

人参皂苷 Rg₃ 对肿瘤的免疫调节作用及其纳米给药体系研究进展

王 曼, 黄 念, 凌昌全*

海军军医大学附属长海医院 中医科, 上海 200433

摘 要: 免疫逃逸是肿瘤发生发展的重要机制, 重新激活人体的抗肿瘤免疫反应是治疗恶性肿瘤的重要举措。人参皂苷 Rg₃ (ginsenoside Rg₃, G-Rg₃) 是从人参中分离提取的一种固醇类化合物, 可以通过上调肿瘤细胞自身抗原性与免疫原性、增强免疫效应细胞及免疫活性分子功能、调节局部免疫微环境等机制提高机体的抗肿瘤免疫能力。但是, 水溶性差、生物利用度低等原因限制了 G-Rg₃ 的临床应用。纳米给药体系是解决这一问题的关键。综述 G-Rg₃ 对肿瘤的免疫调节作用及其纳米给药体系的研究进展, 以期为 G-Rg₃ 的深入研究和临床应用提供参考。

关键词: 人参皂苷 Rg₃; 肿瘤; 免疫; 肿瘤微环境; 纳米给药体系

中图分类号: R285, R283 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)15-3729-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.15.032

Immunomodulatory effects of ginsenoside Rg₃ on tumors and its nano-drug delivery system

WANG Man, HUANG Nian, LING Chang-quan

Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Changhai Hospital, Naval Military Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract: Immune escape is an important mechanism for the development of tumors. Re-activating the anti-tumor immune response is a key measure for the treatment of malignant tumors. Ginsenoside Rg₃ (G-Rg₃) is a sterol compound isolated from *Panax ginseng*. It can improve the anti-tumor immune response of human by up-regulating the autoantigenicity and immunogenicity of tumor cells, enhancing the function of immune effector cells and immune active molecules, and regulating the local immune microenvironment. However, the clinical application of G-Rg₃ is limited due to its poor water solubility and low bioavailability. Improved drug delivery systems are the key to solving this problem. Therefore, this paper summarizes the research progress of G-Rg₃ on tumor immunoregulation and its nano-drug delivery systems, in order to provide reference for the in-depth study and clinical application of G-Rg₃.

Key words: ginsenoside Rg₃; tumor; immunology; tumor microenvironment; nano-drug delivery system

恶性肿瘤的发生率、死亡率一直居高不下。据统计,2018 年全球新发恶性肿瘤数高达 1 810 万例,癌症死亡病例数达 960 万例^[1],对患者家庭、国家医疗支出造成了巨大的负担。现代医学研究发现肿瘤与机体免疫功能密切相关,免疫逃逸是肿瘤发生的重要机制^[2]。正常情况下,机体能够识别、监视并清除丧失正常调控能力的恶变细胞,但部分细胞能够逃避免疫系统的清除,与免疫系统相互塑造进入无临床症状的“平衡期”,一旦这种平衡状态破坏,

肿瘤细胞便会发生免疫逃逸,进一步发展转移^[3]。因此,重新激活人体自身的免疫系统以抗击肿瘤是当前治疗恶性肿瘤的关键举措。

人参是五加科人参属植物人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 的干燥根,“主补五脏,安精神,定魂魄,除邪气,明目、开心、益智,久服轻身延年”^[4]。近年来研究发现,其化学成分中的人参皂苷 Rg₃ (ginsenoside Rg₃, G-Rg₃) 具有显著的抗肿瘤效果^[5]。G-Rg₃ 是一种四环三萜皂苷,化学式为 C₄₂H₇₂O₁₃,

收稿日期: 2019-05-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81430101)

作者简介: 王 曼 (1995—), 女, 硕士研究生, 主要从事中西医结合防治肿瘤研究。E-mail: zhongyiwangm@163.com

*通信作者 凌昌全, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事中西医结合防治肿瘤研究。E-mail: changquanling@smmu.edu.cn

相对分子质量为 784.30。根据 C_{20} 空间位置的差异可以分为 20(R)、20(S) 2 种异构体。除了通过抑制肿瘤细胞增殖、促进凋亡、减少肿瘤内血管生成、控制肿瘤细胞的侵袭、转移等途径发挥抗肿瘤作用外^[5], G-Rg₃ 还可以激活机体的抗肿瘤免疫反应, 控制肿瘤发展^[6]。本文从 G-Rg₃ 上调肿瘤细胞自身抗原性与免疫原性、增强免疫效应细胞及免疫活性分子功能、调节局部免疫微环境方面探讨 G-Rg₃ 对肿瘤的免疫调节作用及其纳米给药体系的研究进展, 以期 G-Rg₃ 的深入研究提供参考。

1 调节肿瘤细胞自身抗原性与免疫原性

T 细胞活化是机体免疫系统发挥抗肿瘤效应的关键环节, 通常需要双信号途径的刺激, 抗原递呈细胞上的抗原肽-主要组织相容性复合体 (MHC) 分子复合物与 T 细胞受体 (TCR) 结合是第 1 信号途径; 抗原递呈细胞上的共刺激分子 B7 (CD80、CD86) 与 T 细胞表达的 CD28 结合是第 2 信号途径^[7]。肿瘤细胞通常可以通过下调 MHC I 类分子, 减弱自身的抗原性来逃避机体的免疫识别或者高表达抑制性协同刺激因子受体程序性死亡受体 1 (PD-L1)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (CTLA-4)、人凋亡相关因子配体 (FasL) 等与 T 细胞、自然杀伤 (NK) 细胞结合以降低免疫原性, 抑制机体的抗肿瘤免疫应答。实验证实, G-Rg₃ 可以通过抑制核转录因子- κ Bp65 (NF- κ Bp65) 和蛋白激酶 B (Akt), 降低 PD-L1 表达, 恢复 T 细胞对肿瘤的细胞毒性^[8], 延长患者的生存时间^[9]。同时, G-Rg₃ 可以诱导肿瘤细胞表面钙网蛋白和热休克蛋白表达及相关基因的转录来增强肿瘤细胞免疫原性, 促进树突状细胞 (DC) 的成熟及对肿瘤抗原的摄取和呈递^[10]。

2 调节免疫效应细胞功能

免疫效应细胞是免疫系统的主要成员, 在机体的抗肿瘤免疫应答中发挥清除异物抗原, 行使效应功能的作用。提高免疫效应细胞的活性是激活人体抗肿瘤免疫能力的关键。

2.1 固有免疫相关细胞

固有免疫是机体免疫系统的第一道防线, 能够识别病原体、激活适应性免疫应答。其中, 吞噬细胞可以区分“自我”和“非我”成分, 通过吞噬作用杀伤肿瘤细胞。Shin 等^[11]发现在鼠巨噬细胞 RAW264.7 中, 受细胞外信号调节激酶 (ERK)/c-Jun 途径调节, G-Rg₃ 可以促进 RAW264.7 细胞活化。

DC 是迄今发现的体内功能最强的抗原递呈细胞。成熟的 DC 高表达共刺激因子和黏附因子, 可以激活初始 T 细胞^[12]。G-Rg₃ 处理过的 DC 细胞与未加 G-Rg₃ 的对照组相比, 前者 CD83、CD80、CD86 表达明显上升, 同时细胞毒性淋巴细胞刺激因子白介素 12 (IL-12) 的分泌量增加, 促进 T 细胞增殖活化, 增强了机体的抗肿瘤免疫能力^[13]。此外王英等^[14]研究发现 G-Rg₃ 还能够增强 NK 细胞的活性, 提高 NK 细胞与癌细胞的结合率, 发挥更强有力的抗肿瘤效力。

2.2 适应性免疫相关细胞

淋巴细胞是适应性免疫应答中的关键成分^[15], 可以与靶细胞特异性结合直接破坏靶细胞或释放淋巴因子, 扩大和增强免疫效应参与机体的免疫反应。研究发现^[16], 肿瘤患者常常处于免疫失衡状态, 体内 CD4⁺T 细胞减少, CD4⁺T/CD8⁺T 下降, 细胞免疫功能紊乱。G-Rg₃ 可以刺激淋巴细胞表达 CD4, 提高 CD4⁺T 淋巴细胞的活性, 促进 γ -干扰素 (IFN- γ)、肿瘤坏死因子- β (TNF- β)、IL-2 等抗肿瘤细胞因子的分泌, 上调 CD4⁺T/CD8⁺T 比值, 增强机体免疫功能^[17]。还能进一步促进 CD4⁺T 细胞分化为 Th1 细胞, 调节 Th1/Th2, 诱导其向免疫增强方向漂移^[18]。这种调节作用不仅可以通过抑制 DC 产生 IL-12 来实现, 还能直接影响 T 细胞中的 Th1 细胞分化程序来介导^[19]。此外, G-Rg₃ 能够调节机体 B 淋巴细胞的数量和活性, 上调免疫球蛋白 G (IgG)、IgM 抗体的表达, 增强抗肿瘤的体液免疫应答^[20]。联合针刺^[21]或化疗^[22]可以增强 Rg₃ 对免疫功能的改善作用。

3 调节免疫活性分子

免疫活性分子是由免疫细胞或者非免疫细胞分泌的小分子蛋白质, 可以分为 IL、IFN、生长因子等, 是人体免疫系统的重要组成部分。TNF 是体内具有明确抗肿瘤活性的细胞因子。Kim 等^[23]用实验证实了 G-Rg₃ 能够提高黑色素瘤荷瘤小鼠外周血中肿瘤坏死因子 TNF- α 、IL-2 水平, 增加小鼠免疫器官质量, 且与 Rh₂ 联合使用效果更佳。IFN 可以诱导肿瘤细胞表达特异性抗原, 便于机体的免疫识别和清除; 加强肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞的作用, 促进记忆 T 细胞的产生, 诱导特异性抗体的分泌。G-Rg₃ 可以增加 IFN- γ 的水平, 增强小鼠的细胞免疫, 且 20(R)-Rg₃ 的作用优于 20(S)-Rg₃^[24]。通过上调 TANK 结合激酶 1 (TBK1)/NF- κ B 抑制激酶 (IKK) epsilon

途径和 DDX3 表达, G-Rg₃ 能够改善 IFN- β 表达, 增强先天免疫^[25]。转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 诱导上皮细胞-间充质转化(EMT)促进癌细胞的迁移, 侵袭和抗失巢凋亡。20(R)-Rg₃ 能够抑制 A549 肺癌细胞中 TGF- β 1 分泌, 达到抗肿瘤的目的^[26]。

4 肿瘤免疫微环境的局部调节

目前, 越来越多的研究者认识到肿瘤作为一个整体, 不仅是肿瘤细胞基因突变的产物, 更是突变细胞对于微环境的适应。酸性、缺氧是肿瘤免疫微环境的典型特点, 加快了恶性肿瘤的进展^[27]。

4.1 酸碱度

通过高速有氧糖酵解产生能量是癌细胞的代谢标志, 称为 Warburg 效应。代谢产物乳酸的大量堆积最终形成了酸性的肿瘤免疫微环境, 导致血管内皮生长因子(VEGF)基因表达的上调、加速细胞外基质的降解、抑制免疫细胞功能、诱导 EMT, 加快肿瘤的进展。20(S)-Rg₃ 能够通过影响 lncRNA 调节网络和细胞中 STAT3/HK2 信号途径^[28], 抑制卵巢癌细胞中的 Warburg 效应^[29], 控制肿瘤发展。Li 等^[30]发现 G-Rg₃ 可以下调表皮细胞生长因子(EGF)-表皮生长因子受体(EGFR)-ERK1/2-缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)信号通路, 减少 I 型钠氢交换蛋白的表达, 使氢离子无法外泵, 进而降低细胞内 pH 值, 改变肿瘤酸性微环境, 抑制肝细胞肝癌的侵袭和转移。

4.2 含氧量

肿瘤生长迅速, 内部血管结构异常等因素造成了肿瘤的缺氧微环境。研究发现肿瘤的缺氧程度与肿瘤的进程正相关, 抑制 HIF-1 的表达是治疗肿瘤的有效策略^[31-32]。在卵巢癌、胶质瘤等多种肿瘤组织中, 20(S)-Rg₃ 可以通过激活遍在蛋白-蛋白酶体途径促进 HIF-1 α 降解, 抑制恶性肿瘤的发展、转移^[33-35]。G-Rg₃ 能显著增强化疗对小鼠食管鳞状细胞癌抑制作用, 可能是通过下调 HIF-1 α 和 VEGF 水平实现^[36-37]。吉西他滨(GEM)是治疗非小细胞肺癌的临床常用药, 但是 GEM 可以诱导活性氧(ROS)的生产, 上调 Akt、ERK, 促进 NF- κ B 和 HIF-1 α 的核堆积, 导致肿瘤的耐药性, 而 G-Rg₃ 可以逆转这一过程^[38]。

5 纳米给药体系

G-Rg₃ 在恶性肿瘤的治疗中发挥重要的免疫调节作用, 但是由于其水溶性较差, 生物利用度较低, 限制了临床应用。纳米技术的出现和发展成为解决这一问题的关键。将纳米级的高分子材料作为载体

与难溶性的 G-Rg₃ 结合所形成的纳米给药体系能够有效地提高其水溶性。此外, 相比于正常组织, 肿瘤组织中的血管丰富, 血管壁间隙较宽、结构完整性差, 淋巴循环缺失, 特定的大分子能够在肿瘤组织中富集、滞留, 具有选择性的高通透和滞留效应(EPR)^[39], 使得纳米载药体系能够被动靶向肿瘤组织。在此基础上, 引入能够特异性识别肿瘤组织的靶向配体对负载 G-Rg₃ 给药系统进行修饰, 可以进一步赋予其主动靶向性。其中, 研究较多的脂质体给药系统就是利用生物相容性较好的磷脂酰胆碱、胆固醇等脂质材料包裹 G-Rg₃ 并进行修饰而形成的, 具有抑制肝癌、胃癌等多种实体瘤进展的效果, 且不容易引起机体的免疫反应。纳米胶束则是依靠亲水性和疏水性共聚物的自组装形成“核-壳”结构包载 G-Rg₃, 大大提高了 G-Rg₃ 的水溶性而且制备工艺简单。近年来, 结合物理化学导向的靶向性技术, 利用载体磁性、热敏、酸碱度敏感等特性制备而成的多种纳米颗粒, 能够在外部环境改变时发生变化, 缓慢释放药物, 在提高 G-Rg₃ 溶解性的同时进一步增强对肿瘤细胞的杀伤作用, 提高靶向的精确度, 减少对于正常组织、器官的影响。总之, 负载 G-Rg₃ 的纳米给药系统通常具有较小的直径, 较高的表面反应活性、较强的吸附能力, 较高的催化效率, 较多的活性中心, 能够大大增加药物稳定性、生物利用度、可降解性及靶向性^[40], 在 G-Rg₃ 的应用方面意义重大。本文梳理近 10 年有关负载 G-Rg₃ 纳米给药系统的研究进展, 见表 1。

6 问题与展望

G-Rg₃ 能够从多个方面调节机体的免疫力, 发挥抗肿瘤效果。纳米载药系统的出现解决了 G-Rg₃ 水溶性差、生物利用度低的问题。然而, 目前对于 G-Rg₃ 的研究仍存在诸多空白: (1) 大部分有关 G-Rg₃ 纳米给药体系的研究多着眼于肿瘤细胞的直接杀伤作用, 缺乏对于肿瘤免疫调节作用及机制的阐释。(2) 尚未形成有关纳米药物质量标准的评价系统, G-Rg₃ 纳米给药体系研究还停留在实验阶段, 与人体内细胞和生物大分子之间的相互作用暂未揭示。纳米药物及其降解产物在人体的长期蓄积的不良反应不得而知, 临床应用的安全性有待进一步评估。(3) 多数纳米载体特异性释药性能差, 药物被突然释放, 导致局部浓度过高产生较大的毒性^[55]。如何改良药物的缓控释放性能, 避免频繁给药, 维持合适的 G-Rg₃ 血药浓度, 增加治疗的稳定性是今

表 1 负载 G-Rg₃ 的纳米给药体系Table 1 Nano-drug delivery system loaded with G-Rg₃

载体类型	特点	纳米载体构成	表征	细胞/动物模型	效果	参考文献
脂质体	磷脂疏水缩合作用自发形成, 具有磷脂双分子层及水溶液空腔结构, 组织相容性、表面可修饰性好	L-Rg ₃	粒径 88.2 nm; 包封率 (93.92±2.34) %	人黑色素瘤 A375 细胞	抑制肿瘤细胞生长	41
		TF-LP-DOX/Rg ₃	粒径 (135.0±11.5) nm; DOX 与 Rg ₃ 包封率分别为 93.5% 和 82.2%	胃癌 MKN-28 细胞体外肿瘤球模型	抑制肿瘤细胞生长	42
		TF-LP-PTX/Rg ₃	粒径 (133.0±8.9) nm; PTX 与 Rg ₃ 的包封率分别为 81.7% 和 67.4%	肝癌 HepG2 细胞; 肝癌裸鼠异位瘤模型	抑制肿瘤生长	43
		L-Rg ₃	包封率为 (82.47±0.74) %	肝癌 HepG2 和 肺腺癌 A549 细胞	抑制肿瘤血管生长	44
		RGD-LP-PTX/Rg ₃	平均粒径为 (106.8±11.5) nm; PTX 和 Rg ₃ 包封率分别为 76.5%、68.5%	肝癌 HepG2、HUVEC 细胞	抑制肿瘤血管生长	45
纳米胶束	两亲性共聚物形成, 具有“疏水内核-亲水外壳”结构, 较好的长循环稳定性	Pluronic F127-Rg ₃	粒径 (49.44±0.15) nm; 包封率 (96.47±1.92) %; 载药量 (4.59±0.05) %	小鼠乳腺癌 4T1β 细胞, 人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞	抑制肿瘤细胞增殖, 促进肿瘤细胞凋亡	46
		Rg ₃ -BS-PC-MMS	粒径为 20 nm; 包封率 (90.69±2.54) %; 载药量 (99.10±3.12) %	人黑色素瘤 A375 细胞	抑制肿瘤血管生成	47
聚合物纳米粒	由生物可降解性聚合物制备, 具有多种官能团	PLGA-Rg ₃	粒径为 97.5 nm; 包封率为 97.5%; 载药量为 70.2%	人表皮癌 A431 细胞	促进肿瘤细胞凋亡	48
		PEG-PLGA-20(R)-Rg ₃	—	Lewis 肺癌小鼠	抗肿瘤血管生成	49
		mPEG-bP (Glu-co-Phe)-20(S)-Rg ₃	粒径为 90 nm; 包封率 82.4%; 载药量 8.9%	结肠癌大鼠	抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡	50
		Angiopep-2 Rg ₃ -NP	粒径 (147.1±2.7) nm; 包封率 (80.6±3.0) %; 载药量 (27.2±1.4) %	胶质瘤 C6 细胞	抑制肿瘤细胞增殖	51
磁性纳米颗粒	纳米级磁性液体注入肿瘤目标区域并暴露于交变磁场, 以获得有效杀死癌细胞的温度, 而不损害正常组织的温度	20(S)-Rg ₃ -HSAMNP	粒径 (179.8±1.2) nm; 包封效率 70%; 载药量 1.3%	人宫颈癌 HeLa 细胞	促进肿瘤细胞凋亡	52
纳米微球	体积小, 易穿过组织间隙, 药物渗透性高, 释药缓慢, 靶向性好	SPG-Rg ₃ -HAS-NP	—	HeLa 细胞	抑制细胞生长	53
杂合纳米复合物	高渗透性滞留效应 (被动靶向) 和 HA 与 CD44 受体相互作用 (主动靶向) 促成 (S)-Rg ₃ 的肿瘤靶向递送; 脂质和细胞膜之间的相互作用改善细胞摄取效率并维持血流中的结构稳定性	HACE-EPC-DSPE-PEG-20(S)-Rg ₃	粒径 (99~184) nm; 包封率 87%~92%	A549 细胞	抑制肿瘤细胞活性	54

TF-转铁蛋白 RGD-精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 PTX-紫杉醇 PLGA-聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PEG-聚乙二醇 Glu-L-谷氨酸 Phe-苯丙氨酸 HSAMNP-人血清白蛋白磁性纳米颗粒 BS-胆汁盐 PC-磷脂酰胆碱 MMS-混合胶束系统 HACE-透明质酸-神经酰胺 DSPE-二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺 EPC-卵磷脂酰胆碱

TF-transferrin RGD-arginine-glycine-aspartic acid PTX-paclitaxel PLGA-poly(lactic-co-glycolic acid) PEG-polyethylene glycol Glu-L-glutamic acid Phe-phenylalanine HSAMNP-human serum albumin magnetic nanoparticles BS-bile salts PC-phosphatidyl choline MMS-mixed micelles HAC-hyaluronic acid-ceramide DSPE-distearoyl phosphoethanolamine EPC-egg phosphatidylcholine

后研究的重点。(4) 载药量低、药用载体种类少、生产成本高等问题也限制了 G-Rg₃ 纳米给药体系的工业化生产, 阻碍了临床使用和推广。(5) 同时, 纳米载体对于自然环境、生态系统的损害也是发展纳米药物需要考虑的问题。

参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J].

CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

- [2] Vesely M D, Kershaw M H, Schreiber R D, *et al.* Nature innate and adaptive immunity to cancer [J]. *Annu Rev Immunol*, 2011, doi: 10.1146/annurev-immunol-031210-101324.
- [3] Schreiber R D, Old L J, Smyth M J. Cancer immunoediting: Integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion [J]. *Science*, 2011, 331(6024): 1565-1570.
- [4] 吴普述魏. 神农本草经 [M]. 南宁: 广西科学技术出版

- 社, 2016.
- [5] Sun M, Ye Y, Xiao L, *et al.* Anticancer effects of ginsenoside Rg₃ (review) [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(3): 507-518.
- [6] Beatty G L, Gladney W L. Immune escape mechanisms as a guide for cancer immunotherapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(4): 687-692.
- [7] Bronte V, Mocellin S. Suppressive influences in the immune response to cancer [J]. *J Immunother*, 2009, 32(1): 1-11.
- [8] Ham S W, Kim J K, Jeon H Y, *et al.* Korean red ginseng extract inhibits glioblastoma propagation by blocking the Wnt signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, doi: 10.1016/j.jep.2019.03.031.
- [9] Tang Y C, Zhang Y, Zhou J, *et al.* Ginsenoside Rg₃ targets cancer stem cells and tumor angiogenesis to inhibit colorectal cancer progression *in vivo* [J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(1): 127-138.
- [10] Son K J, Choi K R, Lee S J, *et al.* Immunogenic cell death induced by ginsenoside Rg₃: Significance in dendritic cell-based anti-tumor immunotherapy [J]. *Immune Netw*, 2016, 16(1): 75-84.
- [11] Shin M S, Song J H, Choi P, *et al.* Stimulation of innate immune function by *Panax ginseng* after heat processing [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(18): 4652-4659.
- [12] Garg A D, Coulie P G, van den Eynde B J, *et al.* Integrating next-generation dendritic cell vaccines into the current cancer immunotherapy landscape [J]. *Trends Immunol*, 2017, 38(8): 577-593.
- [13] 刘永华, 谭树颖, 高瑞兰, 等. 人参皂苷 Rg₃ 对树突状细胞成熟及功能改变的影响 [J]. *中华全科医学*, 2016, 14(2): 191-193.
- [14] 王 英, 楼建国. 人参皂苷 Rg₃ 对 NK 细胞与 K562 细胞的结合率及毒性作用影响的实验研究 [J]. *中药材*, 2011, 34(8): 1270-1273.
- [15] Luo B, Que, Z J, Zhou, Z Y, *et al.* Feiji Recipe inhibits the growth of lung cancer by modulating T-cell immunity through indoleamine-2,3-dioxygenase pathway in an orthotopic implantation model [J]. *J Integr Med*, 2018, 16(4): 283-289.
- [16] 胡银英, 郭江梅, 黄艳琴, 等. 人参皂甙 Rg₃ 刺激淋巴细胞 CD4 上调以及对胃癌细胞 MKN-45 的杀伤作用 [J]. *实验与检验医学*, 2011, 29(1): 24-26.
- [17] 陈洪志, 罗花南, 权博源, 等. 人参皂苷 Rg₃ 对鼻咽癌放疗患者 CD 80/86 表达及细胞免疫功能的影响 [J]. *吉林中医药*, 2017, 37(12): 1211-1214.
- [18] 刘 迎, 陈妍心, 吴 谦, 等. 20(S/R)-人参皂苷 Rg₃ 的制备及调节 Th1/Th2 免疫失衡活性 [J]. *高等学校化学学报*, 2018, 39(11): 2419-2424.
- [19] Cho M, Choi G, Shim I, *et al.* Enhanced Rg₃ negatively regulates Th1 cell responses [J]. *J Ginseng Res*, 2019, 43(1): 49-57.
- [20] 何 斌, 钱立庭, 江 浩. 人参皂苷 Rg₃ 对鼻咽癌放疗患者细胞免疫功能的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2015, 50(9): 1293-1296.
- [21] Zhang W, Zhang Y, Ma X, *et al.* Effects of acupuncture Pishu combined with Ginsenoside Rg₃ on the immune function of rats with chronic fatigue [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(10): 19022-19029.
- [22] Lu P, Su W, Miao Z H, *et al.* Effect and mechanism of ginsenoside Rg₃ on postoperative life span of patients with non-small cell lung cancer [J]. *Chin J Integr Med*, 2008, 14(1): 33-36.
- [23] Kim Y J, Choi W I, Jeon B N, *et al.* Stereospecific effects of ginsenoside 20-Rg₃ inhibits TGF-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition and suppresses lung cancer migration, invasion and anoikis resistance [J]. *Toxicology*, 2014, doi: 10.1016/j.tox.2014.04.002.
- [24] Wu R, Ru Q, Chen L, *et al.* Stereospecificity of ginsenoside Rg₃ in the promotion of cellular immunity in hepatoma H22-bearing mice [J]. *J Food Sci*, 2014, 79(7): 1430-1435.
- [25] Choi Y J, Kang L J, Lee S G. Stimulation of DDX3 expression by ginsenoside Rg₃ through the Akt/p53 pathway activates the innate immune response via TBK1/IKKepsilon/IRF3 signalling [J]. *Curr Med Chem*, 2014, 21(8): 1050-1060.
- [26] Dai G, Sun B, Gong T, *et al.* Ginsenoside Rb₂ inhibits epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer cells by suppressing TGF-beta/Smad signaling [J]. *Phytomedicine*, 2019, doi: 10.1016/j.phymed.2018.10.025.
- [27] Hirata E, Sahai E. Tumor microenvironment and differential responses to therapy [J]. *CSH Perspect Med*, 2017, doi: 10.1016/j.heares.2017.02.012.
- [28] Li J, Liu T, Zhao L, *et al.* Ginsenoside 20(S) Rg₃ inhibits the Warburg effect through STAT3 pathways in ovarian cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(2): 775-781.
- [29] Zheng X, Zhou Y, Chen W, *et al.* Ginsenoside 20(S)-Rg₃ prevents PKM2-targeting miR-324-5p from H19 sponging to antagonize the warburg effect in ovarian cancer cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(3): 1340-1353.
- [30] Li X, Tsao J, Geng C, *et al.* Ginsenoside Rg₃ decreases nhe1 expression via inhibiting EGF-EGFR-ERK1/2-HIF-1 alpha pathway in hepatocellular carcinoma: A novel antitumor mechanism [J]. *Am J Chin Med*, 2018,

- 46(8): 1915-1931.
- [31] Ajdukovic J. HIF-1 α big chapter in the cancer tale [J]. *Exp Oncol*, 2016, 38(1): 9-12.
- [32] Iommarini L, Porcelli A M, Gasparre G, *et al.* Non-canonical mechanisms regulating hypoxia-inducible factor 1 α in cancer [J]. *Front Oncol*, 2017, doi: 10.3389/fonc.2017.00286.
- [33] Liu T, Zhao L, Zhang Y, *et al.* Ginsenoside 20(S)-Rg₃ targets HIF-1 α to block hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e103887.
- [34] Sin S, Kim S Y, Kim S S. Chronic treatment with ginsenoside Rg₃ induces Akt-dependent senescence in human glioma cells [J]. *Int J Oncol*, 2012, 41(5): 1669-1674.
- [35] Liu T, Zhao L, Hou H, *et al.* Ginsenoside 20(S)-Rg₃ suppresses ovarian cancer migration via hypoxia-inducible factor 1 α and nuclear factor- κ B signals [J]. *Tumour Biol*, 2017, doi: 10.1177/1010428317692225.
- [36] Chang L, Huo B, Lv Y, *et al.* Ginsenoside Rg₃ enhances the inhibitory effects of chemotherapy on esophageal squamous cell carcinoma in mice [J]. *Mol Clin Oncol*, 2014, 2(6): 1043-1046.
- [37] Ge X, Zhen F, Yang B, *et al.* Ginsenoside Rg₃ enhances radiosensitization of hypoxic oesophageal cancer cell lines through vascular endothelial growth factor and hypoxia inducible factor 1 α [J]. *J Int Med Res*, 2014, 42(3): 628-640.
- [38] Ahmmed B, Kampo S, Khan M, *et al.* Rg₃ inhibits gemcitabine-induced lung cancer cell invasiveness through ROS-dependent, NF- κ B-and HIF-1 α -mediated downregulation of PTX3 [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7): 1-18.
- [39] Fang J, Sawa T, Akaike T, *et al.* Tumor-targeted delivery of polyethylene glycol-conjugated D-amino acid oxidase for antitumor therapy via enzymatic generation of hydrogen peroxide [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(11): 3138-3143.
- [40] 秦飞, 陈丹, 庄玲萍, 等. 用于抗癌药物的纳米载药系统研究进展 [J]. *海峡药学*, 2018, 30(9): 1-4.
- [41] 叶菲菲, 代旸, 徐缓, 等. 人参皂苷 Rg₃ 脂质体的制备、表征及对黑色素瘤细胞的生长抑制作用 [J]. *中国新药杂志*, 2014, 23(21): 2542-2546.
- [42] 李华, 胡世林, 王海龙, 等. 转铁蛋白修饰共载阿霉素和 Rg₃ 脂质体靶向抑制胃癌细胞增殖 [J]. *中国生化药物杂志*, 2014(1): 9-13.
- [43] 魏志方, 毕丽丽, 鲍春媛. 转铁蛋白修饰共载紫杉醇和人参皂苷 Rg₃ 脂质体制备及其靶向性研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2014, 21(16): 1227-1231.
- [44] Yu H, Teng L, Meng Q, *et al.* Development of liposomal ginsenoside Rg₃: Formulation optimization and evaluation of its anticancer effects [J]. *Int J Pharm*, 2013, 450(1/2): 250-258.
- [45] 李军, 许洪亮, 华丽. RGD 修饰共载紫杉醇和 Rg₃ 脂质体的制备及其体外评价 [J]. *华西药学杂志*, 2014, 29(3): 251-253.
- [46] Li L, Ni J, Li M, *et al.* Ginsenoside Rg₃ micelles mitigate doxorubicin-induced cardiotoxicity and enhance its anticancer efficacy [J]. *Drug Deliv*, 2017, 24(1): 1617-1630.
- [47] Yu X, Xu H, Hu M, *et al.* Ginsenoside Rg₃ bile salt-phosphatidylcholine-based mixed micelles: Design, characterization, and evaluation [J]. *Chem Pharm Bull*, 2015, 63(5): 361-368.
- [48] Zhang S, Liu J, Ge B, *et al.* Enhanced antitumor activity in A431 cells via encapsulation of 20(R)-ginsenoside Rg₃ in PLGA nanoparticles [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2017, 43(10): 1734-1741.
- [49] 耿良, 范敬, 高启龙, 等. 人参皂苷 Rg₃ 和 PEG-PLGA-Rg₃ 纳米微粒对 Lewis 肺癌小鼠的作用及其机制 [J]. *北京大学学报: 医学版*, 2016, 48(3): 496-501.
- [50] Qiu R, Qian F, Wang X, *et al.* Targeted delivery of 20(S)-ginsenoside Rg₃-based polypeptide nanoparticles to treat colon cancer [J]. *Biomed Microdev*, 2019, 21(1): doi: 10.1007/s10544-019-0374-0.
- [51] Su X, Zhang D, Zhang H, *et al.* Preparation and characterization of angiopep-2 functionalized ginsenoside-Rg₃ loaded nanoparticles and the effect on C6 glioma cells [J]. *Pharm Dev Technol*, 2019, doi: 10.1080/10837450.2018.1551901.
- [52] Yang R, Chen D, Li M, *et al.* 20(S)-ginsenoside Rg₃-loaded magnetic human serum albumin nanospheres applied to HeLa cervical cancer cells *in vitro* [J]. *Biomed Mater Eng*, 2014, 24(6): 1991-1998.
- [53] 陈道桢, 王常在, 陈万瑛, 等. 载 20(S)-人参皂苷白蛋白纳米微球对人宫颈癌 Hela 细胞生长抑制作用研究 [J]. *中国实验诊断学*, 2013, 17(8): 1394-1397.
- [54] Lee J Y, Yang H, Yoon I S, *et al.* Nanocomplexes based on amphiphilic hyaluronic acid derivative and polyethylene glycol-lipid for ginsenoside Rg₃ delivery [J]. *J Pharm Sci*, 2014, 103(10): 3254-3262.
- [55] Natarajan J V, Nugraha C, Ng X W, *et al.* Sustained-release from nanocarriers: A review [J]. *J Control Release*, 2014: doi: 10.1016/j.jconrel.2014.05.029.