groups was statistically significant ($F=28.801$, $P<0.05$). The number of cell migration was 125.76 ± 3.11 , 90.27 ± 3.55 , 77.81 ± 5.01 in group D, E and F, the difference among three groups was statistically significant ($F=117.594$, $P<0.05$). The number of tube formed in Matrigel was 24.3 ± 2.2 , 15.7 ± 1.7 , 10.1 ± 2.3 in group A, B and C, the difference among three groups was statistically significant ($F=35.364$, $P<0.05$). The number of tube formed in Matrigel was 26.2 ± 1.9 , 15.1 ± 2.6 , 8.6 ± 1.9 in group D, E and F, the difference among three groups was statistically significant ($F=50.989$, $P<0.05$). The expression of VEGF mRNA was 1.00 ± 0.06 , 0.79 ± 0.06 , 0.68 ± 0.02 in group A, B and C, the difference among three groups was statistically significant ($F=31.303$, $P<0.05$). The expression of VEGF mRNA was 3.88 ± 0.12 , 2.83 ± 0.09 , 1.15 ± 0.05 in group D, E and F, the difference among three groups was statistically significant ($F=682.668$, $P<0.05$). The expression of VEGF protein was 0.62 ± 0.03 , 0.41 ± 0.02 , 0.32 ± 0.02 in group A, B and C, the difference among three groups was statistically significant ($F=125.471$, $P<0.05$). The expression of VEGF protein was 0.91 ± 0.03 , 0.82 ± 0.03 , 0.71 ± 0.02 in group D, E and F, the difference among three groups was statistically significant ($F=41.045$, $P<0.05$). **Conclusion** Ginsenoside Rg3 can inhibit the proliferation, migration, and tube formation of HRCEC through the inhibition of VEGF expression.

[Key words] Endothelial cells//pathophysiology; Ginsenoside/antagonists & inhibitors; Vascular endothelial growth factors

人参皂甙 Rg3 是从中药人参中提取的有效单体成分,在临床上主要用于肿瘤的治疗^[1]。近年来,人参皂甙 Rg3 的抗新生血管活性逐渐受到关注^[2],但在眼科的应用价值尚不明确。为了观察人参皂甙 Rg3 在新生血管性视网膜病变中的作用,我们将体外培养的人视网膜血管内皮细胞(HRCEC)置于正常和缺氧条件下,观察人参皂甙 Rg3 对其增生、迁徙、管腔形成和对血管内皮生长因子(VEGF)表达的影响,以期为人参皂甙 Rg3 应用于视网膜新生血管性疾病提供实验研究依据。现将结果报道如下。

1 材料和方法

HRCEC 细胞购自江苏省南通市百奥迈科生物有限公司,在含 10% 小牛血清的 Dulbecco 改良 Eagle 培养基(DMEM)中培养。其内加入 100 ku/L 青霉素及 0.1 g/L 链霉素,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱内培养(德国 Heraeus 公司),2.5 g/L 胰蛋白酶消化传代。参照文献[3],用 DMEM 培养液溶解氯化钴(CoCl₂)至 150 μmol/L 制作细胞缺氧模型。

人参皂甙 Rg3 成品药物参一胶囊(吉林亚泰制药股份有限公司)为白色粉剂。将粉剂用二甲亚砜(DMSO)助溶,然后用 DMEM 培养液稀释成 0.1、0.5 mmol/L 2 个浓度,−20℃ 保存备用。

将 HRCEC 细胞分为 6 组。分别为正常条件下培养的正常对照组(A 组);在 A 组基础上,培养基中加入 0.1 mmol/L 的人参皂甙 Rg3 组(B 组);在 A 组基础上,培养基中加入 0.5 mmol/L 的人参皂甙 Rg3 组(C 组);在 A 组基础上,培养基中加入 150 mmol/L CoCl₂ 的缺氧对照组(D 组);在 D 组基础上,培养基中

加入 0.1 mmol/L 的人参皂甙 Rg3 组(E 组);在 D 组基础上,培养基中加入 0.5 mmol/L 的人参皂甙 Rg3 组(F 组)。

采用噻唑蓝(MTT;美国 Sigma 公司)比色法检测细胞增生^[4]。取对数生长期 HRCEC 细胞用于实验,弃上清液,2.5 g/L 胰蛋白酶消化,加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液,制成细胞浓度为 5×10^4 个/ml 的细胞悬液。取 200 μl 接种于 96 孔板,孵育 24 h 后弃原培养液,按上述分组分别加入各自所需培养液。培养 24、48、72 h 后,每孔加入 5 g/L MTT 20 μl,孵育 4 h,弃培养基,用滤纸吸干水分,加入 DMSO 150 μl,振荡 10 min,按操作说明用自动酶标仪(德国 eppendorf 公司)测 570 nm 波长吸光度[A,旧称光密度(OD)]值。相同条件下重复实验 3 次。抑制率(%)=[(对照组平均 A 值−药物添加组平均 A 值)/对照组平均 A 值]×100%。在正常和缺氧条件下,分别以 A、D 组作为对照组。

采用 Transwell 小室(8.0 μm 聚碳酸酯膜;美国 Corning 公司)检测细胞移行^[5]。预先加 DMEM 培养液到培养孔和 Transwell 小室内孵育过夜,弃液后加含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液 600 μl 到培养孔中,置 Transwell 小室于培养孔中,接种 HRCEC 细胞于上室,每孔细胞数约为 5×10^5 个。每孔上室按不同分组加入相应的无血清培养基 100 μl。培养 24 h 取出小室,用棉签轻轻插去小室内聚碳酸酯膜上表面的细胞。4% 多聚甲醛固定小室 20 min,磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 次。小心将聚碳酸酯膜自上室基底用刀片切割下来,苏木素染色 1 min,清水漂洗。二甲苯透明 2~3 min。中性树脂封片。附着于聚碳酸酯膜下表面的

细胞在显微镜下随机取 5 个放大 100 倍的视野照相。所得照片应用 IPP 6.0 图像分析软件对 Transwell 移行细胞进行计数,取平均值。每组设 3 个复孔,重复实验 3 次。

应用基质胶(Matrigel;美国 BD 公司)检测内皮细胞管腔形成^[6]。按 Matrigel 说明书操作,4℃融化 Matrigel 过夜。取 96 孔板,每孔内缓慢加入 100 μl 液态 Matrigel,此操作在冰上进行。消化 HRCEC 细胞,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基稀释至 2×10^5 个/ml,每孔均加入细胞悬液 50 μl,按不同分组加入相应的无血清培养基 50 μl。孵育 24 h 后在相差显微镜下观察,随机取 5 个放大 200 倍的视野照相,对形成的完整管腔计数,取平均值。每组设 3 个复孔,重复实验 3 次。

采用实时荧光定量逆转录(RT)-聚合酶链反应(PCR)法检测细胞 VEGF mRNA 表达,蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测细胞 VEGF 蛋白质表达^[7]。应用实时荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司)行 RT-PCR。将 HRCEC 细胞按 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个/ml 密度接种于培养皿,每皿加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,培养贴壁,换无血清培养基培养 4 h。按不同分组加入相应培养基培养 24 h。按说明书,Trizol 抽提细胞总 RNA。紫外分光光度计(德国 eppendorf 公司)测 260 nm 波长 A 值,计算 RNA 含量。按一步法 RT 反应试剂盒(美国 invitrogen 公司)说明书操作。VEGF 上游引物 5'-GCAGAATCA TCACGAAGTGG-3',下游引物 5'-GCATGGTGAT GTTGGACTCC-3',产物长度 212 碱基对(bp);管家基因 U6 上游引物 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3',产物长度 94 bp。RT-PCR 总反应体系为 25 μl,包括 RNA 5 μl,2 倍 Master Mix(Taq 酶、溴酚蓝、loading buffer 预混液) 12.5 μl,50 倍 SYBR Green I 核苷酸胶体染料 0.5 μl,10 μmol/L 的上下游引物各 0.5 μl,加焦碳酸二乙酯处理水至 25 μl。具体反应条件参照说明书,扩增 45 次。记录荧光强度达阈值时的循环数(Ct),循环结束后进行产物的熔解曲线测定。每个样品的 VEGF mRNA 相对于 U6 mRNA 的表达水平根据 $2^{-\Delta Ct}$ 计算,其中, $\Delta Ct = Ct(VEGF) - Ct(U6)$ 。药物添加组的 VEGF mRNA 相对于对照组的 VEGF mRNA 的表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析 VEGF mRNA 相对含量,其中, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{药物添加组}) - \Delta Ct(\text{对照组})$ 。按总蛋白抽提试剂盒说明书抽提细胞总蛋白,按二喹啉甲酸蛋白质定量试剂盒说明书测定样品蛋白质

浓度。行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转二氟化树脂膜,5% 牛血清白蛋白封闭,VEGF 一抗、二抗分别与膜孵育,显色。化学发光法检测,扫描图片,Image J 分析软件测定条带灰度值。行半定量分析,计算目的蛋白灰度值与内参照 β 肌动蛋白(β-actin)灰度值的比值。

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。各组实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间均数的比较用单因素或双因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

MTT 比色法结果显示,各组间 A 值比较,差异有统计学意义($F_{\text{正常组浓度}} = 30.331, F_{\text{缺氧组浓度}} = 33.402, F_{\text{正常组时间}} = 85.462, F_{\text{缺氧组时间}} = 136.045, P$ 均 < 0.05)。正常或缺氧条件培养基中,均可观察到人参皂甙 Rg3 对 HRCEC 细胞增生的抑制作用,抑制作用呈浓度与时间依赖性(表 1,2)。

表 1 人参皂甙 Rg3 对正常和缺氧条件下 HRCEC 细胞增生的影响

组别	检测次数	时间(h)		
		24	48	72
A 组	3	0.208±0.009	0.492±0.012	0.762±0.017
B 组	3	0.189±0.005	0.403±0.014	0.552±0.018
C 组	3	0.144±0.007	0.265±0.011	0.371±0.010
D 组	3	0.180±0.006	0.408±0.016	0.549±0.009
E 组	3	0.167±0.004	0.357±0.009	0.465±0.009
F 组	3	0.139±0.004	0.264±0.007	0.316±0.004

表 2 人参皂甙 Rg3 对正常和缺氧条件下 HRCEC 细胞的增生抑制率

组别	检测次数	时间(h)		
		24	48	72
A 组	3	—	—	—
B 组	3	9.3%	18.1%	27.6%
C 组	3	30.7%	46.1%	51.3%
D 组	3	—	—	—
E 组	3	7.5%	12.5%	15.3%
F 组	3	23.1%	35.4%	42.5%

Transwell 小室结果显示,A、B、C、D、E、F 组 HRCEC 细胞的移行细胞数分别为(103.33±3.54)、(92.25±3.68)、(78.64±4.66)、(125.76±3.11)、(90.27±3.55)、(77.81±5.01)个(图 1)。各组间移行细胞数比较,差异有统计学意义($F_{\text{正常组组间}} = 28.801, F_{\text{缺氧组组间}} = 117.594, P$ 均 < 0.05)。正常或缺氧条件培养基中,随着添加人参皂甙 Rg3 浓度的增加,HRCEC 细胞的移行细胞数逐渐减少。

Matrigel 实验结果显示, A、B、C、D、E、F 组 HRCEC 细胞的完整管腔形成数分别为(24.3±2.2)、(15.7±1.7)、(10.1±2.3)、(26.2±1.9)、(15.1±2.6)、(8.6±1.9)个(图 2)。各组间 HRCEC 细胞的完整管腔形成数比较, 差异有统计学意义($F_{\text{正常组组间}}=35.364, F_{\text{缺氧组组间}}=50.989, P \text{ 均} < 0.05$)。正常或缺氧条件培养基中, 随着添加人参皂甙 Rg3 浓度的增加, HRCEC 细胞形成的管腔相应减少。

实时荧光定量 RT-PCR 检测结果显示, A、B、C、D、E、F 组 HRCEC 细胞的 VEGF mRNA 相对表达量分别为 1.00±0.06、0.79±0.06、0.68±0.02、3.88±0.12、2.83±0.09、1.15±0.05(图 3)。各组间 VEGF mRNA 表达比较, 差异有统计学意义($F_{\text{正常组组间}}=$

31.303, $F_{\text{缺氧组组间}}=682.668, P \text{ 均} < 0.05$)。正常或缺氧条件培养基中, 随着添加人参皂甙 Rg3 浓度的增加, HRCEC 细胞的 VEGF mRNA 均呈下降趋势, 呈浓度依赖性。

Western blot 检测结果显示, A、B、C、D、E、F 组 HRCEC 细胞的 VEGF 蛋白质相对表达量分别为 0.62±0.03、0.41±0.02、0.32±0.02、0.91±0.03、0.82±0.03、0.71±0.02(图 4)。各组间 VEGF 蛋白质表达比较, 差异有统计学意义($F_{\text{正常组组间}}=125.471, F_{\text{缺氧组组间}}=41.045, P \text{ 均} < 0.05$)。正常或缺氧条件培养基中, 随着添加人参皂甙 Rg3 浓度的增加, HRCEC 细胞的 VEGF 蛋白质表达均呈下降趋势, 呈浓度依赖性。

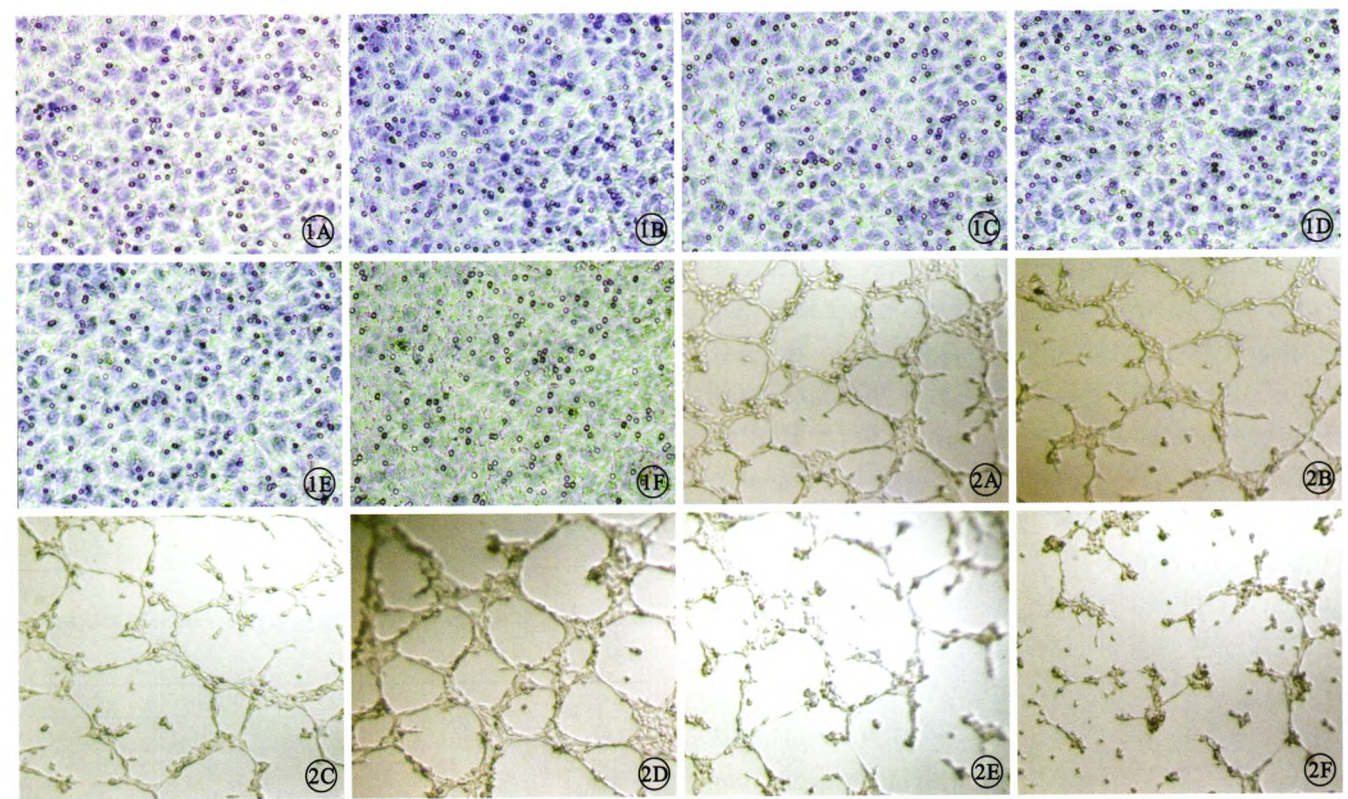


图 1 人参皂甙 Rg3 对正常和缺氧条件下 HRCEC 细胞移行影响的显微镜像。1A. A 组; 1B. B 组; 1C. C 组; 1D. D 组; 1E. E 组; 1F. F 组。正常或缺氧条件培养基中, 随着添加人参皂甙 Rg3 浓度的增加, HRCEC 细胞的移行细胞数逐渐减少 苏木素 ×100 图 2 人参皂甙 Rg3 对正常和缺氧条件下 HRCEC 细胞管腔形成影响的相差显微镜像。2A. A 组; 2B. B 组; 2C. C 组; 2D. D 组; 2E. E 组; 2F. F 组。正常或缺氧条件培养基中, 随着添加人参皂甙 Rg3 浓度的增加, HRCEC 细胞形成的管腔相应减少 ×200

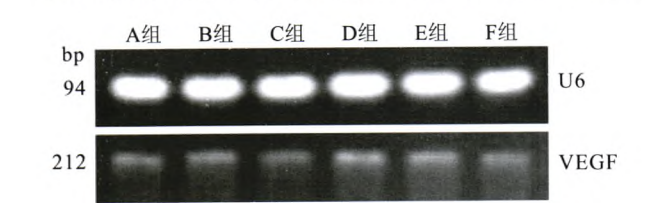


图 3 人参皂甙 Rg3 对正常和缺氧条件下 HRCEC 细胞 VEGF mRNA 表达的 RT-PCR 检测像。正常或缺氧条件培养基中, 随着添加人参皂甙 Rg3 浓度的增加, HRCEC 细胞管家基因 U6 各组条带均匀一致, 但 VEGF 各条带亮度逐渐减弱

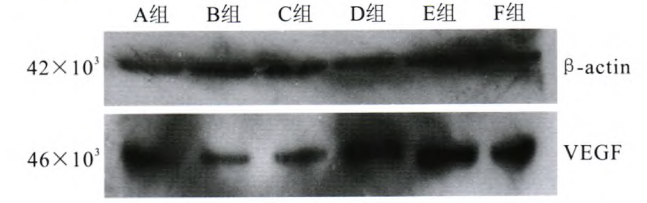


图 4 人参皂甙 Rg3 对正常和缺氧条件下 HRCEC 细胞 VEGF 蛋白质表达的 Western blot 检测像。正常或缺氧条件培养基中, 随着添加人参皂甙 Rg3 浓度的增加, HRCEC 细胞内参照 β-actin 各组条带均匀一致, 但 VEGF 各条带密度逐渐减弱

3 讨论

新生血管性视网膜病变所共有的病理生理过程为局部组织缺血缺氧致新生血管的发生,其中,最关键的因子就是 VEGF^[8]。人参皂甙 Rg3 是从人参中提取的有效单体,以往主要用于肿瘤新生血管的研究^[9]。在本研究中,我们利用人参皂甙 Rg3,尝试将其用于新生血管性视网膜病变。由于新生血管性视网膜病变的主体为 HRCEC,因此,本实验利用体外培养的 HRCEC,将其置于正常和缺氧条件中,缺氧条件利用 CoCl₂ 化学缺氧环境来模拟^[3]。参照 Shinkai 等^[10]的研究,设立了 0.1、0.5 mmol/L 2 个干预浓度。

王吉等^[11]发现人参皂甙 Rg3 能抑制胃癌细胞条件培养液诱导的血管内皮细胞增生,其机制可能是通过下调增生期血管内皮细胞相关因子受体的表达,使血管内皮细胞对肿瘤细胞分泌的生长因子的敏感度降低,从而影响血管内皮细胞的增生。我们的研究结果表明,正常或缺氧条件培养基中,均可观察到人参皂甙 Rg3 对 HRCEC 细胞增生的抑制作用,这种抑制作用呈浓度与时间依赖性。

Shinkai 等^[10]通过体外抗浸润试验表明,人参皂甙 Rg3 可以明显抑制小鼠肝癌细胞、黑色素瘤细胞、人小细胞肺癌和人胰腺癌细胞的单层浸润,推测人参皂甙 Rg3 还可以通过抑制内皮细胞的迁徙来抑制新生血管的生成。我们应用 Transwell 小室观察人参皂甙 Rg3 对 HRCEC 细胞移行的影响,结果表明,正常或缺氧条件培养基中,随着添加人参皂甙 Rg3 浓度的增加,移行细胞数均逐渐减少。

高勇等^[12]运用鸡胚绒毛尿囊膜方法观察了人参皂甙 Rg3 对体内新生血管模型的影响,结果发现人参皂甙 Rg3 可以对体内新生血管模型起到抑制作用。我们应用 Matrigel 实验观察人参皂甙 Rg3 对 HRCEC 细胞形成管腔的影响,结果表明,正常或缺氧条件培养基中,随着添加人参皂甙 Rg3 浓度的增加,HRCEC 细胞形成的管腔相应减少。

以上结果均表明,人参皂甙 Rg3 可以通过抑制 HRCEC 细胞增生,阻止细胞迁徙,抑制细胞成管,最终达到控制新生血管生成的目的。我们进一步研究了人参皂甙 Rg3 对 HRCEC 细胞 VEGF 的表达情况,结果表明,添加人参皂甙 Rg3 之后,正常或缺氧条件培养下,HRCEC 细胞 VEGF mRNA 和蛋白质均呈下降趋势,且呈浓度依赖性。一般认为,缺氧条件诱导低氧

诱导因子 1(HIF-1)的表达,而 HIF-1 诱导 VEGF 的表达^[13]。但在我们的研究中,不管正常条件还是缺氧条件,添加人参皂甙 Rg3 后,HRCEC 细胞 VEGF 的表达均下调。这提示,人参皂甙 Rg3 可以通过抑制内皮细胞表达 VEGF 来抑制内皮细胞参与新生血管的形成,但其机制与 HIF-1-VEGF 的信号传导通路可能不相关,而是直接拮抗 VEGF 的作用。

新生血管的形成机制是复杂的,限于时间及经费,我们的研究仅设立了 2 个干预浓度,观察指标和观察点也比较少。因此,人参皂甙 Rg3 对于 HRCEC 细胞周期的影响,对于细胞凋亡的影响,对于参与血管新生的其他细胞的影响,以及对其他的促血管新生因子和血管新生抑制因子的影响尚待进一步研究。

志谢 江苏省人民医院眼科刘庆淮教授在本文的写作中提供了大量帮助,特此感谢

4 参考文献

- [1] 朴丽花,蔡英兰,张默函,等. 人参皂甙 Rg3 在体外对肝癌细胞生长和凋亡的影响. 中国临床药理学杂志,2012,28:659-661.
- [2] 王鸿彪,林英城,曾德,等. 人参皂甙 Rg3 体外抗鼻咽癌 HNE-1 细胞管道形成的作用. 中华肿瘤杂志,2010,32:739-742.
- [3] Hu J, Song X, He YQ, et al. Heparanase and vascular endothelial growth factor expression is increased in hypoxia-induced retinal neovascularization. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012,53:6810-6817.
- [4] Ou Y, Liao G, Yuan Z, et al. Protective effect of recombinant hirudin variant III against galactose-mediated rat lens epithelial cell damage. Curr Eye Res,2012,37:187-194.
- [5] Asnaghi L, Handa JT, Merbs SL, et al. A role for Jag2 in promoting uveal melanoma dissemination and growth. Invest Ophthalmol Vis Sci,2013,54:295-306.
- [6] Jin L, Feng T, Shih HP, et al. Colony-forming cells in the adult mouse pancreas are expandable in Matrigel and form endocrine/acinar colonies in laminin hydrogel. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013,110:3907-3912.
- [7] Zhu Z, Zhu Z, Pang Z, et al. Short hairpin RNA targeting FOXQ1 inhibits invasion and metastasis via the reversal of epithelial-mesenchymal transition in bladder cancer. Int J Oncol, 2013,42:1271-1278.
- [8] Miller JW, Le Couter J, Strauss EC, et al. Vascular endothelial growth factor a in intraocular vascular disease. Ophthalmology, 2013,120:106-114.
- [9] 李兆艾,智明春,李小丽,等. 人参皂甙与孕三烯酮对大鼠子宫内膜异位症病灶作用的对照研究. 中华妇产科杂志,2007,42:417-418.
- [10] Shinkai K, Akedo H, Mukai M, et al. Inhibition of in vitro tumor cell invasion by ginsenoside Rg3. Jpn J Cancer Res,1996, 87:357-362.
- [11] 王吉,史桂英,袁耀宗,等. 人参皂甙 Rg3 在体外对胃癌细胞生长和凋亡的影响. 上海交通大学学报(医学版),2009,29:1336-1340.
- [12] 高勇,王杰军,许青,等. 人参皂甙 Rg3 抑制肿瘤新生血管形成的研究. 第二军医大学学报,2001,22:40-42.
- [13] 张景,尚徐亮,张伟. 缺氧诱导因子-1 α 抑制剂对眼底新生血管的干预作用. 国际眼科纵览,2011,35:49-53.

(收稿日期:2012-10-09)

(本文编辑:张世雯、唐健)