DOI:10.16016/j.2097-0927.202311142

麦冬皂苷 B 调节 Rho A/ROCK1 信号通路对胃荷瘤大鼠肿瘤生长的抑制作用

徐明星,李子银,姜红梅 430074 武汉,武汉市第三医院消化内科

[摘要] **目的** 探讨麦冬皂苷 B(ophiopogonin B,OP-B)对胃荷瘤大鼠肿瘤生长的影响及其作用机制。**方法** 将 66 只体质量为 180~200 g 的 6 周龄 SPF 级 SD 大鼠(雌雄各半)按随机数字表法分为模型组,OP-B 低、中、高剂量组,激活剂组,每组 10 只。采用原位移植 Walker-256 肿瘤组织建立胃荷瘤模型,OP-B 低、中、高剂量组大鼠分别灌胃 17.5、35、70 mg/kg 的 OP-B 并腹腔注射等量生理盐水,激活剂组灌胃 70 mg/kg 的 OP-B 并腹腔注射 1 mg/kg 的 Rho A/ROCK1 信号通路激活剂溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid,LPA),模型组灌胃和腹腔注射等量的生理盐水;记录移植瘤质量及体积,计算抑瘤率;苏木精-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色观察肿瘤组织形态;原位末端转移酶标记技术(TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling,TUNEL)染色检测肿瘤组织细胞凋亡;免疫组织化学染色检测肿瘤组织细胞核增殖抗原 67(proliferating cell nuclear antigen,Ki-67)、切割型半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶-3(cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase-3,Cleaved Caspase-3)表达;实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction,RT-qPCR)法检测 Ras 同源基因家族蛋白 A(Ras homologous gene family member A,Rho A)、Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 1(Rho-associated coiled-coil forming protein kinase1,ROCK1)的表达;Western blot 检测 Rho A、ROCK1 蛋白表达。**结果** 与模型组比较,OP-B 低、中、高剂量组肿瘤质量和体积、Ki-67 阳性率及 Rho A、ROCK1 mRNA 和蛋白表达显著降低,抑瘤率、肿瘤细胞凋亡率、Cleaved Caspase-3 阳性率显著升高($P<0.05$);与 OP-B 高剂量组比较,激活剂组肿瘤质量和体积、Ki-67 阳性率及 Rho A、ROCK1 mRNA 和蛋白表达显著升高,抑瘤率、肿瘤细胞凋亡率、Cleaved Caspase-3 阳性率显著降低($P<0.05$)。**结论** OP-B 可能通过抑制 Rho A/ROCK1 信号通路的激活,抑制胃荷瘤大鼠肿瘤生长。

[关键词] 胃癌;麦冬皂苷 B;Ras 同源基因家族蛋白 A/Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 1 信号通路;增殖;凋亡

[中图法分类号] R285.5;R73-361;R735.2 [文献标志码] A

Inhibitory effect of ophiopogonin B on tumor growth in gastric tumor-bearing rats by regulating Rho A/ROCK1 signaling pathway

XU Mingxing, LI Ziyin, JIANG Hongmei Department of Gastroenterology, Wuhan Third Hospital, Wuhan, Hubei Province, 430074, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of ophiopogonin B (OP-B) on tumor growth in gastric tumor-bearing rats and its underlying mechanism. **Methods** Sixty-six SPF SD rats (half male and female, 6 weeks old, 180~200 g) were randomly divided into model group, low-, medium- and high-dose OP-B groups, and activator group, with 10 rats in each group. The gastric tumor-bearing model was established by orthotopic transplantation of Walker-256 tumor tissue. The rats in the 3 doses groups were given 17.5, 35 and 70 mg/kg OP-B, respectively, by gavage and intraperitoneal injection of the same amount of

[基金项目] 2021 年度科学研究计划指导性项目(B2021181)

[通信作者] 姜红梅,E-mail:jianghmzb@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

normal saline, and the rats in the activator group were intragastrically administered with 70 mg/kg OP-B and intraperitoneally injected with 1 mg/kg Rho A/ROCK1 signaling pathway activator, lysophosphatidic acid (LPA). The weight and volume of transplanted tumor were recorded to calculate the tumor inhibitory rate. The morphology of tumor tissue was observed with HE staining. The apoptosis of tumor cells were detected by TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) staining. The expression of proliferating cell nuclear antigen 67 (Ki-67) and cleavage cysteine aspartic acid proteolytic enzyme-3 (Cleaved Caspase-3) in tumor tissues were detected by immunohistochemical staining. RT-qPCR and Western blotting were utilized to measure the expression of Ras homologous gene family member A (Rho A) and Rho-associated coiled-coil forming protein kinase1(ROCK1) at mRNA and protein levels. **Results** Compared with the model group, the tumor weight and volume, mRNA and protein levels of Ki-67, Rho A and ROCK1 were significantly decreased, and the tumor inhibitory rate, tumor cell apoptotic rate and Cleaved Caspase-3 protein level were obviously increased in the low-, medium- and high-dose OP-B groups ($P<0.05$). The activator group had heavier tumor weight and larger volume, increased mRNA and protein expression levels of Ki-67, Rho A and ROCK1, and lower tumor inhibitory rate and apoptotic rate and reduced Cleaved Caspase-3 expression when compared with the high-dose OP-B group ($P<0.05$). **Conclusion** OP-B may suppress the tumor growth of gastric tumor-bearing rats by inhibiting the activation of Rho A/ROCK1 signaling pathway.

[**Key words**] gastric cancer; ophiopogonin B; Rho A/ROCK1 signaling pathway; proliferation; apoptosis

Supported by the Guiding Projects for the 2021 Scientific Research Plan (B2021181). Corresponding author: JIANG Hongmei, E-mail:jianghmzb@163.com

胃癌(gastric cancer,GC)是第五大常见癌症,也是癌症相关死亡的主要原因[1]。尽管术后接受放疗、化疗和靶向治疗可提高患者生存率,但晚期 GC 患者的总生存率仍然较低[2]。因此,深入研究 GC 发展机制以及探索新的治疗药物对改善患者预后有重要意义。

麦冬皂苷 B(ophiopogonin B,OP-B)是一种皂苷化合物,对肺癌、鼻咽癌等多种癌症具有抑制作用,可减轻肺癌细胞对顺铂的耐药性[3],也可抑制非小细胞肺癌[4]、鼻咽癌[5]的发生发展。ZHANG 等[6]研究表明,OP-B 通过阻断谷胱甘肽过氧化物酶 4/谷氨酸胱氨酸转运体通路诱导 GC 细胞的铁死亡,但 OP-B 抑制 GC 发展的其他作用机制尚需进一步的研究。

Ras 同源基因家族蛋白 A(Ras homologous gene family member A,Rho A)/Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 1(Rho-associated coiled-coil forming protein kinase,ROCK1)信号通路参与细胞迁移、增殖、细胞极性和细胞周期等多种细胞生物学进程。研究发现,Rho A、ROCK1 在 GC 组织中高表达,抑制 Rho A/ROCK1 通路的激活可抑制 GC 肿瘤生长及转移[7-8],但 OP-B 能否通过调节 Rho A/ROCK1 信号通路抑制胃荷瘤大鼠肿瘤生长尚不清楚。因此,本实验采用原位移植 Walker-256 肿瘤组织建立胃荷瘤大鼠模型,探索 OP-B 对肿瘤生长的影响及潜在作用机制,以期为临床胃癌诊治工作提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

共 66 只 6 周龄 SPF 级 SD 大鼠(雌雄各半)购于武汉大学动物实验中心[生产许可证号:SCXK(鄂)2019-0004],体质量 180~200 g。饲养条件:18~22 ℃,光照/黑暗循环为 12 h,自由摄食、饮水,适应性喂养 1 周。本研究已通过本院实验动物伦理委员会审批(2022-191)。

1.2 主要试剂与仪器

OP-B 购自上海金穗生物科技有限公司;Rho A/ROCK1 信号通路激活剂溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid,LPA)购自美国 sigma 公司;原位末端转移酶标记技术(TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling,TUNEL)细胞凋亡检测试剂盒、苏木精-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司;兔源一抗细胞核增殖抗原 67(proliferating cell nuclear antigen,Ki-67)、切割型半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶-3(cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase-3,Cleaved Caspase-3)、Rho A、ROCK1、GAPDH 抗体及 HRP 标记的抗兔二抗 IgG 购自美国 Abcam 公司;Rho A、ROCK1 引物购于北京擎科生物科技有限公司;qPCR 试剂盒购自北京 Solarbio 公司;RNA 提取试剂盒购自上海联硕生物科技有限公

司;反转录试剂盒购自上海信帆生物科技有限公司;蛋白提取试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;光学显微镜购自日本 olympus 公司;切片机购自上海玉研科学仪器有限公司;实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)仪购自美国 ABI 公司;电泳仪购自美国 biorad 公司;Walker-256 肿瘤细胞购自美国 ATCC 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 模型构建及干预 原位移植 Walker-256 肿瘤组织建立胃荷瘤模型,造模方法参考文献[9]。于 3 只大鼠腹腔内注射 Walker-256 细胞悬液(2×10^7/mL) 0.3 mL,1 周后以过量麻醉处死大鼠,收集腹水 Walker-256 细胞。于 3 只大鼠左、右前腋注射 0.2 mL 的腹水,1 周后以过量麻醉处死大鼠,分离瘤体,将瘤块(0.8 cm×0.8 cm×0.5 cm)缝于 60 只大鼠胃壁(胃大弯皮区、腺区交界处)。1 周后抽取 10 只大鼠以过量麻醉处死,解剖并进行观察,如胃壁处瘤体直径>1 cm、表面光滑,无黏连、无明显脏器侵犯则视为造模成功。抽取的 10 只大鼠全部造模成功,抽查建模成功率 100%。将剩余 50 只大鼠按照随机数字表法分为模型组、OP-B 低、中、高剂量组、激活剂组,每组 10 只。DMSO 溶解 OP-B 后,生理盐水进行稀释,OP-B 低、中、高剂量组大鼠分别以 17.5、35、70 mg/kg 的 OP-B 灌胃[6],并腹腔注射等体积生理盐水,模型组大鼠灌胃并腹腔注射等体积的生理盐水,激活剂组大鼠灌胃 70 mg/kg 的 OP-B 并腹腔注射 1 mg/kg 的 Rho A/ROCK1 信号通路激活剂(lysophosphatidic acid, LPA)[10]。每组大鼠每天给药 1 次,连续 21 d。

1.3.2 裸鼠的肿瘤质量及移植瘤体积测定 最后一次给药 24 h 后,以过量麻醉处死 50 只大鼠并分离肿瘤,测量肿瘤质量与体积,并计算抑瘤率[抑瘤率=(模型组平均瘤重-各组平均肿瘤质量)/模型组平均瘤重×100%]。

1.3.3 HE 染色观察瘤组织形态 每组各选取 5 个肿瘤组织固定在 4%多聚甲醛中,使用石蜡包埋。将肿瘤组织切割成 4 μm 薄片,脱蜡后对切片进行 HE 染色。在光学显微镜下观察细胞形态和肿瘤组织结构。

1.3.4 TUNEL 染色检测凋亡 将 1.3.3 中的肿瘤切片用 3 %双氧水孵育 10 min,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次。严格按照 TUNEL 试剂盒说明书加反应液。DAB 染色后,切片用梯度醇脱水,用二甲苯透明,用中性胶密封。在显微镜下观察细胞凋亡的变化,并计算细胞凋亡率(细胞凋亡率=凋亡肿瘤细胞数/肿瘤细胞总数×100%)。

1.3.5 免疫组织化学染色法检测 Ki-67、Cleaved Caspase-3 的蛋白表达 将 1.3.3 中肿瘤切片封闭和透化处理后,使用 1∶1 000 稀释的抗 Ki-67、Cleaved Caspase-3 抗体孵育过夜,在室温下与 HRP 标记的二抗 IgG(1∶1 000)孵育 1 h,DAB 溶液孵育 3~15 min,使用光学显微镜拍摄图像,黄色细胞被视为阳性细胞。使用 Image pro Plus 6.0 软件分析阳性细胞率。

1.3.6 RT-qPCR 法检测 Rho A、ROCK1 的表达 使用 TRIzol 试剂分离提取剩余瘤组织总 RNA,按照试剂盒说明书合成 cDNA、配置反应体系,扩增目的 RNA,选择 GAPDH 作为内参。反应条件:预变性(95 ℃ 2 min),变性(95 ℃ 30 s),退火(60 ℃ 30 s),延伸(72 ℃ 20 s),42 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达水平。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5′→3′)
Rho A	上游:AGGACCAGTTCCCAGAGGTT
	下游:ACTATCAGGGCTGTCGATTGG
*ROCK*1	上游:CGACCTGTAACCCAAGGAGA
	下游:TCTCCACTTTGCCACTGCAA
GAPDH	上游:CTTTGGTATCGTGGAAGGACTC
	下游:GTAGAGGCAGGGATGATGTTC

1.3.7 Western blot 法检测 Rho A、ROCK1 蛋白表达 利用 RIPA 缓冲液提取瘤组织的总蛋白,经 BCA 蛋白质测定试剂盒定量、SDS-PAGE 电泳、转 PVDF 膜,5%脱脂奶粉封闭后,一抗 Rho A(1∶1 000)、ROCK1(1∶1 000)、GAPDH(1∶2 000)4 ℃孵育过夜,按照 1∶1 000 稀释 HRP 标记的二抗 IgG(1∶2 000)室温孵育 90 min,使用化学发光成像系统显影,以 GAPDH 为内参,Image J 软件分析各条带灰度值,计算各蛋白表达。

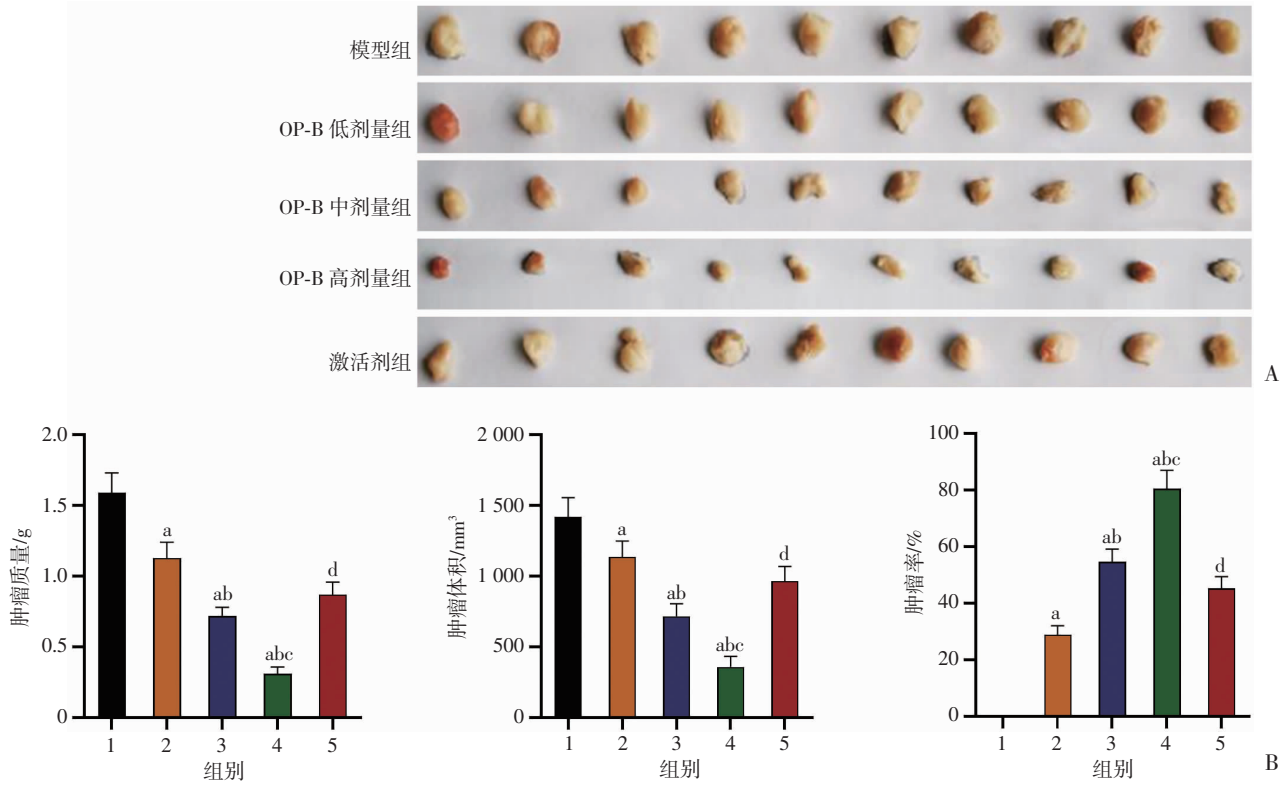
1.4 统计与分析

GraphPad Prism 7.0 软件用于分析数据。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示。单因素方差分析用于多组间的比较,进一步两组间的比较采用 SNK-q 检验。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 OP-B 对肿瘤生长的影响

与模型组比较,OP-B 低、中、高剂量组肿瘤质量和体积显著降低,抑瘤率升高($P<0.05$);与 OP-B 高剂量组比较,激活剂组肿瘤质量和体积显著升高,抑瘤率降低($P<0.05$),见图 1。



A: 各组大鼠在末次给药 24 h 后的肿瘤生长情况,B: 各组大鼠在末次给药 24 h 后的肿瘤质量、体积、抑瘤率比较 1:模型组;2:OP-B 低剂量组;3:OP-B 中剂量组;4:OP-B 高剂量组;5:激活剂组;a:$P<0.05$,与模型组比较;b:$P<0.05$,与 OP-B 低剂量组比较;c:$P<0.05$,与 OP-B 中剂量组比较;d:$P<0.05$,与 OP-B 高剂量组比较

图 1 各组大鼠肿瘤生长情况及肿瘤质量、体积、抑瘤率比较

2.2 OP-B 对肿瘤组织形态的影响

模型组肿瘤细胞生长活跃、生长密集,异型核较多,核仁明显且核染色较深;与模型组比较,OP-B 低、中、高剂量组肿瘤细胞排列不规则、出现坏死,异型核减少;与 OP-B 高剂量组比较,激活剂组肿瘤细胞生长状态得到恢复,核质粗、深染,见图 2。

2.3 OP-B 对肿瘤组织细胞凋亡的影响

与模型组比较,OP-B 低、中、高剂量组肿瘤组织中染成棕褐色的细胞增多,肿瘤细胞凋亡率显著升高,其中 OP-B 高剂量组肿瘤细胞凋亡率升高最为明显($P<0.05$);与 OP-B 高剂量组比较,激活剂组肿瘤组织中染成棕褐色的细胞减少,肿瘤细胞凋亡率显著降低($P<0.05$),见图 3。

2.4 OP-B 对 Ki-67、Cleaved Caspase-3 蛋白表达的影响

免疫组化结果显示,Ki-67、Cleaved Caspase-3 阳性细胞呈黄色,与模型组比较,OP-B 低、中、高剂量组肿瘤组织中 Ki-67 阳性率显著降低,Cleaved Caspase-3 阳性率显著升高,其中 OP-B 高剂量组 Ki-67、Cleaved Caspase-3 率变化最为明显($P<0.05$);与 OP-B 高剂量组比较,激活剂组肿瘤组织中 Ki-67 阳性率显著升高,Cleaved Caspase-3 阳性率显著降低($P<0.05$),见图 4。

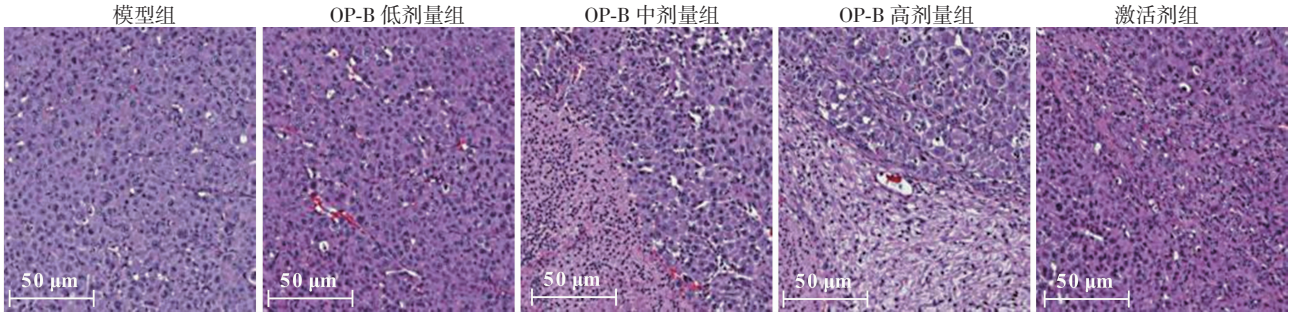
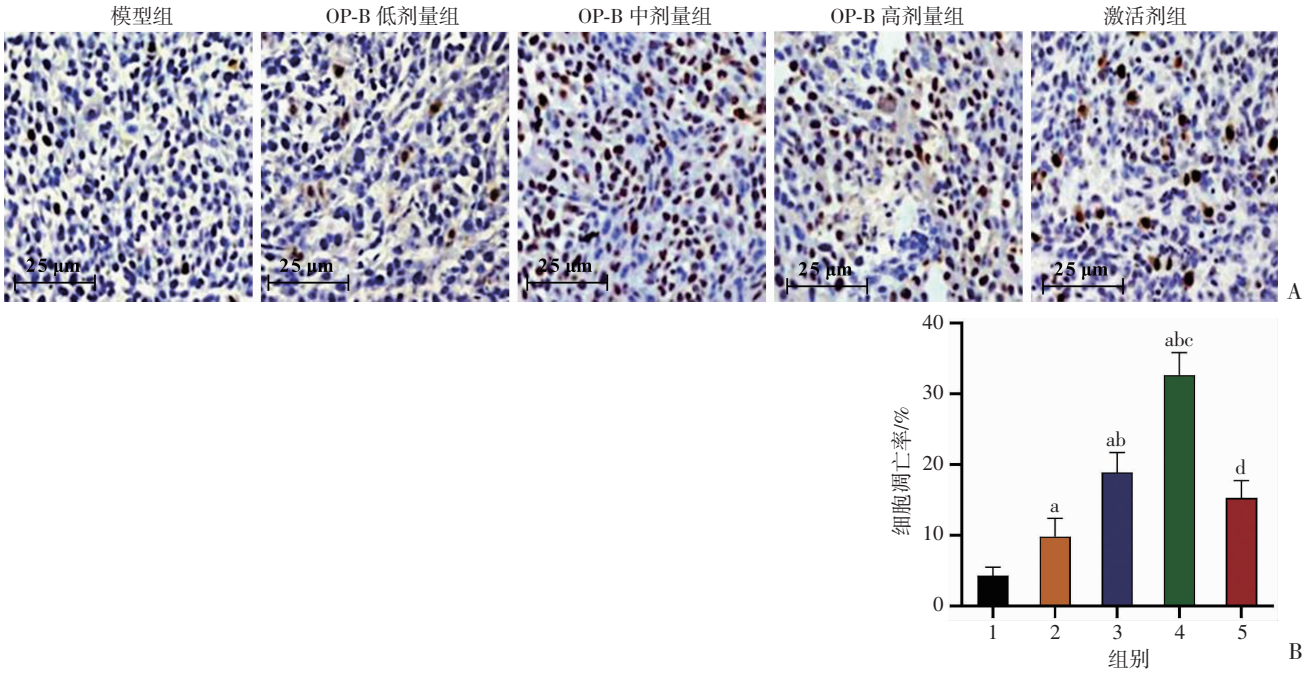
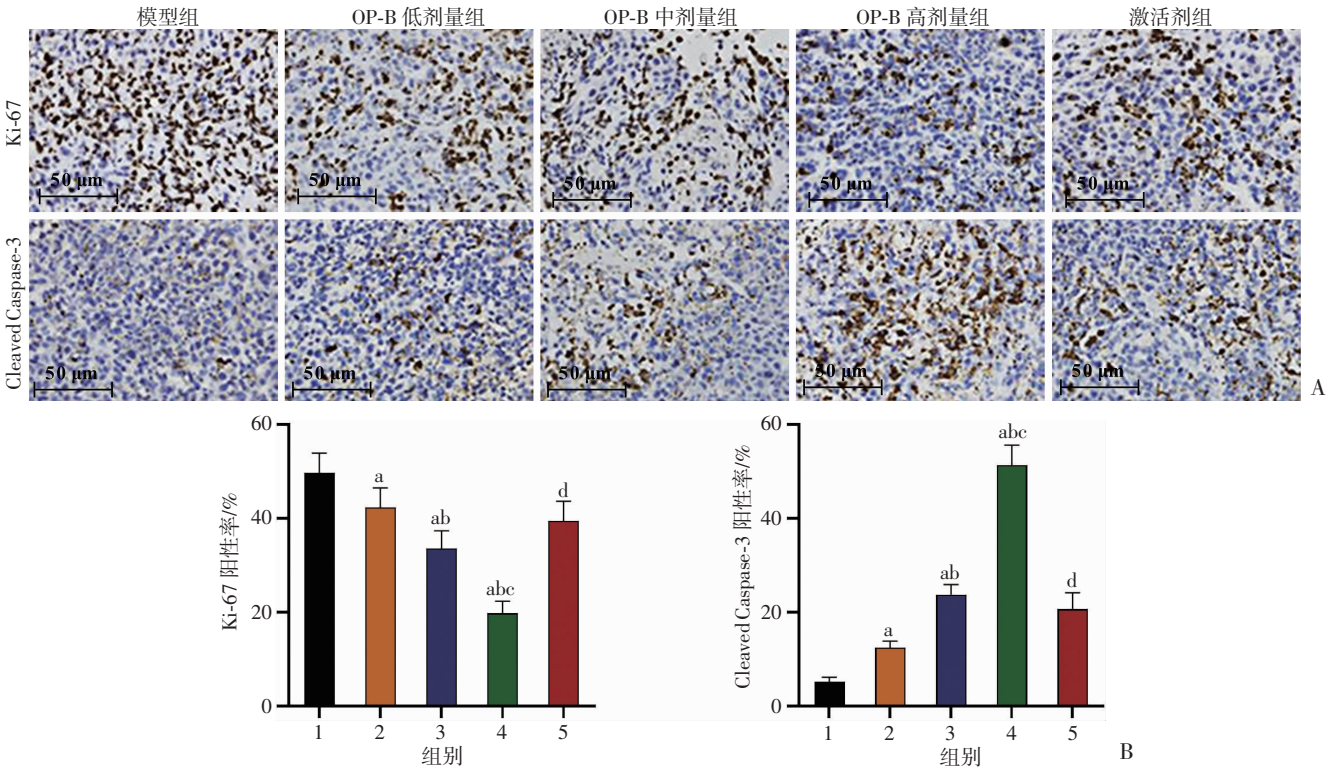


图 2 HE 染色检测各组肿瘤组织细胞形态



A:各组肿瘤组织 TUNEL 染色结果;B:各组肿瘤组织细胞凋亡率比较　1:模型组;2:OP-B 低剂量组;3:OP-B 中剂量组;4:OP-B 高剂量组;5:激活剂组;a:$P<0.05$,与模型组比较;b:$P<0.05$,与 OP-B 低剂量组比较;c:$P<0.05$,与 OP-B 中剂量组比较;d:$P<0.05$,与 OP-B 高剂量组比较

图 3　各组肿瘤组织 TUNEL 染色结果及细胞凋亡率比较



A:各组肿瘤组织 Ki-67、Cleaved Caspase-3 表达的免疫组化结果;B:肿瘤组织 Ki-67、Cleaved Caspase-3 阳性率比较 1:模型组;2:OP-B 低剂量组;3:OP-B 中剂量组;4:OP-B 高剂量组;5:激活剂组;a:$P<0.05$,与模型组比较;b:$P<0.05$,与 OP-B 低剂量组比较;c:$P<0.05$,与 OP-B 中剂量组比较;d:$P<0.05$,与 OP-B 高剂量组比较

图 4　各组肿瘤组织 Ki-67、Cleaved Caspase-3 表达

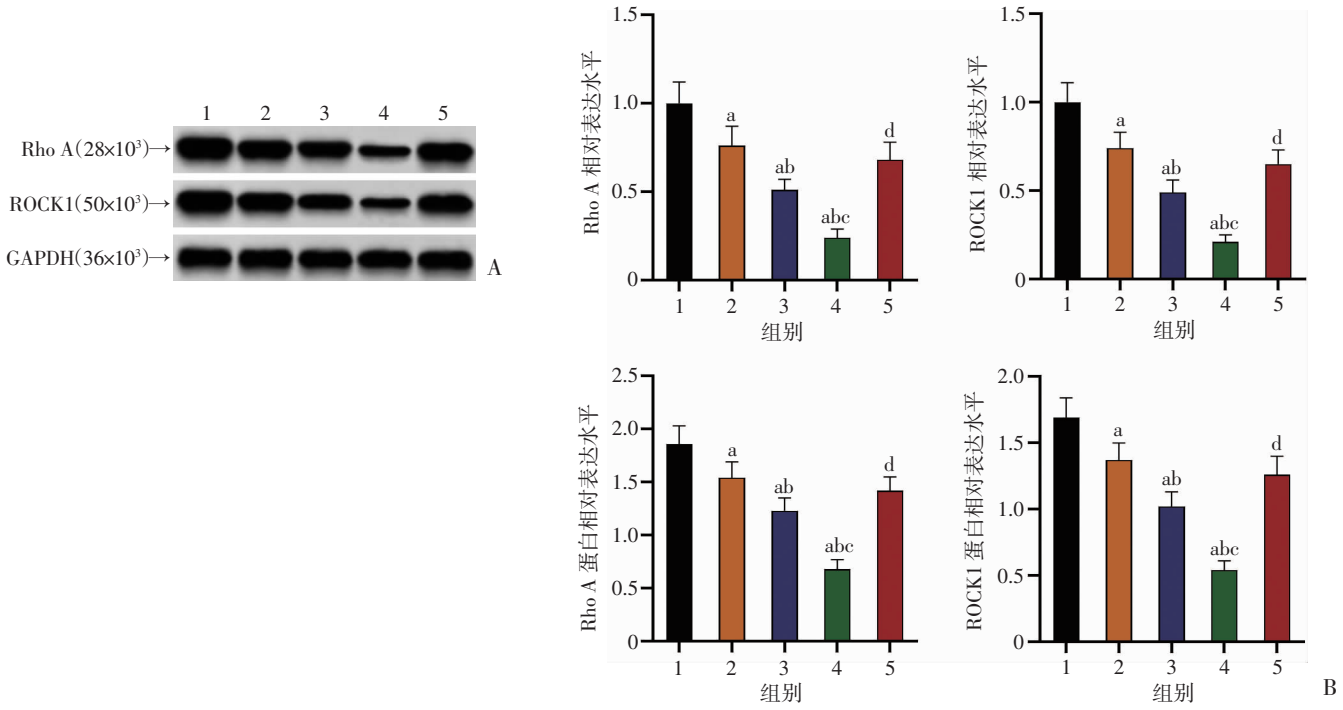
2.5　OP-B 对 Rho A、ROCK1 的 mRNA 和蛋白表达的影响

与模型组比较,OP-B 低、中、高剂量组肿瘤组织中 Rho A、ROCK1 的 mRNA 及蛋白表达水平显著降低($P<0.05$);与 OP-B 高剂量组比较,激活剂组肿瘤组织中 Rho A、ROCK1 mRNA 及蛋白表达水平显著升高($P<0.05$),见图 5。

3　讨论

目前的 GC 治疗方法包括内镜治疗、胃切除术、放疗、化疗和放化疗辅助手术治疗,在转移性患者中,化疗仍然是最重要的治疗手段,但患者预后仍然较差[11-12]。因此,研究 GC 发展的分子机制对于开发新的治疗药物具有重要意义。

天然化合物,特别是植物衍生化合物,已被广泛用于抗癌的辅助治疗剂。OP-B 是中药麦冬的主要活性成分,具有抗肿瘤、心血管保护、抗炎和抗辐射活性等多种药理活性[13]。OP-B 是一种典型的多靶点药物,对多种肿瘤都有抑制作用。OP-B 可降低 B 淋巴细胞瘤-2/Bcl-2 相关 X 蛋白的比例,激活半胱天冬酶蛋白家族,促进肺癌细胞凋亡[3]。OP-B 通过加强 AXIS 抑制蛋白/β-连环蛋白相互作用和减少 β-连环蛋白易位来减少非小细胞肺癌的迁移和侵袭[14]。OP-B 通过靶向调节磷脂酰肌醇-3-激酶/丝苏氨酸蛋白激酶 B 和单磷酸腺苷活化蛋白激酶信号通路,体内和体外均有效抑制肝细胞癌的恶性进展[15]。细胞增殖、凋亡是影响包括 GC 在内的多种癌症进展的关键因素,Ki-67 是反映细胞增殖水平的蛋白,Cleaved Caspase-3 是细胞凋亡的标志蛋白。本研究采用原位移植 Walker-256 肿瘤组织建立胃荷瘤大鼠模型,并用不同浓度 OP-B 干预模型大鼠,发现肿瘤细胞排列不规则、出现坏死、异型核减少,OP-B 可显著降低肿瘤质量和体积,同时降低增殖蛋白 Ki-67 表达,促进肿瘤细胞凋亡及凋亡蛋白 Cleaved Caspase-3 表达,表明 OP-B 够促进 GC 组织细胞凋亡,抑制增殖。在 GC 中,OP-B 以剂量依赖性方式抑制 GC 细胞增殖,促进细胞凋亡,并且 OP-B 的体内给药减少了胃腺癌细胞肿瘤的体积和质量,具有抑制 GC 细胞生长的作用[6]。OP-B 可能通过降低 Ki-67 蛋白表达,增加 Cleaved Caspase-3 蛋白表达,从而抑制肿瘤生长。



1:模型组;2:OP-B 低剂量组;3:OP-B 中剂量组;4:OP-B 高剂量组;5:激活剂组;a:$P<0.05$,与模型组比较;b:$P<0.05$,与 OP-B 低剂量组比较;c:$P<0.05$,与 OP-B 中剂量组比较;d:$P<0.05$,与 OP-B 高剂量组比较

A:Western blot 法检测各组 Rho A、ROCK1 蛋白表达情况;B: RT-qPCR 和 Western blot 检测 Rho A、ROCK1 的相对表达水平和 Rho A、ROCK1 蛋白相对表达水平

图 5　各组肿瘤组织 Rho A、ROCK1 mRNA 及蛋白表达比较

Rho A 是 Rho 家族中的一种小 GTP 酶蛋白,与其下游效应子 ROCK 结合参与癌症发展进程[16]。由 Rho A 激活的 ROCK 激酶有助于宫颈癌细胞迁移和侵袭[17]。已有研究表明,Rho A/ROCK1 通路在转化生长因子 β 诱导的上皮间质转化中起着重要的作用,抑制该通路可抑制结肠癌的生长和转移[18]。Rho A/ROCK1 信号传导参与肺癌的血管生成,可以减弱调血管生成相关因子基质金属蛋白酶-2、9 的表达[19]。在 GC 中,Rho A/ROCK1 通路的激活可促进 GC 细胞增殖,抑制 Rho A/ROCK1 信号通路可抑制 N-甲基-N′-硝基-亚甲基胍诱导的大鼠胃癌发生[20-21]。本研究发现,模型组大鼠 Rho A、ROCK1 的 mRNA 及蛋白表达水平较高。OP-B 干预后可抑制 Rho A、ROCK1 mRNA 及蛋白表达。而使用 Rho A/ROCK1 信号通路激活剂 LPA 后,Rho A、ROCK1 的 mRNA 及蛋白表达升高的同时,肿瘤质量和体积及 Ki-67 表达显著升高,抑瘤率、肿瘤细胞凋亡率、Cleaved Caspase-3 表达显著降低,减弱了 OP-B 对肿瘤生长的抑制作用。表明 OP-B 对肿瘤生长的抑制作用,可能与抑制 Rho A/ROCK1 信号通路的激活有关。

综上所述,OP-B 可能通过抑制 Rho A/ROCK1 信号通路的激活,抑制荷瘤 GC 大鼠肿瘤生长。本研究在动物实验中验证了 OP-B 通过调控 Rho A/ROCK1 信号通路,抑制 GC 肿瘤的生长,但 OP-B 抑制 Rho A/ROCK1 信号通路的具体途径仍有待进一步的探索。

参考文献:

[1] RÖCKEN C. Predictive biomarkers in gastric cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2023, 149(1): 467-481. DOI: 10.1007/s00432-022-04408-0.

[2] ALSINA M, ARRAZUBI V, DIEZ M, *et al*. Current developments in gastric cancer: from molecular profiling to treatment strategy[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20(3): 155-170. DOI: 10.1038/s41575-022-00703-w.

[3] CHENG Z Y, LI Z H, GU L, *et al*. Ophiopogonin B alleviates cisplatin resistance of lung cancer cells by inducing Caspase-1/GSDMD dependent pyroptosis[J]. J Cancer, 2022, 13(2): 715-727. DOI: 10.7150/jca.66432.

[4] LI L Q, GAO Q, WANG J, *et al*. Induction of ferroptosis by ophiopogonin-B through regulating the gene signature *AURKA* in NSCLC[J]. Front Oncol, 2022, 12: 833814. DOI: 10.3389/fonc.2022.833814.

[5] DONG W H, DONG Q, DING H R. Ophiopogonin B induces reactive oxygen species-dependent apoptosis through the Hippo pathway in nasopharyngeal carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(1): 534. DOI: 10.3892/mmr.2021.12173.

[6] ZHANG L Y, LI C L, ZHANG Y Z, *et al*. Ophiopogonin B induces gastric cancer cell death by blocking the GPX4/xCT-dependent ferroptosis pathway[J]. Oncol Lett, 2022, 23(3): 104. DOI: 10.3892/ol.2022.13224.

[7] LIU D, XIA A D, WU L P, *et al*. IGF_2BP_2 promotes gastric cancer progression by regulating the IGF1R-Rho A-ROCK signaling pathway[J]. Cell Signal, 2022, 94: 110313. DOI: 10.1016/j.cellsig.2022.110313.

[8] 廖山婴, 刘超, 王蓓蓓, 等. Rho A/ROCK1 信号通路在胃癌中的表达及其与胃癌生物学行为的关系[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2017, 26(3): 251-255. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2017.03.003.
LIAO S Y, LIU C, WANG B B, *et al*. Relationship between expression of Rho A/ROCK1 signaling pathway and biologic be-haviors of gastric carcinoma[J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2017, 26(3): 251-255. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2017.03.003.

[9] 谭静, 林亚平, 赵欢, 等. 艾灸对胃荷瘤大鼠瘤体内 Th1、Th2 类细胞因子表达的影响[J]. 免疫学杂志, 2019, 35(12): 1061-1066. DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20190167.
TAN J, LIN Y P, ZHAO H, *et al*. Effects of moxibustion on the expression of Th1 and Th2 cytokines in gastric tumor-bearing rats[J]. Immunol J, 2019, 35(12): 1061-1066. DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20190167.

[10] LI M W, ZHANG L M, LIU X Y, *et al*. Inhibition of Rho/ROCK signaling pathway participates in the cardiac protection of exercise training in spontaneously hypertensive rats[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 17903. DOI: 10.1038/s41598-022-22191-3.

[11] CONTI C B, AGNESI S, SCARAVAGLIO M, *et al*. Early gastric cancer: update on prevention, diagnosis and treatment[J]. Int J Environ Res Public Health, 2023, 20(3): 2149. DOI: 10.3390/ijerph20032149.

[12] ARAÚJO D, RIBEIRO E, AMORIM I, *et al*. Repurposed drugs in gastric cancer[J]. Molecules, 2022, 28(1): 319. DOI: 10.3390/molecules28010319.

[13] 何冰倩, 周小杰, 史冬玲, 等. 麦冬皂苷 B 抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(12): 2911-2914. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2018.12.022.
HE B Q, ZHOU X J, SHI D L, *et al*. Progress on anti-tumor effects and mechanisms of ophiopogonin B[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2018, 36(12): 2911-2914. DOI:

10.13193/j.issn.1673-7717.2018.12.022.

[14] ZHANG S P, LI H X, LI L Q, *et al*. Ophiopogonin B inhibits migration and invasion in non-small cell lung cancer cells through enhancing the interaction between Axin and β-catenin[J]. J Cancer, 2021, 12(20): 6274-6284. DOI: 10.7150/jca.60066.

[15] YUAN F, GAO Q, TANG H L, *et al*. Ophiopogonin-B targets PTP1B to inhibit the malignant progression of hepatocellular carcinoma by regulating the PI3K/AKT and AMPK signaling pathways[J]. Mol Med Rep, 2022, 25(4): 122. DOI: 10.3892/mmr.2022.12638.

[16] CHOI E K, KIM J G, KIM H J, *et al*. Regulation of Rho A GTPase and novel target proteins for ROCK[J]. Small GTPases, 2020, 11(2): 95-102. DOI: 10.1080/21541248.2017.1364831.

[17] MAO Y F, JIANG X Y, GUO P, *et al*. *ZXDC* enhances cervical cancer metastasis through IGF_2BP_3-mediated activation of *Rho A/ROCK* signaling[J]. iScience, 2023, 26(8): 107447. DOI: 10.1016/j.isci.2023.107447.

[18] YANG Y T, LI L Y, HE H, *et al*. Numb inhibits migration and promotes proliferation of colon cancer cells via Rho A/ROCK1 signaling pathway repression[J]. Exp Cell Res, 2022, 411(2): 113004. DOI: 10.1016/j.yexcr.2021.113004.

[19] ZHANG Z, NONG L, CHEN M L, *et al*. Baicalein suppresses vasculogenic mimicry through inhibiting Rho A/ROCK1 expression in lung cancer A549 cell line[J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2020, 52(9): 1007-1015. DOI: 10.1093/abbs/gmaa075.

[20] 梁美兰, 廖晓宏, 张恒斌, 等. Nesfatin-1 通过 Rho A/ROCK1-1 通路促进人胃癌 AGS 细胞的增殖[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2021, 30(8): 900-903. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2021.08.010.
LIANG M L, LIAO X H, ZHANG H B, *et al*. Nesfatin-1 promotes proliferation of gastric cancer cell line AGS through Rho A/ROCK1-1 signaling pathway[J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2021, 30(8): 900-903. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2021.08.010.

[21] 廖山婴, 刘超, 王蓓蓓, 等. 复方斑蝥胶囊调控 Rho A/ROCK1 信号通路抑制 MNNG 诱导的大鼠胃癌发生[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(6): 728-732. DOI: 10.7661/j.cjim.20181031.321.
LIAO S Y, LIU C, WANG B B, *et al*. Fufang Banmao capsule inhibited N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine induced gastric carcinoma in rats by regulating Rho A/ROCK1 signaling pathway[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2019, 39(6): 728-732. DOI: 10.7661/j.cjim.20181031.321.

(**收稿**:2023-11-28;**修回**:2024-05-16)

(编辑 邓强庭)