

人参皂苷、人参多糖及两者联用抗乳腺癌的作用机制研究

郑艳艳¹, 傅月朦¹, 郭晶晶¹, 陈丹青², 李跃雄², 陈军力^{2*}, 王 源^{1,3*}
(1. 上海中医药大学创新中药研究院, 上海 201203; 2. 上海上药神象健康药业有限公司, 上海 200336; 3. 上海中医药大学中药现代制剂技术教育部工程研究中心, 上海 201203)

摘要: **目的** 探讨单用人参皂苷或人参多糖及两者联用对乳腺癌的抑制作用。**方法** 筛选 4T1、MDA-MB-231、MCF-7 乳腺癌细胞活性, CCK-8、细胞克隆、细胞划痕、Transwell 小室迁移实验评价人参皂苷、人参多糖及两者联用对 4T1 细胞增殖和迁移的影响。BALB/c 雌性小鼠原位皮下接种 4T1 细胞, 建立乳腺癌模型, 每天灌胃给予人参皂苷 (800 mg/kg)、人参多糖 (800 mg/kg) 及两者联合 (800 mg/kg 皂苷+800 mg/kg 多糖), 持续 3 周。HE 染色观察肺组织病理学变化, 免疫组化法检测肿瘤组织 N-cadherin、E-cadherin、Vimentin、CD4、CD8、TNF- α 、IFN- γ 表达, Western blot 法检测肿瘤组织 EMT 相关蛋白表达。收集小鼠粪便, 利用 16S rRNA 测序和气相色谱法分析肠道微生物、短链脂肪酸 (乙酸、丙酸、丁酸) 变化。体外细胞实验验证短链脂肪酸是否具有抑制乳腺癌细胞生长、迁移的作用。**结果** 100 μ g/mL 人参皂苷可抑制 4T1 乳腺癌细胞增殖和迁移 ($P<0.01$), 而人参多糖剂量达到 800 μ g/mL 才具有一定的抑制作用, 并且两者联用在体外并不能产生更强的抑制效果。在小鼠体内, 人参皂苷、人参多糖及两者联用均可抑制肿瘤的生长, 而且两者联用抑瘤率最高。与模型组比较, 给药组小鼠体质量和瘤体体积增长减缓 ($P<0.01$), 肿瘤质量减少 ($P<0.01$), 肿瘤肺转移情况得到改善, 肿瘤组织 N-cadherin、Vimentin、Smad2/3、Snail 蛋白表达和 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 比值降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), E-cadherin、CD4、CD8、TNF- α 、IFN- γ 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 以皂苷联合多糖组更显著。人参多糖可改善荷瘤小鼠菌群的结构失调, 升高粪便中产短链脂肪酸菌属相对丰度, 包括 *Muribaculaceae*、*Parabacteroides* 等。在灌胃多糖小鼠的粪便中, 以丁酸为代表的短链脂肪酸水平升高 ($P<0.01$)。1~2 mmol/L 丁酸盐可抑制 4T1 乳腺癌细胞的增殖、迁移及 EMT 过程 ($P<0.01$)。**结论** 人参皂苷在体内外均可抑制乳腺癌的生长和转移, 其机制与下调 Smad2/3/Snail、PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达, 进而抑制上皮间充质转化 (EMT) 过程有关。人参多糖体外抗肿瘤活性较低, 但在体内可观察到较强的抑癌效果, 可能与其上调 *Muribaculaceae* 和 *Parabacteroides* 相对丰度、升高丁酸水平、增强免疫功能有关。当皂苷和多糖联用时抑瘤作用增强, 可能与两者通过不同作用途径共同抑制乳腺癌的生长和转移有关。

关键词: 人参皂苷; 人参多糖; 乳腺癌; 上皮间充质转化 (EMT); 短链脂肪酸; PI3K/Akt 信号通路; Smad2/3/Snail 信号通路; 肠道菌群

中图分类号: R285.5 文献标志码: B 文章编号: 1001-1528(2025)10-3422-08
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.10.038

乳腺癌是全世界范围内女性最常见的恶性肿瘤, 约 90% 的相关死亡都是由转移引起的^[1]。上皮间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是乳腺癌启动转移的关键步骤^[2], 其特征是上皮标志物 E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 表达降低, 间充质标志物 N-钙黏蛋白 (N-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin) 表达升高^[3]。此外, Smad2/3/Snail、PI3K/Akt 信号通路的异常激活往往会启动 EMT 过程, 促进乳腺癌细胞的增殖和迁移^[4-5]。

人参皂苷在治疗乳腺癌方面具有巨大的潜力, 可通过调节 EMT 相关蛋白表达、抑制 PI3K/Akt 信号通路转导等途径发挥抑制肿瘤转移的作用^[6-7], 而人参多糖可改善肠道微生物群生态系统, 增加肠道中乙酸、丁酸水平, 发挥抗黑色素瘤活性^[8], 两者联合应用对肺癌、肝癌发生发展具有更强的抑制作用^[9-10], 但是否会产生更显著的抗乳腺癌活性有待进一步研究。

本研究借助体外乳腺癌细胞和体内荷瘤小鼠模型, 评

收稿日期: 2024-08-28
基金项目: 国家重点研发计划“中医药现代化研究”专项项目 (2017YFC1702301); 陈军力全国名老中医药专家传承工作室建设项目 (国中医药人教函 [2022] 75 号)
作者简介: 郑艳艳 (1999—), 女, 硕士, 研究方向为中药学。Tel: 15265947168, E-mail: zyy15265947168@163.com
* 通信作者: 陈军力 (1956—), 男, 硕士, 副主任药师, 研究方向为中药鉴定学。Tel: (021) 63296570, E-mail: chenjunli@vip.163.com
王 源 (1983—), 男, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药药理学。Tel: (021) 51322760, E-mail: amoness@163.com

价人参皂苷或人参多糖单用及两者联合应用的抗乳腺癌作用，并进一步围绕其抑制乳腺癌转移、经肠道菌群调节免疫抗肿瘤的机制进行探索，以期对相关防治提供实验数据。

1 材料

1.1 仪器 XP 205 型电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；Galaxy 170S 型细胞培养箱（德国艾本德公司）；IX51 型倒置显微镜（日本奥林巴斯株式会社）；Epoch2 型酶标仪（美国 BioTek 公司）；5500 型台式冷冻离心机（日本久保田株式会社）；Tissuelyser-192 型快速研磨仪（上海净信实业发展有限公司）；EPS300 型电泳仪、4200SF 型显影仪（上海天能科技有限公司）。

1.2 试剂与药物 人参根茎由上海上药神象健康药业有限公司提供，经上海上药神象健康药业有限公司李跃雄高级工程师鉴定为正品。环磷酰胺（批号 0K423A）购自美国百特国际有限公司；CCK-8 试剂盒（批号 MA0218-Feb-281）购自大连美仑生物技术有限公司；辣根过氧化物标记山羊抗兔二抗（批号 P2660075）购自上海碧云天生物科技股份有限公司；N-cadherin 抗体（批号 1000650-13）购自英国 Abcam 公司；Smad2/3 抗体（批号 M22MY03）、Snail 抗体（批号 M03JL01）均购自成都正能生物科技有限责任公司；E-cadherin 抗体（批号 32p9942）、Vimentin 抗体（批号 66i9511）、PI3K 抗体（批号 54f8512）、磷酸化-PI3K 抗体（p-PI3K，批号 28o6408）均购自美国 Affinity 公司；Akt 抗体（批号 9272）、p-Akt 抗体（批号 9271s）均购自美国 CST 公司；CD4 抗体（批号 GB15064）、CD8 抗体（批号 GB15068）、肿瘤坏死因子（TNF-α）抗体（批号 GB11188）、干扰素-γ（IFN-γ）抗体（批号 GB11179）均购自武汉赛维尔生物科技有限公司；丁酸钠（批号 I2313563）购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.3 细胞 乳腺癌细胞 4T1、MDA-MB-231、MCF-7 均购自大连美仑生物技术有限公司。

1.4 动物 48 只雌性 BALB/c 小鼠，5 周龄，购自上海必凯科翼生物科技有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK（沪）2018-0006，合格证编号 20180006048900]，饲养于上海中医药大学实验动物中心 [实验动物使用许可证号 SYXK（沪）2020-0009]，温度（23±1）℃，相对湿度 40%~60%，12 h/12 h 明暗交替。动物实验经上海中医药大学实验动物伦理委员会批准（伦理号 PZSHUTCM2302060011）。

2 方法

2.1 人参皂苷、人参多糖制备 药材粉末水提醇沉，上清液浓缩，过 D101 大孔吸附树脂柱，收集 60% 乙醇洗脱液，干燥后得含量为 76% 的皂苷；沉淀经 Sevage 法除蛋白，冷冻干燥后得含量为 79% 的多糖。

2.2 细胞活性实验 收集 4T1、MDA-MB-231、MCF-7 细胞，以每孔 5×10³ 个的密度接种于 96 孔板中，贴壁后分别加入含 0、100、200、400、800、1 200 μg/mL 人参皂苷或人参多糖或两者联用的培养基，另设空白组，培养 48 h，加入 CCK-8 溶液再培养 2 h，在 450 nm 波长处检测光密度

(OD)，重复 3 次，计算细胞存活率，公式为存活率 = [（OD_{药物组}-OD_{空白组}）/（OD_{对照组}-OD_{空白组}）] ×100%。

2.3 细胞克隆实验 收集 4T1 细胞，以每孔 1×10³ 个的密度接种于 6 孔板中，贴壁后 PBS 清洗 2 次，分别加入含 100 μg/mL 人参皂苷或 400、800 μg/mL 人参多糖或两者联用的培养基，培养 48 h，更换不含药的普通培养基，继续培养 8 d，甲醇固定 25 min，吉姆萨染液染色 10 min，拍照，重复 3 次，采用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析克隆集落数。

2.4 细胞划痕实验 收集 4T1 细胞，以每孔 1×10³ 个的密度接种于 6 孔板中，贴壁融合成单层后用 200 μL 枪头于每孔最大直径处划线，PBS 清洗 2 次，加入含 100 μg/mL 人参皂苷或 400、800 μg/mL 人参多糖或两者联用的培养基，拍照，培养 24 h，重复 3 次，采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对划痕面积进行半定量分析，计算划痕愈合率，公式为愈合率 = [（初始划痕面积-给药 24 h 划痕面积）/初始划痕面积] ×100%。

2.5 Transwell 小室实验 收集 4T1 细胞，加入 PBS 吹打均匀，离心后收集，用不含血清的培养基重悬并计数，制成每 200 μL 含 3×10⁵ 个细胞的含药无血清混悬液，加入 Transwell 小室上层，每个小室 200 μL，Transwell 小室下层加入 500 μL 含 10% 血清的培养基，培养 24 h，固定染色结束后拍照，重复 3 次，采用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析迁移到小室下表面的细胞数。

2.6 动物造模、分组与干预 小鼠适应性饲养 1 周后，随机选取 8 只作为正常组，剩余 40 只作为荷瘤组。收集处于对数生长期的 4T1 细胞，PBS 稀释至 1×10⁵/mL，皮下进针至小鼠右侧第二乳房位置，注射 100 μL 肿瘤细胞悬液，正常组注射等体积 PBS，而荷瘤组注射 4T1 细胞，按照体质量随机分为模型组、人参皂苷组（800 mg/kg）、人参多糖组（800 mg/kg）、皂苷联合多糖组（800 mg/kg + 800 mg/kg）、环磷酰胺组（20 mg/kg），每组 8 只。人参皂苷组、人参多糖组、皂苷联合多糖组注射 4T1 细胞当天开始灌胃给予相应药物，剂量为 10 mL/kg，而正常组灌胃给予蒸馏水，每天 1 次，连续 3 周；环磷酰胺组小鼠待瘤体出现后开始腹腔注射给药，每天 1 次，直至实验结束。

2.7 样本收集 记录小鼠体质量，测量皮下瘤长（a）、宽（b），计算瘤体积，公式为瘤体积 = 1/2×（a×b²）。实验结束前小鼠禁食 12 h，异氟烷麻醉，脱颈椎处死，剥取瘤体和肺组织，称定质量，计算抑瘤率，公式为抑瘤率 = [（模型组平均瘤重-给药组平均瘤重）/模型组平均瘤重] ×100%。

2.8 HE 染色观察肺组织病理学变化 4% 多聚甲醛固定小鼠肺组织，修整，脱水，浸蜡，石蜡包埋，切取 4~5 μm 切片，常规脱蜡、水化、苏木素染色、返蓝、伊红染色、脱水封片后在显微镜下观察并拍照。

2.9 免疫组化法检测小鼠肿瘤组织 N-cadherin、E-cadherin、Vimentin、CD4、CD8、TNF-α、IFN-γ 表达 肿

瘤组织切片进行抗原修复,3%过氧化氢溶液处理,用于阻断内源性过氧化物酶,3% BSA 室温封闭 30 min,加入 N-cadherin、E-cadherin、Vimentin、CD4、CD8、TNF- α 、IFN- γ 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,加入二抗,室温孵育 50 min,依次进行 DAB 显色和 Harris 苏木素复染细胞核,脱水后封片,在显微镜下观察并拍照,采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对棕黄色阳性表达进行半定量分析。

2.10 Western blot 法检测肿瘤组织或 4T1 细胞 EMT 相关蛋白表达 称取肿瘤组织 20 mg,用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液裂解提取蛋白,BCA 法检测含量,加热变性,电泳分离,湿转法转移至 PVDF 膜,用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 室温封闭 2 h,分别加入 N-cadherin、Smad2/3、Snail、E-cadherin、Vimentin、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床上孵育过夜,次日加入二抗,室温孵育 2 h,ECL 显影液显影,以 β -actin 为内参,通过 Image J 软件计算蛋白相对表达量。4T1 细胞给药处理 24 h,预冷的 PBS 清洗 2 次,每孔加入 60 μL 裂解液,冰上裂解 20 min,用刮刀将细胞刮下,转移至 1.5 mL 离心管中,冰上继续裂解 30 min,离心,取上清液,即得细胞蛋白原液,后续检测方法同肿瘤组织。

2.11 16S rRNA 肠道菌群多样性分析 实验终点采集小鼠粪便,按照 FastDNA[®] Spin Kit 说明书提取总 DNA,测定浓度和纯度。对 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增,2% 琼脂糖凝胶电泳检测产物,Quantus[™] Fluorometer 进行定量分析,NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库,PE 300 平台(美国 Illumina 公司)进行测序。

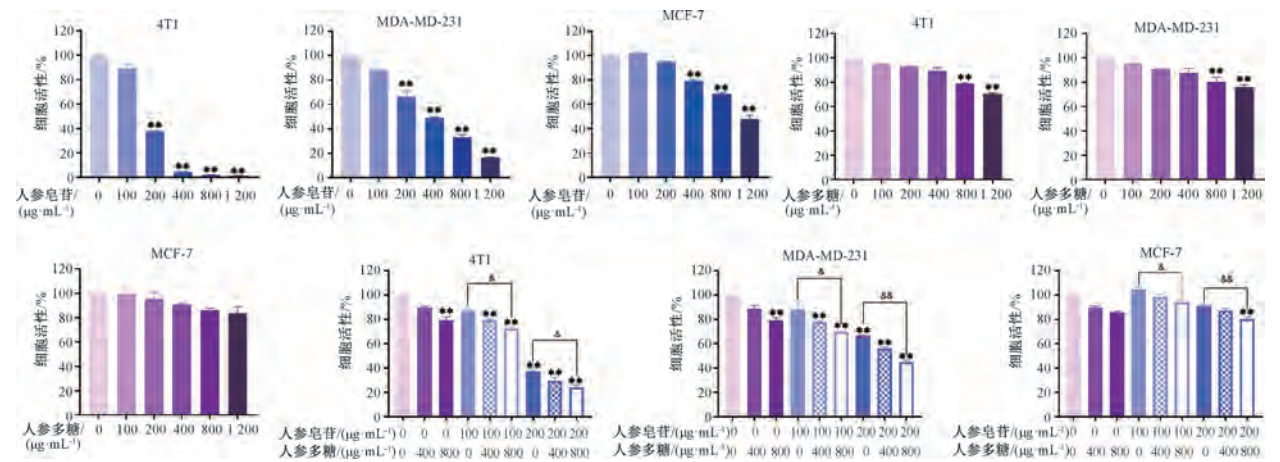
2.12 短链脂肪酸水平检测 小鼠粪便在低温下匀浆并离心,取上清液,加入盐酸酸化,无水乙醚萃取 3 次,取

200 μL 萃取液,加入 10 μL 衍生化试剂 *N*、*O*-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺振荡混匀,室温静置过夜,采用气相色谱法检测,条件为进样口温度 260 $^{\circ}\text{C}$;火焰离子化检测器温度 300 $^{\circ}\text{C}$;程序升温(40 $^{\circ}\text{C}$ 2 min;以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 150 $^{\circ}\text{C}$,1 min;以 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 300 $^{\circ}\text{C}$,5 min);进样量 1 μL ;延迟时间 3 min;分流比 10:1,构建标准曲线,计算乙酸、丙酸、丁酸水平^[11]。

2.13 统计学分析 通过 SPSS 23.0 软件进行处理,计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示,2 组间比较采用 *t* 检验,若正态分布且方差齐,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验;若方差不齐,多组间比较采用 Tamhane's T2 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。16S 多样性分析在美吉生物云平台(<https://cloud.majorbio.com>)上进行。

3 结果

3.1 人参皂苷和人参多糖对乳腺癌细胞活性的影响 人参皂苷能抑制 4T1、MDA-MB-231、MCF-7 细胞活性,并呈剂量依赖性,其中对 4T1 细胞的作用最强,故后续体内外研究选用 4T1 细胞,而人参多糖对 3 种乳腺癌细胞活性的抑制作用比人参皂苷弱。为评价两者联合使用对乳腺癌细胞的影响,选用抑制效果较弱的 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参皂苷和 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参多糖,以及抑制效果较强的 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参皂苷和 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参多糖进行联合给药,结果表明,两者联用的抑制作用比单用人参皂苷强,但只有 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参多糖与人参皂苷联用具有显著差异($P<0.05$, $P<0.01$),见图 1。最终,选择对细胞活性抑制作用较弱的 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参皂苷及 400、800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参多糖用于后续实验。



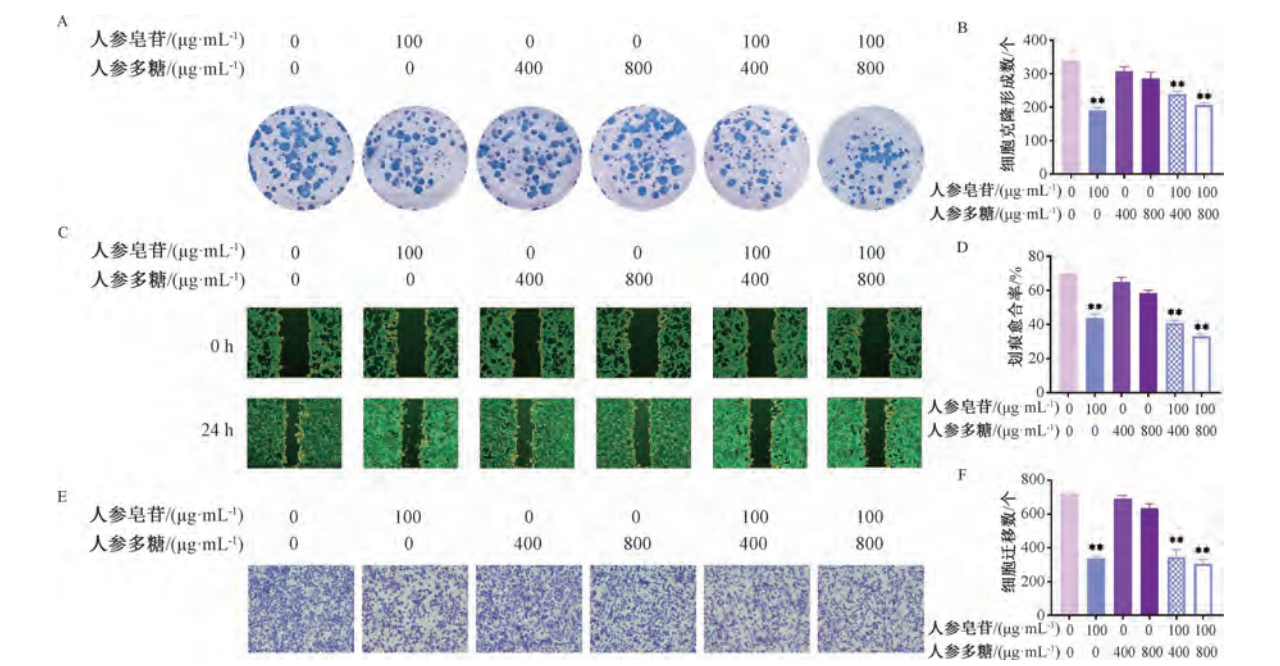
注:与空白组比较,** $P<0.01$;与人参皂苷组比较,* $P<0.05$,& $P<0.01$ 。

图 1 人参皂苷和人参多糖对乳腺癌细胞活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.2 人参皂苷和人参多糖对乳腺癌细胞增殖和迁移的影响 与空白组比较,人参皂苷可抑制 4T1 细胞集落的形成($P<0.01$),而人参多糖未产生明显抑制作用($P>0.05$);与单用人参皂苷比较,人参皂苷和人参多糖联用没有产生更强的效果($P>0.05$),见图 2A~2B。与空白组比较,人

参皂苷可抑制乳腺癌细胞划痕面积的愈合和 Transwell 小室穿过的细胞数目($P<0.01$),而人参多糖未产生明显抑制作用($P>0.05$);与单用人参皂苷比较,人参皂苷和人参多糖联用未产生更强的效果($P>0.05$),见图 2C~2F。

3.3 人参皂苷和人参多糖对乳腺癌荷瘤小鼠肿瘤生长的影

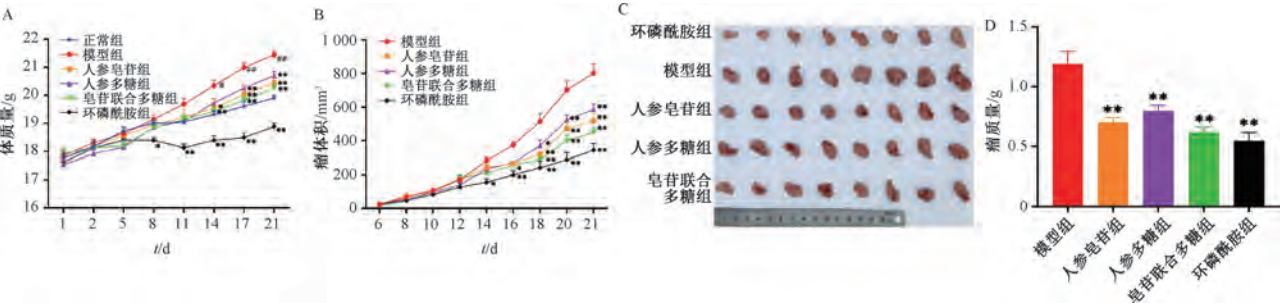


注：与空白组比较，** $P < 0.01$ 。

图 2 人参皂苷和人参多糖对 4T1 乳腺癌细胞增殖和迁移的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

响 与模型组比较，各给药组小鼠体质量和瘤体积增长减缓 ($P < 0.01$)，见图 3A~3B；与模型组比较，人参皂苷组、人参多糖组、皂苷联合多糖组小鼠肿瘤质量降低 ($P < 0.01$)，

见图 3C~3D。人参皂苷组、人参多糖组、皂苷联合多糖组、环磷酸胺组平均抑瘤率分别为 41%、34%、48%、54%。



注：与正常组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

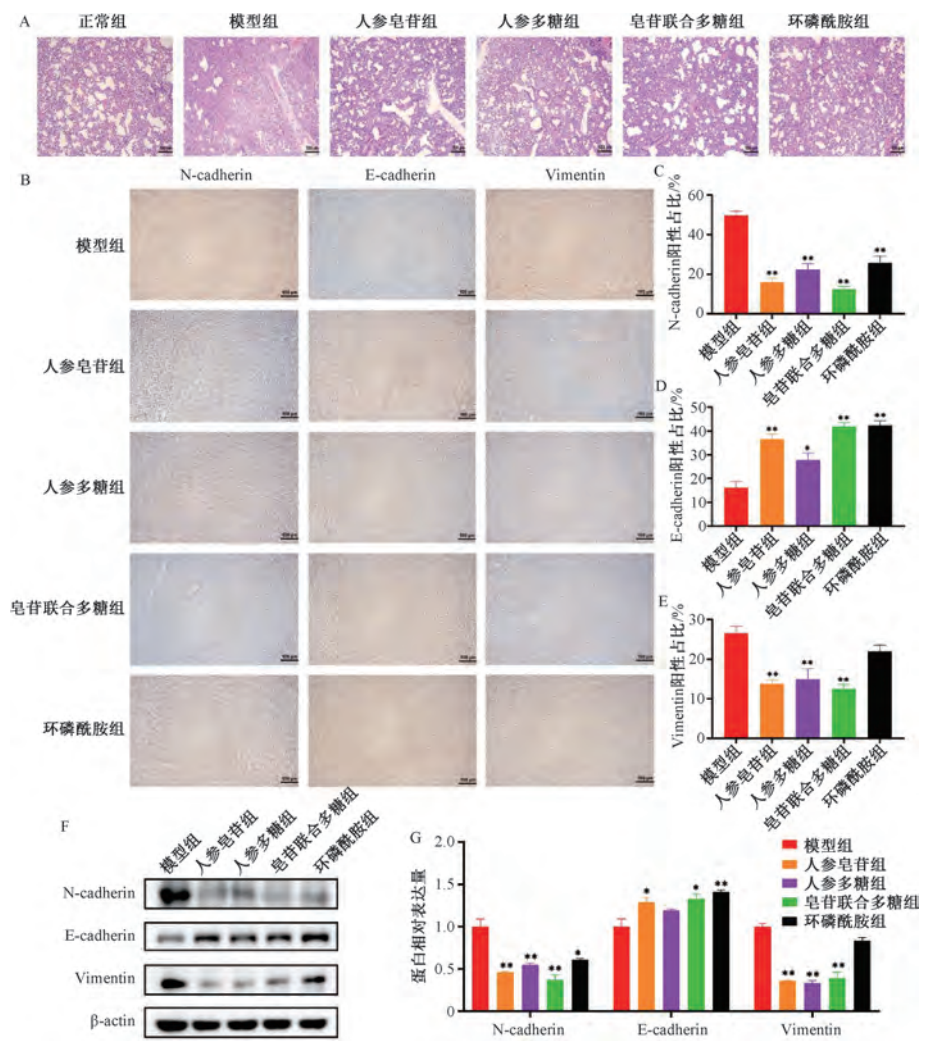
图 3 人参皂苷和人参多糖对乳腺癌荷瘤小鼠肿瘤生长的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

3.4 人参皂苷和人参多糖对乳腺癌荷瘤小鼠肿瘤转移的影响 模型组小鼠肺组织结构明显被破坏，肺泡减少，实体肿瘤侵占严重，而各给药组小鼠肿瘤肺转移的情况得到改善，见图 4A。与模型组比较，各给药组小鼠肿瘤组织 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，E-cadherin 蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图 4B~4G。

3.5 人参皂苷和人参多糖对乳腺癌荷瘤小鼠肿瘤 Smad2/3/Snail、PI3K/Akt 信号通路的影响 与模型组比较，人参皂苷组与皂苷联合多糖组小鼠肿瘤组织 Smad2/3、Snail 蛋白表达和 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 比值降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图 5。

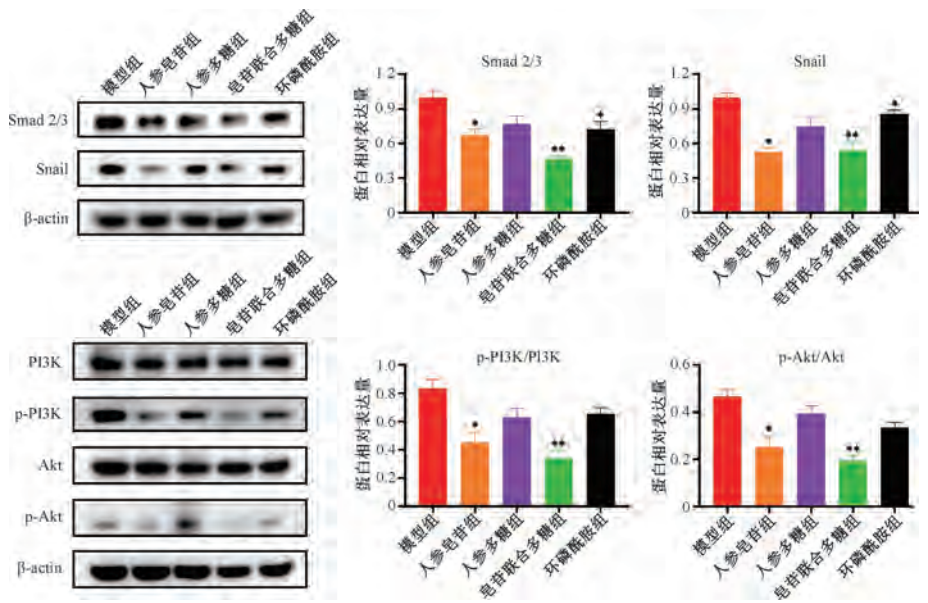
3.6 人参皂苷和人参多糖对乳腺癌荷瘤小鼠免疫细胞因子的影响 与模型组比较，人参多糖组、皂苷联合多糖组小鼠肿瘤组织 CD4、CD8、TNF- α 、IFN- γ 阳性表达占比升高 ($P < 0.01$)，人参皂苷组小鼠肿瘤组织 TNF- α 阳性表达占比升高 ($P < 0.05$)，以皂苷联合多糖组更明显 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图 6。

3.7 人参皂苷和人参多糖对乳腺癌荷瘤小鼠肠道菌群及其代谢产物短链脂肪酸的影响 人参多糖可一定程度恢复乳腺癌小鼠肠道微生物的丰富度和多样性，见图 7A~7C。环磷酸胺组和模型组距离正常组较远，人参多糖组菌群整体轮廓与正常组重合，皂苷联合多糖组处于人参多糖组和人参皂苷组中间位置，见图 7D。与正常组比较，模型组拟杆菌门 *Bacteroidota* 相对丰度降低，厚壁菌门 *Firmicutes* 相对丰度大幅度升高；与模型组比较，人参皂苷组、人参多糖组和皂苷联合多糖组厚壁菌门相对丰度降低，见图 7E。与模型组比较，人参皂苷组、人参多糖组和皂苷联合多糖组拟杆菌门 *Muribaculaceae* 相对丰度升高，人参多糖组和皂苷联



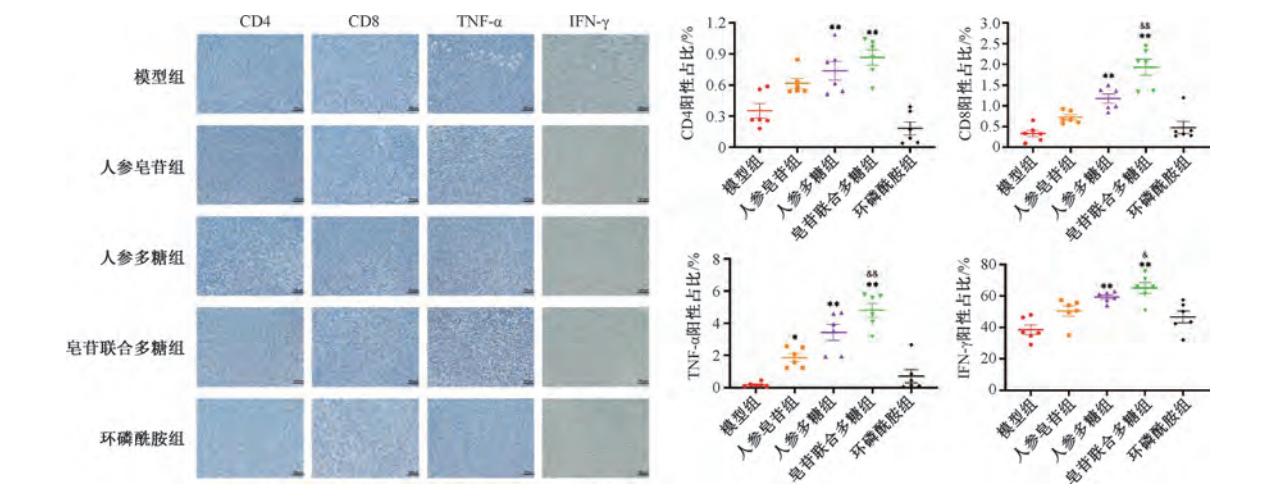
注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图 4 人参皂苷和人参多糖对乳腺癌转移的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



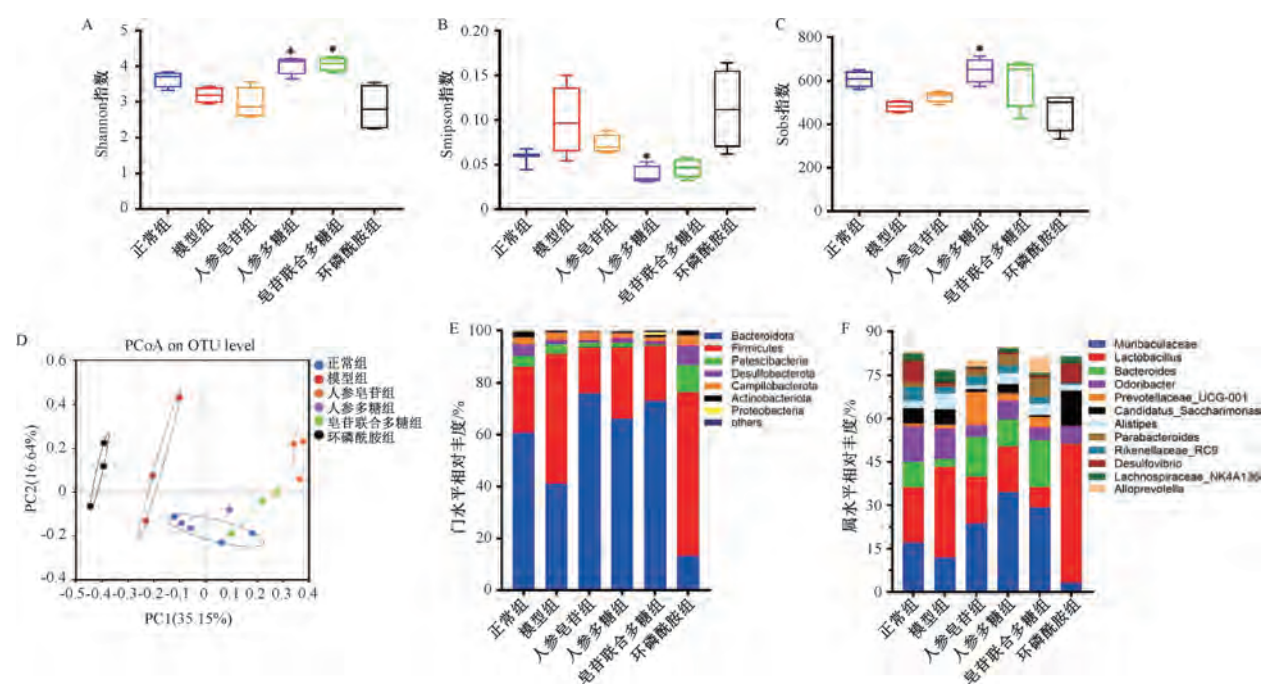
注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图 5 人参皂苷和人参多糖对 Smad2/3/Snail、PI3K/Akt 信号通路的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



注：与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与人参皂苷组比较，& $P<0.05$ ，&& $P<0.01$ 。

图 6 人参皂苷和人参多糖对免疫细胞因子的影响 ($\times 200$, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)



注：与模型组比较，* $P<0.05$ 。

图 7 各组小鼠肠道菌群变化 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

合多糖组拟杆菌门 *Parabacteroides* 相对丰度升高，见图 7F。

与模型组比较，人参多糖组 *Muribaculaceae*、*Parabacteroides* 相对丰度差异明显，见 8A~8C。临床因子关联分析发现，*Muribaculaceae* 和 *Parabacteroides* 与 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IFN-}\gamma$ 等免疫指标呈正相关，与 E-cadherin 等 EMT 标志物也具有相关性，见图 8D。与模型组比较，人参多糖组、皂苷联合多糖组小鼠粪便丁酸水平升高 ($P<0.01$)，以皂苷联合多糖组更明显 ($P<0.05$)，见图 8E~8G。

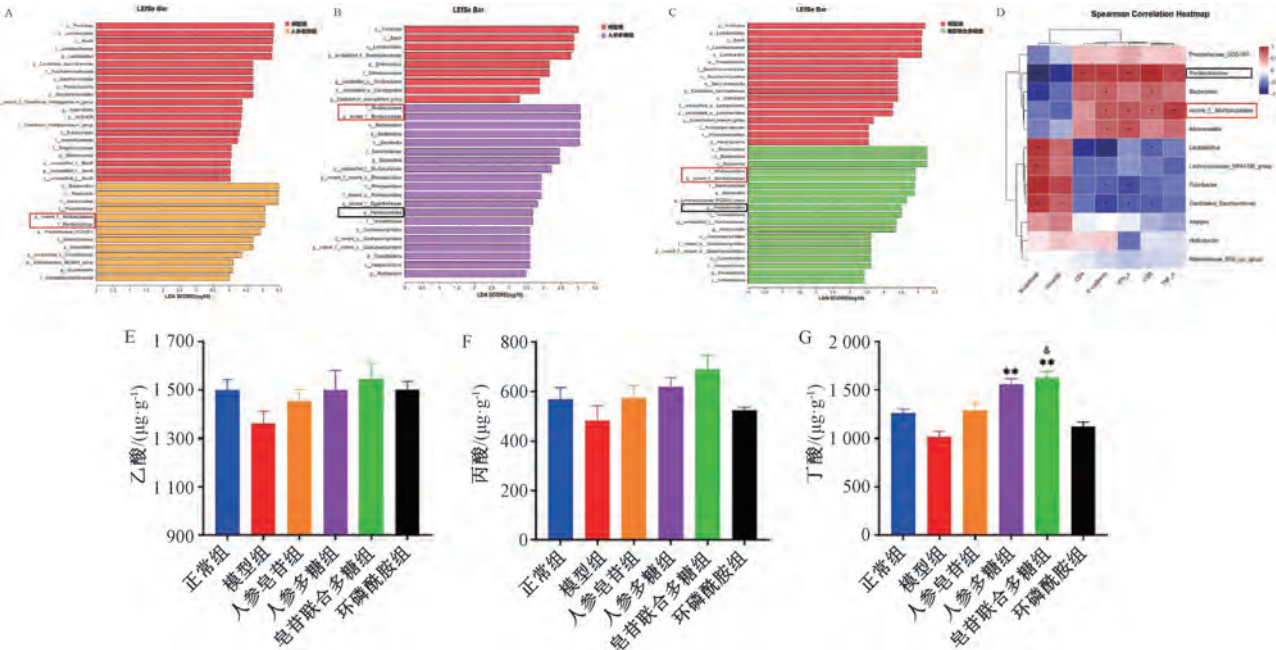
3.8 丁酸钠和人参皂苷对 4T1 细胞增殖和迁移的影响 2 mmol/L 丁酸钠可促使 4T1 细胞活性降低 ($P<0.01$)，并呈剂量依赖性，见图 9A。与单用人参皂苷比较，丁酸钠和人参皂苷联用能降低细胞活性 ($P<0.01$)，增加对 4T1 细胞集落形

成和迁移的抑制作用 ($P<0.05$, $P<0.01$)，升高 E-cadherin 蛋白表达 ($P<0.01$)，见图 9B~9J。

4 讨论

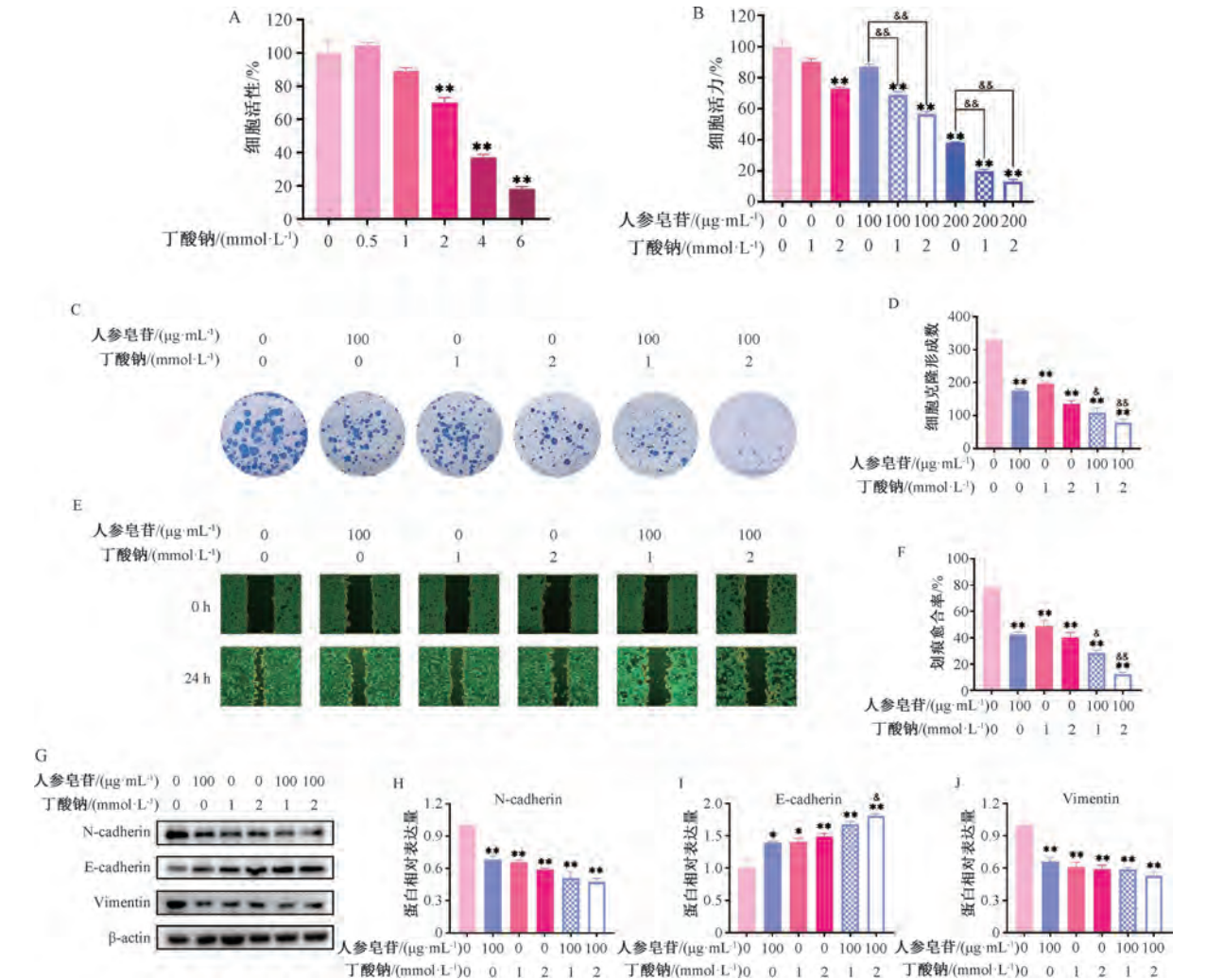
多项研究报道，人参皂苷在体外可抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[12-13]。体外实验结果显示，人参皂苷可抑制乳腺癌 4T1 细胞的集落形成和迁移，而人参多糖作用较弱，并且两者联用时并不能产生更强的抗乳腺癌作用。

体内实验结果显示，人参皂苷、人参多糖及两者联用均可抑制乳腺癌的生长，并且两者联用时抑瘤率最高；人参皂苷和人参多糖能升高 E-cadherin 表达，降低 N-cadherin、Vimentin 的表达；给予人参皂苷后，肿瘤组织 Smad2/3、Snail、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达降低，与 Zhang



注：与模型组比较，** $P < 0.01$ ；与人參皂苷组比较，& $P < 0.05$ 。

图 8 各组小鼠肠道菌群及其代谢产物短链脂肪酸变化 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



注：与空白组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与单用人參皂苷组比较，& $P < 0.05$ ，&& $P < 0.01$ 。

图 9 丁酸钠和人參皂苷对 4T1 乳腺癌增殖和迁移的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

等^[14]研究一致，提示人参皂苷可通过抑制诱导 EMT 发生的 Smad2/3/Snail 及 PI3K/Akt 信号通路阻止乳腺癌的生长和转移。CD8⁺T 和 CD4⁺T 细胞可通过分泌 IFN- γ 等细胞因子，抑制肿瘤细胞的生长^[15-16]，本研究发现，人参多糖的干预可增加免疫细胞因子 CD4、CD8、IFN- γ 、TNF- α 表达，提示它在体内可通过调节免疫水平发挥抗乳腺癌的效果。

乳腺癌患者肠道微生物多样性降低，菌群组成明显变化^[17-18]。本研究发现，人参多糖可提高肠道微生物的多样性和丰富度，并改善荷瘤小鼠肠道菌群的结构性失调，它属于益生元类大分子物质，是肠道微生物群发酵产生短链脂肪酸的主要底物^[19]。属水平的微生物变化发现，人参多糖干预后小鼠肠道内 *Muribaculaceae*、*Parabacteroides* 的相对丰度升高，其中 *Muribaculaceae* 是维持肠道稳态的重要功能菌，可分解多糖类物质，产生乙酸、丙酸、丁酸等短链脂肪酸^[20]；*Parabacteroides* 表达的 *porA* 基因可将氨基酸降解为短链脂肪酸，肠道中其相对丰度的增加与丁酸的产生呈正相关^[21]。人参多糖与人参皂苷联用后，样本中丁酸水平升高，由于肠道中产生的丁酸可进入血液循环，直接增强 CD8⁺T 细胞的毒性及 IFN- γ 、TNF- α 等免疫效应因子的分泌，促进对肿瘤的干预作用^[22]，因此它可能是人参多糖在肠道中代谢产生的主要药效物质。随后在体外对丁酸钠抑制乳腺癌的活性进行验证，发现在 1~2 mmol/L 浓度下可抑制 4T1 细胞的增殖、迁移及 EMT 过程。由此提示，人参多糖通过调节宿主免疫来发挥抗乳腺癌生长和转移的作用，并与增加丁酸产生有关。

参考文献：

[1] Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours[J]. *Nature*, 2012, 490(7418): 61-70.

[2] Williams E D, Gao D C, Redfern A, *et al.* Controversies around epithelial-mesenchymal plasticity in cancer metastasis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(12): 716-732.

[3] Akrida I, Mulita F, Plachouri K M, *et al.* Epithelial to mesenchymal transition (EMT) in metaplastic breast cancer and phyllodes breast tumors[J]. *Med Oncol*, 2023, 41(1): 20.

[4] Dobbin Z C, Landen C N. The importance of the PI3K/Akt/mTOR pathway in the progression of ovarian cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(4): 8213-8227.

[5] Duan S Y, Huang W Q, Liu X T, *et al.* IMPDH2 promotes colorectal cancer progression through activation of the PI3K/Akt/mTOR and PI3K/Akt/FOXO1 signaling pathways[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37: 304.

[6] Chu Y, Zhang W T, Kanimozhi G, *et al.* Ginsenoside Rg1 induces apoptotic cell death in triple-negative breast cancer cell lines and prevents carcinogen-induced breast tumorigenesis in sprague dawley rats[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 8886955.

[7] Zhang K Q, Li Y W. Effects of ginsenoside compound K combined with cisplatin on the proliferation, apoptosis and epithelial mesenchymal transition in MCF-7 cells of human breast

cancer[J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(4): 561-568.

[8] Xie N N, Wu C Y, Ge Q, *et al.* Structure-specific antitumor effects and potential gut microbiota-involved mechanisms of ginseng polysaccharides on B16F10 melanoma-bearing mice[J]. *Food Funct*, 2023, 14(2): 796-809.

[9] Bi L, Yan X J, Yang Y, *et al.* The component formula of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax ginseng* induces apoptosis and inhibits cell invasion and migration through targeting PTEN in lung cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(60): 101599-101613.

[10] Hou Z, Song F R, Xing J P, *et al.* Comprehensive fecal metabolomics and gut microbiota for the evaluation of the mechanism of *Panax ginseng* in the treatment of Qi-deficiency liver cancer[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 292: 115222.

[11] Zhang S M, Wang H B, Zhu M J. A sensitive GC/MS detection method for analyzing microbial metabolites short chain fatty acids in fecal and serum samples[J]. *Talanta*, 2019, 196: 249-254.

[12] Pu Z J, Ge F, Wang Y J, *et al.* Ginsenoside-Rg3 inhibits the proliferation and invasion of hepatoma carcinoma cells *via* regulating long non-coding RNA HOX antisense intergenic[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 2398-2409.

[13] Liu G M, Lu T C, Sun M L, *et al.* Ginsenoside Rd inhibits glioblastoma cell proliferation by up-regulating the expression of miR-144-5p[J]. *Biol Pharm Bull*, 2020, 43(10): 1534-1541.

[14] Zhang K Q, Li Y W. Effects of ginsenoside compound K combined with cisplatin on the proliferation, apoptosis and epithelial mesenchymal transition in MCF-7 cells of human breast cancer[J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(4): 561-568.

[15] Ranieri E, Netti G S, Gigante M. CTL ELISPOT assay and T cell detection[J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2325: 65-77.

[16] Butcher M J, Zhu J F. Recent advances in understanding the Th1/Th2 effector choice[J]. *Fac Rev*, 2021, 10: 30.

[17] Hieken T J, Chen J, Hoskin T L, *et al.* The microbiome of aseptically collected human breast tissue in benign and malignant disease[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 30751.

[18] Zhu J, Liao M, Yao Z T, *et al.* Breast cancer in postmenopausal women is associated with an altered gut metagenome[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 136.

[19] Coummings J H, Pomare E W, Branch W J, *et al.* Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood[J]. *Gut*, 1987, 28(10): 1221-1227.

[20] Huang J M, Liu D, Wang Y W, *et al.* Ginseng polysaccharides alter the gut microbiota and kynurenine/tryptophan ratio, potentiating the antitumour effect of antiprogrammed cell death 1/programmed cell death ligand 1 (anti-PD-1/PD-L1) immunotherapy[J]. *Gut*, 2022, 71(4): 734-745.

[21] Qiao S S, Liu C, Sun L, *et al.* Gut parabacteroides merdae protects against cardiovascular damage by enhancing branched-chain amino acid catabolism[J]. *Nat Metab*, 2022, 4(10): 1271-1286.

[22] He Y, Fu L H, Li Y P, *et al.* Gut microbial metabolites facilitate anticancer therapy efficacy by modulating cytotoxic CD8⁺ T cell immunity[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(5): 988-1000.