

三七总皂苷调控PI3K/Akt/mTOR通路对乳腺增生大鼠乳腺组织细胞凋亡的影响

巩子星, 徐翌, 刘远, 魏春绿, 任伊宁, 张丽, 王悦, 兴伟*
(河北省中医院, 石家庄 050000)

[摘要] **目的:**探究三七总皂苷对乳腺增生大鼠乳腺组织细胞凋亡的影响及调控机制。**方法:**将60只雌性未孕SD大鼠随机分为正常组、模型组、三七总皂苷低、中、高剂量(10、20、40 mg·kg⁻¹)组及三苯氧胺组(1.8 mg·kg⁻¹),每组10只。采用肌肉注射苯甲酸雌二醇和黄体酮构建乳腺增生大鼠模型。按照实验分组剂量进行灌胃给药。每日1次,连续30 d。正常组和模型组大鼠给予每日等量的生理盐水灌胃。给药结束后,游标卡尺测量大鼠第2对乳头直径;留取组织标本,苏木素-伊红(HE)染色观察乳腺组织病理形态变化;免疫组织化学法观察细胞凋亡调控蛋白Bcl-2相关X蛋白(Bax)、Bcl-2表达;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测磷酸化磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路相关蛋白表达。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠第2对乳头直径明显增大($P<0.05$),乳房小叶体积增大,腺泡数量增加,乳腺组织呈现弥散性增生,乳腺组织Bcl-2蛋白表达及磷酸化(p)-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR明显增加($P<0.05$),Bax表达明显降低($P<0.05$),与模型组比较,三七总皂苷低、中、高剂量组和三苯氧胺组大鼠第2对乳头直径明显减小($P<0.05$),乳腺小叶数量、腺泡数、分泌物量均较少,乳腺增生减轻,乳腺组织Bcl-2蛋白表达及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR明显降低($P<0.05$),Bax表达明显升高($P<0.05$)。**结论:**三七总皂苷能够改善大鼠乳腺增生,其机制与调控PI3K/Akt/mTOR通路,促进乳腺组织细胞凋亡有关。

[关键词] 三七总皂苷; 乳腺增生; 磷酸化磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; 凋亡; 大鼠

[中图分类号] R2-0;R33;R289;R655 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)02-0098-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20222236

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220908.0916.001.html>

[网络出版日期] 2022-09-08 12:25

Effect of Notoginseng Total Saponins on Apoptosis of Mammary Gland Cells in Rats with Mammary Gland Hyperplasia by Regulating PI3K/Akt/mTOR Pathway

GONG Zixing, XU Zhao, LIU Yuan, WEI Chunlyu, REN Yining, ZHANG Li, WANG Yue, XING Wei*
(Hebei Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect and regulatory mechanism of notoginseng total saponins on apoptosis of mammary gland cells in rats with mammary gland hyperplasia. **Method:** Sixty female non-pregnant SD rats were randomly divided into control group, model group, Notoginseng total saponins low-, medium- and high-dose (10, 20, 40 mg·kg⁻¹, respectively) groups and tamoxifen group (1.8 mg·kg⁻¹), 10 rats per group. Rat model of mammary gland hyperplasia was established by intramuscular injection of estradiol benzoate and progesterone. Oral administration was performed according to the experimental dose of each group, once a day for 30 consecutive days. The rats in the control group and the model group were given equal volume of normal saline by gavage every day. After administration, the diameter of the second pair of nipples of the rats was measured with vernier calipers, and breast tissue samples were collected and stained with hematoxylin and eosin

[收稿日期] 2022-06-06

[基金项目] 河北省中医药管理局科研计划项目(2018018)

[第一作者] 巩子星,在读硕士,从事中医普外科研究,E-mail:cgz198111@163.com

[通信作者] *兴伟,硕士,副主任医师,从事中医普外科研究,E-mail:35416429@qq.com

(HE) to observe the pathological changes. Immunohistochemistry was used to determine the expression of apoptosis regulators B-cell lymphoma-2 (Bcl-2)-associated X (Bax) and Bcl-2, and Western blot was conducted to detect the expression of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) signaling pathway-related proteins. **Result:** Compared with the control group, the model group had increased diameter of the second pair of nipples ($P<0.05$), elevated volume of mammary lobules and number of acinus, diffuse mammary gland hyperplasia, and up-regulated expression of Bcl-2 protein, increased ratio of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, p-mTOR/mTOR ($P<0.05$) and decreased expression of Bax in the mammary gland ($P<0.05$). Compared with the conditions in the model group, the diameter of the second pair of nipples of the rats in the notoginseng total saponins low-, medium- and high-dose groups and tamoxifen group was decreased ($P<0.05$), and the number of mammary lobules and acinus and the amount of secretions were reduced. In addition, the mammary gland hyperplasia was alleviated, and a decrease was observed in the expression of Bcl-2 protein and the ratio of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, p-mTOR/mTOR ($P<0.05$), and an increase in the expression of Bax ($P<0.05$). **Conclusion:** Notoginseng total saponins could improve mammary gland hyperplasia in rats, and its mechanism was related to regulating PI3K/Akt/mTOR pathway and promoting apoptosis of mammary gland cells.

[Keywords] notoginseng total saponins; mammary gland hyperplasia; phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR); apoptosis; rat

乳腺增生症是女性常见的乳腺良性疾病,主要表现为乳房胀痛和肿块,发病率占乳腺疾病的首位^[1]。现代医学认为,雌孕激素比例的失调诱发腺体增生和复旧不良是乳腺增生症发生的本质^[2]。中医学中属“乳癖”范畴,是以肝郁气滞、冲任失调,痰结阻于乳络所致^[3]。目前临床上有关乳腺增生症治疗多以药物为主,如三苯氧胺、中药复方制剂或颗粒等。研究证实西医对该病尚无理想的治疗方法,中医药通过以“散瘀止血、消肿止痛”对该病治疗具有一定临床优势^[4-5]。

三七总皂苷是三七的主要活性成分。研究证实三七总皂苷对化学性和热刺激性诱发的疼痛具有明显抑制作用^[6]。另外,三七总皂苷能够通过扩张血管,改善微循环,降低冠心病患者血小板聚集和黏附,发挥心脑血管保护作用^[7]。三七总皂苷除具有活血化瘀、止血镇痛之功效,还能够抑制肿瘤细胞生长、促进细胞凋亡^[8]。研究发现三七总皂苷能够促进乳腺癌细胞凋亡,抑制乳腺癌裸鼠肿瘤生长^[9]。多项研究已证实细胞凋亡与乳腺增生密切相关^[10-11],但是目前有关三七总皂苷对乳腺增生症细胞凋亡的影响尚不清楚。为此,本研究拟通过构建乳腺增生大鼠模型,观察三七总皂苷对乳腺增生大鼠细胞凋亡的影响,以期初步阐明其抗乳腺增生机制。

1 材料

1.1 动物 选取雌性未孕,清洁级,SD大鼠60只,

体质量(200±20.5)g,购买于上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证号SCXK(沪)2018-0009,适应性喂养1周,自由饮水,昼夜交替光照,温度维持在20~25℃,相对湿度60%~70%。动物实验符合3R原则,本实验通过河北中医学院动物实验伦理审查(伦理批号HBZY2019-KY-192-01)。

1.2 药物与试剂 三七总皂苷(成都埃法生物科技有限公司,质量分数90%,批号AF20033002);苯甲酸雌二醇注射液(宁波三生药业有限共公司,批号B131204);黄体酮注射液(吉林华牧有限公司,批号Z00302);他莫昔芬片(三苯氧胺,上海复旦复华药业有限公司,批号120502);苏木素-伊红(HE)检测试剂盒、二辛可酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒、显影液、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体、兔二抗、小鼠二抗(上海碧云天生物技术公司,批号分别为C0105M、P0012S、P0018FS、AF0003、A0277、A0286);免疫组化(IHC)试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号SP-9001);磷酸化磷脂酰肌醇3-激酶(p-PI3K)、PI3K、磷酸化蛋白激酶B(p-Akt)、Akt、磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)、mTOR抗体(美国Cell Signaling Technology公司,批号分别为17366、4255、4060、4691、5536、2972、89477、15071);B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)抗体(英国Abcam公司,批号分别为ab32124、ab53154)。

1.3 仪器 LP-5117型多功能酶标仪(长春乐谱科

技有限公司);CKX53型荧光倒置显微镜(日本Olympus公司);H3-18KR型高速冷冻离心机(湖南可成仪器设备有限公司);Gel Doc XR⁺型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);游标卡尺(杭州工具器具厂,精密度0.02 mm)。

2 方法

2.1 乳腺增生大鼠模型的制备 雌性未孕SD大鼠乳腺增生造模方法参照文献[12]方法,采用外源性苯甲酸雌二醇及黄体酮联合复制法,大鼠肌肉注射苯甲酸雌二醇注射液 $0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,每日1次,连续25 d,之后给予肌肉注射黄体酮注射液 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,每日1次,连续5 d。乳腺增生大鼠模型成功率100%。取第2对乳房乳腺行病理学检查,以判断模型成功与否。

2.2 分组及给药 实验SD大鼠随机分为正常组、模型组、三七总皂苷低、中、高剂量组、三苯氧胺组,每组10只。三七总皂苷溶液配制,将三七总皂苷100 mg溶于生理盐水中,溶液质量浓度为 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,按照每kg体质量给药7.2 mL。三七总皂苷低、中、高剂量组大鼠分别给予10、20、40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 溶液灌胃^[9];三苯氧胺组大鼠给予 $1.8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 三苯氧胺溶液灌胃(三苯氧胺按照 $1.8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 溶于6 mL的蒸馏水);正常组和模型组大鼠给予等体积生理盐水灌胃,每日1次,连续30 d。

2.3 乳头直径 各组大鼠于给药前及给药后,采用游标卡尺测量大鼠第2对乳头直径。

2.4 组织病理学检查 末次给药结束后3 d,各组大鼠同时处死,观察乳房形态,并剪取相同部分的乳房组织,采用4%的多聚甲醛固定组织24 h、石蜡包埋、切片,切片厚度 $3\sim 5\ \mu\text{m}$,乳房组织切片行HE染色观察病理形态变化。

2.5 IHC检测乳腺组织Bax、Bcl-2蛋白表达 按照2.3项取各组大鼠乳腺组织切片,经3% H_2O_2 溶液孵育10 min,85 °C抗原修复,加10%牛血清白蛋白(BSA)溶液封闭20 min;加Bax和Bcl-2兔单克隆抗体(工作液体积稀释比例为1:200),4 °C孵育过夜;加对应山羊抗兔二抗,室温孵育30 min;滴加二氨基联苯胺(DAB)显色液,于200倍视野下随机选取6个视野进行拍照,利用Image Pro Plus软件进行图像分析。通过图像分析软件和系统测定各组大鼠乳腺组织Bax、Bcl-2蛋白阳性表达面积及积分吸光度IA,以单位面积平均积分吸光度AA作为组织蛋白表达定量标准。

2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测乳腺组织PI3K/Akt/mTOR通路蛋白表达 取大鼠乳腺组织

裂加入RIPA解液后于冰上裂解40 min,期间每8 min涡旋1次;4 °C、 $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min(离心半径6 cm),吸取组织上清液;BCA法测定各组肺组织蛋白质浓度;蛋白上样(按照每孔上样量 $30\ \mu\text{g}$ 计算得出上样体积);凝胶电泳(80 V 30 min,120 V 60 min);湿转法转膜90 min;5% BSA室温封闭2 h;分别加p-PI3K一抗(1:500)、PI3K一抗(1:1 000)、p-Akt一抗(1:1 000)、Akt一抗(1:1 000)、p-mTOR一抗(1:1 000)、mTOR一抗(1:1 000)及 β -actin一抗(1:2 000),4 °C孵育过夜;加对应的山羊抗兔二抗或者山羊抗鼠二抗(1:5 000),室温孵育1~2 h;洗膜;滴加显影液,显影并拍照,采用Image Pro Plus 6.0软件进行蛋白表达量分析。

2.7 统计学分析 数据分析采用SPSS 20.0统计软件进行,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用F检验,组间两两比较采用t检验,以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠乳头直径的影响 与正常组比较,模型组大鼠乳头直径明显增大($P<0.05$);与模型组比较,三七总皂苷组和三苯氧胺组大鼠乳头直径明显降低($P<0.05$)。见表1。

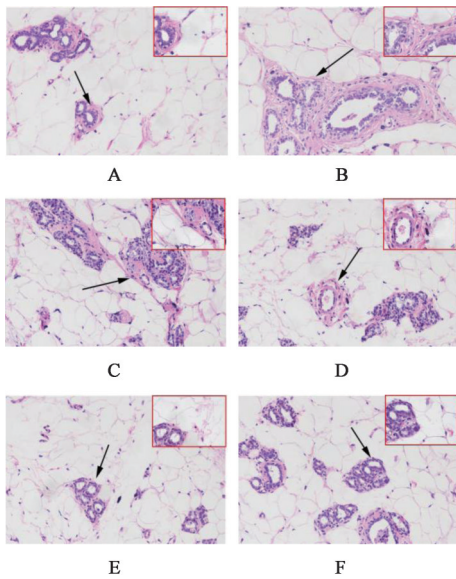
表1 三七总皂苷对大鼠乳头直径的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effect of notoginseng total saponins on diameter of rat nipple ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	给药后直径/mm
正常组		0.94 ± 0.06
模型组		$1.53\pm 0.10^{1)}$
三七总皂苷低剂量组	10	$1.40\pm 0.07^{2)}$
三七总皂苷中剂量组	20	$1.31\pm 0.11^{2)}$
三七总皂苷高剂量组	40	$1.25\pm 0.14^{2)}$
三苯氧胺组	1.8	$1.19\pm 0.13^{2)}$

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$ (表2和表3同)

3.2 对大鼠乳腺组织病理学变化的影响 正常组大鼠乳腺小叶稀疏分布,小叶内有腺泡,泡腔较小,且腺泡上皮细胞多呈柱状,无增生性病变。模型组大鼠乳腺组织小叶体积增大,腺泡数量增加,乳腺组织呈现弥散性增生。与模型组比较,三七总皂苷低、中、高剂量组和三苯氧胺组大鼠乳腺组织乳腺小叶体积减小,腺泡数量降低,泡腔变小,乳腺增生程度有明显改善。伴随三七总皂苷剂量增加,乳腺增生程度改善越明显。见图1。



注:A.正常组;B.模型组;C.三七总皂苷低剂量组;D.三七总皂苷中剂量组;E.三七总皂苷高剂量组;F.三苯氧胺组(图2-图4同)
图1 三七总皂苷对大鼠乳腺组织病理变化的影响(HE, ×200, ×400)

Fig. 1 Effect of notoginseng total saponins on pathological changes of rat mammary glands (HE, ×200, ×400)

3.3 对大鼠乳腺组织细胞凋亡的影响 与正常组比较,模型组大鼠乳腺组织 Bax 蛋白表达明显降低($P<0.05$), Bcl-2 表达明显增加($P<0.05$);与模型组比较,三七总皂苷组和三苯氧胺组大鼠乳腺组织 Bax 蛋白表达明显增加($P<0.05$), Bcl-2 表达明显降低($P<0.05$)。见图2和图3、表2。

3.4 对大鼠乳腺组织 PI3K/Akt/mTOR 通路蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠乳腺组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 和 p-mTOR/mTOR 均明显增加($P<0.05$);与模型组比较,三七总皂苷组和三苯氧胺组大鼠乳腺组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 和 p-mTOR/mTOR 均明显降低($P<0.05$)。见图4和表3。

4 讨论

乳腺增生症可发生于青春期后至绝经期前年龄段妇女,具有一定潜在的癌变风险。由于该疾病具有易复发、病程长等特点,严重的危害女性健康^[13-14]。因此提高乳腺增生治疗药物临床疗效,对于改善和预防乳腺癌的发生具有重大意义。中医药治疗乳腺增生在临床应用中日益广泛,具有明确的疗效,能够通过多方位、多靶点发挥作用。

中药三七活性成分三七总皂苷具有活血化瘀、消肿止痛等功效^[15]。为此本研究通过大鼠肌肉注射苯甲酸雌二醇和黄体酮成功构建乳腺增生模型,

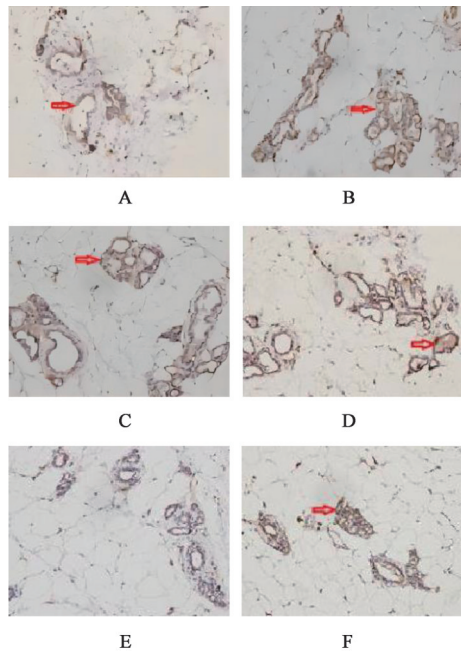


图2 三七总皂苷对大鼠乳腺组织 Bcl-2 蛋白表达的影响(IHC, ×200)

Fig. 2 Effect of notoginseng total saponins on expression of Bcl-2 protein in rat mammary glands (IHC, ×200)

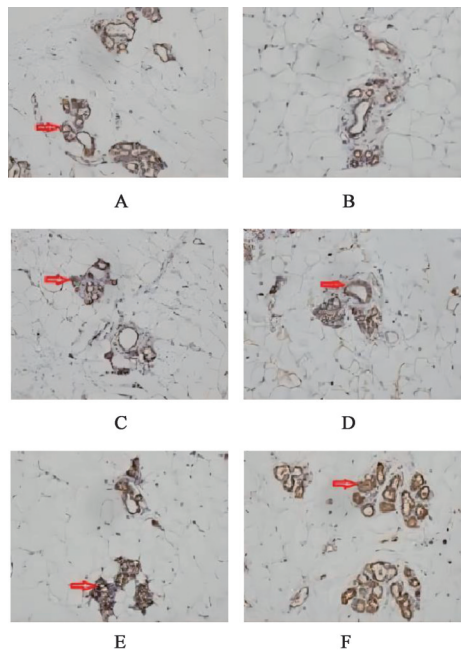


图3 三七总皂苷对大鼠乳腺组织 Bax 蛋白表达的影响(IHC, ×200)

Fig. 3 Effect of notoginseng total saponins on expression of Bcl-2 protein in rat mammary glands (IHC, ×200)

观察三七总皂苷的药理效应及作用机制。结果显示三七总皂苷能够减小大鼠乳头直径、乳腺小叶体积,降低腺泡数量,改善乳腺增生。表明三七总皂苷对大鼠乳腺增生具有良好治疗作用。研究证实乳腺增生发病机制复杂,乳腺细胞凋亡及其相关基

表2 三七总皂苷对大鼠乳腺组织 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of notoginseng total saponins on expression of Bax and Bcl-2 proteins in rat mammary glands ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	Bax	Bcl-2
正常组		0.241±0.004	0.310±0.008
模型组		0.068±0.005 ¹⁾	0.694±0.010 ¹⁾
三七总皂苷低剂量组	10	0.223±0.007 ²⁾	0.341±0.012 ²⁾
三七总皂苷中剂量组	20	0.436±0.009 ²⁾	0.162±0.010 ²⁾
三七总皂苷高剂量组	40	0.560±0.010 ²⁾	0.084±0.007 ²⁾
三苯氧胺组	1.8	0.572±0.009 ²⁾	0.103±0.008 ²⁾

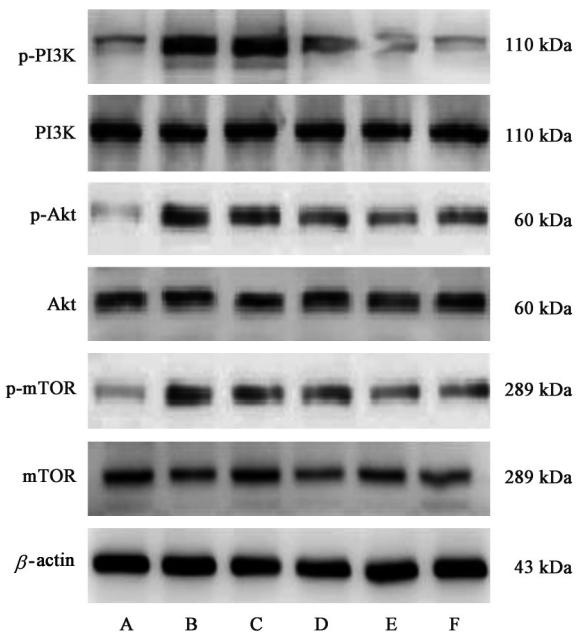


图4 大鼠乳腺组织 PI3K/Akt/mTOR 通路蛋白表达电泳

Fig. 4 Electrophoresis of PI3K/Akt/mTOR pathway protein expression in rat mammary gland

因表达改变已成为乳腺增生症研究的热点^[16]。细胞凋亡是细胞主动性程序性死亡,对于维持机体正常生长发育、内环境稳态具有重要作用。正常生理状态下,机体内细胞凋亡与细胞增殖处于动态平

衡。研究发现在乳腺增生症的发病前期、疾病加重过程及乳腺癌变中存在乳腺细胞的过度增殖及细胞凋亡减弱^[17]。因此,通过中医药调节乳腺细胞凋亡对于乳腺增生症的进展具有重要意义。Bax 和 Bcl-2 是 Bcl-2 基因家族成员,两者共同调节细胞凋亡^[18]。研究证实在乳腺增生大鼠模型中乳腺组织 Bax 表达降低, Bcl-2 表达增加,中药回乳抑增一号能够通过上调 Bax 表达,下调 Bcl-2 表达,促进细胞凋亡,改善乳腺增生^[19]。本研究通过给予三七总皂苷低、中、高剂量,观察三七总皂苷对乳腺细胞凋亡的影响。结果显示三七总皂苷能够上调 Bax 表达,下调 Bcl-2 表达,表明其可能通过影响细胞凋亡,改善乳腺增生大鼠疾病进程。但是有关三七总皂苷对乳腺增生大鼠细胞凋亡的调控机制尚不清楚。PI3K/Akt/mTOR 信号通路与细胞增殖和凋亡密切相关^[20]。其中 PI3K 作为该通路的起始因子,活化后产生的第二信使 PIP3 能够进一步促使下游 Akt 蛋白发生磷酸化,活化的 Akt 激活下游 mTOR 基因并使之发生磷酸化,进而调控下游基因转录和表达,并最终抑制细胞凋亡,促进细胞生长^[21-22]。研究发现在乳腺癌细胞中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路被活化,促进细胞增殖,减弱细胞凋亡^[23]。因此,以 PI3K/Akt/mTOR 信号通路为作用靶点的中药或是抑制剂已经成为研究热点。新近研究证实三七总皂苷能够通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号,促进乳腺癌细胞凋亡,发挥抗肿瘤作用^[24-25]。本研究结果显示,与正常组比较,模型组乳腺组织 PI3K/Akt/mTOR 通路蛋白及其磷酸化蛋白水平升高。与模型组比较,三七总皂苷低、中、高剂量组大鼠乳腺组织 PI3K/Akt/mTOR 通路蛋白及其磷酸化水平降低。

综上所述,通过探究三七总皂苷对乳腺增生大鼠乳腺组织细胞凋亡的影响及调控机制,结果显示三七总皂苷能够改善大鼠乳腺增生,其机制与调控 PI3K/Akt/mTOR 通路,促进乳腺组织细胞凋亡有

表3 三七总皂苷对大鼠乳腺组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Effect of notoginseng total saponins on expression of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, p-mTOR/mTOR proteins in rat mammary glands ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-mTOR/mTOR
正常组		0.20±0.05	0.15±0.05	0.11±0.03
模型组		1.05±0.14 ¹⁾	0.68±0.10 ¹⁾	0.75±0.10 ¹⁾
三七总皂苷低剂量组	10	0.80±0.10 ²⁾	0.46±0.08 ²⁾	0.60±0.08 ²⁾
三七总皂苷中剂量组	20	0.50±0.08 ²⁾	0.41±0.06 ²⁾	0.40±0.06 ²⁾
三七总皂苷高剂量组	40	0.35±0.06 ²⁾	0.23±0.06 ²⁾	0.31±0.05 ²⁾
三苯氧胺组	1.8	0.27±0.05 ²⁾	0.25±0.07 ²⁾	0.27±0.06 ²⁾

关。以上研究为三七总皂苷用于临床治疗乳腺增生症提供了可靠实验依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] MA M, ZHANG L, WANG X. Effect of auricular point pressing therapy on hyperplasia of mammary glands: A protocol for systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(13): e24875.
- [2] LIU J, ZHANG J F, GONG G H, et al. Therapeutic effect of mongolian medicine RuXian- I on hyperplasia of mammary gland induced by estrogen/progesterone through CRYAB-promoted apoptosis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 5707106.
- [3] 梁欢, 张董晓, 孙宇建, 等. 中医药补肾疏肝法治疗乳腺增生症的临床研究[J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(12): 2946-2949.
- [4] 李军梅, 刘建勋, 邢泽田, 等. 乳结消颗粒对肝郁气滞型乳腺增生模型大鼠的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(6): 627-636.
- [5] 黄海云, 刘斌澍, 高进贤, 等. 人参皂苷Rd对乳腺增生及伴发疼痛的治疗作用及机制研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2020, 40(7): 786-790.
- [6] 刘荣东. 三七总皂苷注射剂缓解老年人躯体疼痛的机理探究[J]. *中医研究*, 2010, 23(2): 15-18.
- [7] 靳朴, 武杰. 三七总皂苷在心血管疾病中的研究进展[J]. *中国心血管杂志*, 2018, 23(6): 527-530.
- [8] HAWTHORNE B, LUND K, FREGGIARO S, et al. The mechanism of the cytotoxic effect of *Panax notoginseng* extracts on prostate cancer cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 149: 112887.
- [9] 陆慧敏, 孙文熙, 霍晨星, 等. 基于MEKK1/SEK1/JNK1/AP-1通路探讨三七总皂苷对4T1乳腺癌荷瘤小鼠肿瘤模型的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(24): 75-81.
- [10] ZHANG J F, LIU J, GONG G H, et al. Mongolian medicine RuXian- I treatment of estrogen-induced mammary gland hyperplasia in rats related to TCTP regulating apoptosis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 1907263.
- [11] 刘景楠, 赵敏, 吴平安, 等. 西黄丸对大鼠乳腺上皮细胞凋亡及ER、PR表达的影响[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(5): 710-715.
- [12] 魏谭军, 梁源, 王毅, 等. 理气散结颗粒对大鼠乳腺增生的影响[J]. *中成药*, 2019, 41(2): 304-309.
- [13] 谷丽艳, 易佳丽, 樊延宏, 等. 中医药疗法治疗乳腺增生研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2014, 16(1): 173-176.
- [14] GAO H, YANG C, FAN J, et al. Hereditary and breastfeeding factors are positively associated with the aetiology of mammary gland hyperplasia: A case-control study[J]. *Int Health*, 2021, 13(3): 240-247.
- [15] 宋侠. 三七皂苷药理作用研究进展[J]. *中国现代药物应用*, 2017, 11(14): 174-175.
- [16] 姚玲莉, 王金秋, 叶丹, 等. 夏枯草颗粒对乳腺增生模型大鼠增生乳腺组织Bcl-2、Bax、PCNA蛋白表达的影响[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2022, 32(2): 104-109.
- [17] 王莘, 李丽, 张婷婷. 加味当归芍药散对乳腺增生大鼠乳腺上皮细胞凋亡和Bcl-2表达的影响[J]. *福建中医药大学学报*, 2014, 24(6): 23-25.
- [18] PEÑA-BLANCO A, GARCÍA-SÁEZ A J. Bax, Bak and beyond-mitochondrial performance in apoptosis [J]. *FEBS J*, 2018, 285(3): 416-431.
- [19] 孟军华, 安靖, 王雄, 等. 回乳抑增一号对乳腺增生大鼠激素受体及细胞增殖、凋亡的影响[J]. *中成药*, 2021, 43(6): 1457-1461.
- [20] SUN E J, WANKELL M, PALAMUTHUSINGAM P, et al. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(11): 1639.
- [21] XU F, NA L, LI Y, et al. Roles of the PI3K/Akt/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours [J]. *Cell Biosci*, 2020, 10(1): 54.
- [22] 赵宏宇, 王玉, 孙雪缘, 等. 基于PI3K/Akt信号通路探讨哈蟆油对卵泡发育作用的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(21): 121-130.
- [23] DU L, LI X, ZHEN L, et al. Everolimus inhibits breast cancer cell growth through PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5): 7163-7169.
- [24] 李艳玲, 丁煌, 杨芙蓉, 等. 黄芪甲苷配伍三七总皂苷对脑缺血大鼠BMSCs移植后血管新生的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(21): 73-79.
- [25] 吴珊珊, 杨宝丽, 关慧. 三七总皂苷联合三苯氧胺对人乳腺癌细胞的抑制作用及对PI3K-Akt-mTOR信号通路的影响[J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(6): 84-89.

[责任编辑 孙丛丛]