

## 绞股蓝总皂甙对肝 HepG2 细胞三酰甘油代谢的影响及机制\*

陈建萍<sup>1</sup>,任新生<sup>2</sup>,李青<sup>3</sup>,孙中华<sup>4</sup>,郭再玉<sup>5△</sup>(1. 天津泰达医院急诊科;2. 天津泰达医院 ICU;3. 天津泰达医院肾内科;  
4. 天津泰达国际心血管病医院心内科;5. 天津泰达医院神经外科,天津 300457)

**[摘要]** **目的** 探讨绞股蓝总皂甙(GPs)对培养肝 HepG2 细胞三酰甘油(TG)代谢的影响及机制。**方法** 采用 HepG2 细胞为模型细胞,加入 GPs 进行孵育,观察其对细胞内 TG 的影响,并采用荧光定量 PCR 的方法,分析脂代谢过程中的关键酶基因,包括乙酰辅酶 A 羧化酶(ACACA)、ACACB、脂肪酸合成酶(FASN)、乙酰辅酶 A 乙酰转移酶(ACAT1)、棕榈酰辅酶 A 氧化酶(ACOX1)及肉碱脂酰转移酶(CPT1、2)。并进一步在细胞水平干扰关键酶基因,验证其对 TG 代谢的影响。**结果** GPs 可显著降低 HepG2 细胞的 TG 水平,发现 GPs 可显著抑制 FASN 基因的表达及其在较高水平下促进 CPT1 基因的表达,其蛋白水平的表达改变与基因表达一致。在细胞水平瞬时干扰 FASN 的表达,在干扰 FASN 后,GPs 降低 TG 的幅度显著减少,提示 GPs 主要通过抑制 FASN 起作用。**结论** GPs 可减少肝 HepG2 细胞内 TG 水平,其作用主要是通过抑制 FASN 的表达而抑制脂肪酸的合成。

**[关键词]** 绞股蓝总皂甙;甘油三酯类;脂肪酸合成酶复合物;肉碱脂酰转移酶**[中图分类号]** R575.5**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)05-0598-04

## Effect of gypenosides on triglycerides metabolism of hepatic HepG2 cells and its mechanism\*

Chen Jianping<sup>1</sup>, Ren Xinsheng<sup>2</sup>, Li Qing<sup>3</sup>, Sun Zhonghua<sup>4</sup>, Guo Zaiyu<sup>5△</sup>(1. Department of Emergency, Tianjin Teda Hospital, Tianjin 300457, China; 2. ICU, Tianjin Teda Hospital, Tianjin 300457, China; 3. Department of Nephrology, Tianjin Teda Hospital, Tianjin 300457, China; 4. Department of Cardiology, Tianjin Teda International Cardiovascular Diseases Hospital, Tianjin 300457, China;  
5. Department of Neurosurgery, Tianjin Teda Hospital, Tianjin 300457, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the effect and mechanism of gypenosides (GPs) on triglycerides (TG) metabolism in cultured liver HepG2 cells. **Methods** The HepG2 cells were adopted as the model cells and incubated with GPs. Their effect on intracellular triglycerides was observed. The fluorescent quantitative RT-PCR was adopted to analyze the expression of key enzyme genes in lipid metabolism including acetyl-CoA carboxylase (ACACA, ACACB), fatty acid synthase (FASN), acetyl-CoA acetyltransferase 1 (ACAT1), acyl-CoA palmitoyl oxidase 1 (ACOX1), carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT1) and carnitine palmitoyltransferase 2 (CPT2). Then the effect on TG metabolism was further verified by interfering the key enzyme gene at the cellular level. **Results** GPs could significantly decrease the level of intracellular triglycerides in HepG2 cells, and could significantly inhibit the expression of FASN gene and promote the expression of CPT1 gene in a higher concentration, and its protein level expression was consistent with the gene expression. Moreover, the expression of FASN was transiently interfered at the cellular level, after interfering FASN, the magnitude of GPs in decreasing TG was significantly decreased, suggesting that GPs played the effect mainly by inhibiting FASN. **Conclusion** GPs could decrease the intracellular TG level of liver HepG2, its effect in inhibition of the synthesis of fatty acid is mainly through the inhibition of FASN.

**[Key words]** gypenosides; triglycerides; fatty acid synthetase complex; carnitine palmitoyltransferase

绞股蓝(*Gynostemma pentaphyllum*)为葫芦科绞股蓝属植物绞股蓝的根状茎或全草,为我国常用中药,具有清热解毒、止咳化痰、补气生津、健脾安神之功效。现代药学研究表明,其主要药效成分为绞股蓝总皂苷(gypenosides, GPs),它是从绞股蓝中分离获得的 80 余种皂苷的总称,现已研究发现其抗肿瘤、抗血小板聚集、抗氧化、抗缺血再灌注损伤及调节脂质代谢等作用显著,并能够有效地保护心脑血管和肝脏损伤<sup>[1]</sup>。近年来,越来越多的研究显示 GPs 对血脂代谢有重要的调节作用,能有效防治高脂血症及动脉粥样硬化。如灌胃给予高脂饲料的大鼠服用 GPs 后,大鼠血脂中总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及三酰甘油(TG)水平有显著降低,对高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)有升高作用,显示绞股蓝提取物具有

改善高脂血症的作用<sup>[2]</sup>。在实验中发现 GPs 能通过对血脂的调节,减少动脉粥样硬化的发生<sup>[3-4]</sup>。其降低 TC、可能与促进肝细胞低密度脂蛋白受体(LDLR)的表达有关<sup>[5]</sup>。尽管这些研究提示 GPs 对血脂代谢有重要的调节效应,但具体的机制并不十分清楚。鉴于肝脏在脂质代谢中的核心作用及 TG 在肝脏中蓄积导致脂肪肝的发生、发展,因此,本文选择肝 HepG2 细胞模型,探讨 GPs 对 TG 的影响,并探索其作用机制。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** HepG2 细胞购自美国 ATCC 细胞库(ATCC HB-8065),培养基为含 10% 胎牛血清 FBS (Gibco, Grand Island, NY) 的 MEM (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA),置于 37 ℃ 的

表 1 各基因的引物序列

基因名称	正向引物(5'~3')	反向引物(5'~3')
ACACA	TAC AAC ACC GCC AGC TTA AG	CTG TTT AGC GTA GGG ATG TTC
ACACB	GGA TGC GTA ACT TCG ATC TG	CCT ATG GTC CGT CAC TTC CA
FASN	AAC TCC TTG GCG GAA GAG A	TGG AAT GTC ACG TTC TTC AG
ACAT1	ATT GAA AAG GCA GGG ATT CC	ATA CTG CCT GCC TTG TAG GA
ACOX1	GAG GTC CAC GAA TCT TAC A	GTT GCA CAC AGG CGC TTT C
CPT1	CTG CTT TAC AGG CGC AAA CT	TAA ACA TCC GCT CCC ACT GA
CPT2	TGA ACC CTG CAA AAA GTG A	GGA TAC GCA TTG ACC AGG TA
GADPH	GGT GGT CTC CTC TGA CTT CA	CCA GGA AAT GAG CTT GAC AA

5%CO<sub>2</sub> 的培养箱。GPs 购自上海同田生物技术有限公司, 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)购自江苏碧云天生物技术研究。TG 测定试剂盒购自上海生物制品研究所。乙酰辅酶 A 羧化酶(ACACA)、ACACB、脂肪酸合成酶(FASN)、肉碱脂酰转移酶 I (CPT1)及 GAPDH 的抗体均购自美国的 Abcam 公司(Cambridge, MA)公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 细胞增殖活力测定

采用 MTT 法检测细胞的增殖活性。GPs 用二甲基亚砜 DMSO 配成 10 mg/mL 的母液, 实验时用培养液稀释至相应的浓度。HepG2 接种于 96 孔培养板, 每孔细胞数为  $5 \times 10^3$  个, 实验组分别给予终浓度为 125、25、5、1  $\mu\text{g/mL}$  的 GPs, 以 0.1% DMSO 为溶剂对照。加药孵育时间为 48 h, 然后每孔加入 20  $\mu\text{L}$  5 mg/mL 的 MTT, 孵育 4 h, 弃培养液, 然后每孔加入 150  $\mu\text{L}$  的 DMSO, 摇匀 10 min, 然后置于酶标仪测波长 490 nm 的每孔吸光度(A), 以对照组细胞为 100%, 其他组根据 A 值进行相应的换算。每组有 4 个重复孔, 实验重复 3 次。

### 1.2.2 细胞内 TG 的测定

HepG2 细胞接种于 6 孔板, 每孔的细胞数为  $4 \times 10^5$  个, 接种过夜后再加入不同浓度的 GPs 孵育 24 h, 选用 50  $\mu\text{mol/L}$  的非诺贝特(Fenofibrate)作为阳性对照。细胞经加药处理后, 收集细胞, 进行 TG 的测定。具体方法如下: 各管加入 800  $\mu\text{L}$  异丙醇, 置冰上静置提取 1 h, 然后置 4  $^{\circ}\text{C}$  12 000 $\times$ g 离心 15 min。取上清真空抽干, 最后用 20  $\mu\text{L}$  异丙醇溶解, 用于测定细胞 TG 水平。TG 水平的测定采用 TG 试剂盒根据说明书进行测定。另外取离心后的沉淀用 20  $\mu\text{L}$  的蛋白 RIPA 裂解液溶解后测定其蛋白水平, 采用 BCA 方法按照操作说明进行, 结果表示为每毫克细胞总蛋白中所含的 TG( $\mu\text{g/mg}$ )。每组有 3 个重复孔, 实验重复 3 次。

### 1.2.3 荧光定量 PCR

HepG2 细胞接种于 6 孔板, 每孔的细胞数为  $4 \times 10^5$  个, 接种过夜后再加入不同浓度的 GPs 孵育 24 h。收集细胞, 每孔加入 1 mL TRIzol 裂解细胞后收集至 1.5 mL 无 RNA 酶离心管, 提取总 RNA。然后用 Invitrogen 产品的反转录酶试剂盒(SuperScript II Reverse Transcriptase kit)合成 cDNA。以 cDNA 为模版, 采用 TOYOBO 公司的荧光定量 PCR 试剂盒(SYBR Green Realtime PCR Master Mix)进行检测, 内参基因选择 GAPDH。具体方法如下: 模版为 2  $\mu\text{g}$ , 引物为 0.2  $\mu\text{mol/L}$ , PCR 预混合试剂为 10  $\mu\text{L}$ , 加水补至 20  $\mu\text{L}$  的终体积, 混合试剂置于 ABI7300 定量 PCR 仪进行检测。反应结束后计算  $\Delta\Delta\text{CT}$  值, 并设对照组为 1。各基因的引物序列, 见表 1。

### 1.2.4 蛋白免疫印迹分析

HepG2 细胞接种于 6 孔板, 每孔

的细胞数为  $4 \times 10^5$  个, 接种过夜后再加入不同浓度的 GPs 孵育 24 h, 选用 50  $\mu\text{mol/L}$  的非诺贝特(Fenofibrate)作为阳性对照。收集细胞, 用蛋白裂解液(RIPA)收集细胞的总蛋白直接用于蛋白免疫印迹分析。蛋白免疫印迹方法如下: 每孔细胞总蛋白的上样量为 10  $\mu\text{g}$ , 用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 然后用转移至硝酸纤维素膜。用 5% 脱脂奶粉的含 0.1% 的 Tris 缓冲液(TBST)室温封闭 2 h, 再用一抗在 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。一抗用 TBST 洗涤后, 再用相应的二抗在室温孵育 1 h, 最后用相应灵敏度的 ECL 发光剂进行发光。

### 1.2.5 siRNA 检测

HepG2 细胞接种于 6 孔板, 每孔的细胞数为  $2 \times 10^5$  个, 接种过夜后再加入干扰 RNA(siRNA), FASN 的 siRNA 是购自于商品化的 4 个 siRNA 的混合物(Dharmacon Inc., Lafayette, Co.), 并用 scrambled siRNA 作为阴性对照。使用 Invitrogen 公司的 lipofectamine 2000 按标准操作说明进行转染。转染 48 h 后, 再加入 GPs 处理 24 h, 一部分样本采用蛋白免疫印迹方法进行干扰效率的验证, 一部分样本用于测定细胞内 TG 水平, 方法同上。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件进行统计, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间的计量资料用 ONE-WAY ANOVA 分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

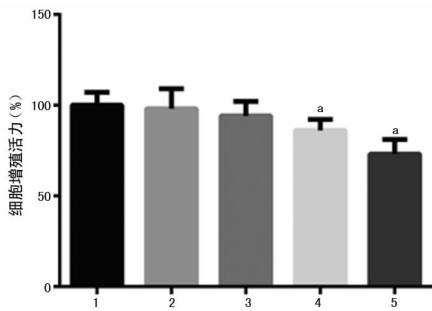
## 2 结 果

### 2.1 GPs 可降低培养 HepG2 细胞的 TG 水平

采用 MTT 的方法, 观察 GPs 对 HepG2 细胞的增殖活性影响。GPs 为 125  $\mu\text{g/mL}$  时可显著降低 HepG2 细胞的增殖活力, 在 25  $\mu\text{g/mL}$  时对细胞活性有轻度的抑制作用, 而在 5、1  $\mu\text{g/mL}$  时对细胞增殖活性无明显抑制作用, 见图 1。因此, 为了排除 GPs 其他作用的干扰, 本研究选择了 GPs 25、5、1  $\mu\text{g/mL}$  对肝细胞 TG 代谢的影响。GPs 与 HepG2 孵育 24 h 后, 测定细胞内 TG 水平, 发现 GPs 25、5  $\mu\text{g/mL}$  可显著降低细胞内 TG 水平, 而在 GPs 1  $\mu\text{g/mL}$  时无明显作用。GPs 在 25  $\mu\text{g/mL}$  时对肝细胞的降 TG 效应与阳性对照药非诺贝特(Fenofibrate)在 50  $\mu\text{mol/L}$  时效应较为接近, 显示其较好的降脂效果, 见图 2。

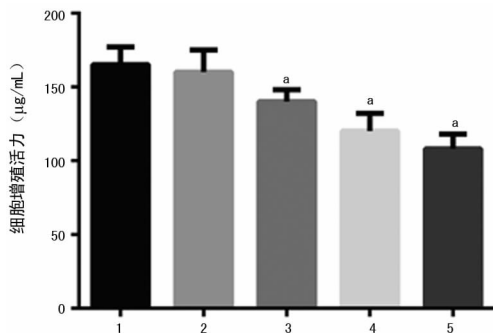
### 2.2 GPs 对脂肪酸代谢相关基因表达的影响

采用荧光定量 PCR 的方法, 检测 ACACA、ACACB、FASN、乙酰辅酶 A 乙酰转移酶(ACAT1)、棕榈酰辅酶 A 氧化酶(ACOX1)、CPT1 及 CPT2 基因在 GPs 作用 24 h 后的表达改变。GPs 对 FASN 有显著的抑制作用, 对 CPT1 在 25  $\mu\text{g/mL}$  时有一定的促进作用, 而对其他一些基因的表达无明显影响(图 3)。结果提示, GPs 可能通过抑制脂肪酸的合成, 及一定程度上激活脂肪酸氧化来降低 TG 水平, 而促进脂肪酸氧化与阳性对照药非诺贝特作用特点相似。



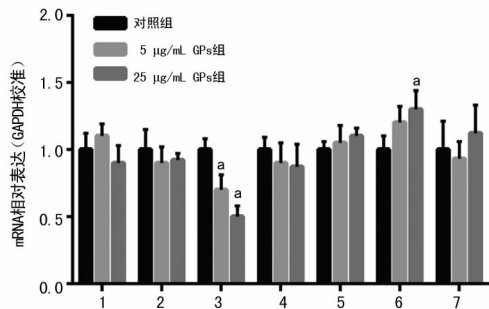
1: 对照组; 2: 1  $\mu\text{g/mL}$  GPs 组; 3: 5  $\mu\text{g/mL}$  GPs 组; 4: 25  $\mu\text{g/mL}$  GPs 组; 5: 125  $\mu\text{g/mL}$  GPs 组; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

图 1 GPs 与 HepG2 细胞孵育 48 h 对 HepG2 细胞增殖活性的影响



1: 对照组; 2: 1  $\mu\text{g/mL}$  GPs 组; 3: 5  $\mu\text{g/mL}$  GPs 组; 4: 25  $\mu\text{g/mL}$  GPs 组; 5: 阴性对照组; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

图 2 GPs 与 HepG2 孵育 24 h 对细胞 TG 水平的影响



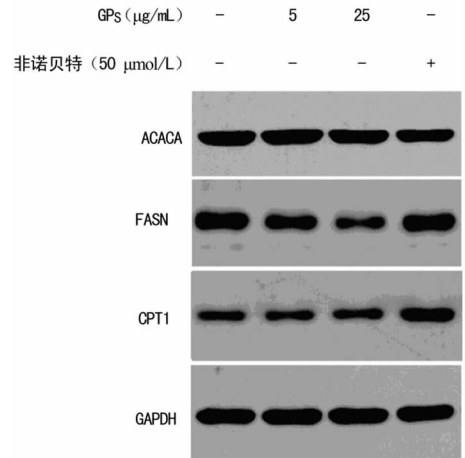
1: ACACA; 2: ACACB; 3: FASN; 4: ACAT1; 5: ACOX1; 6: CPT1; 7: CPT2. <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组相比。

图 3 GPs 对脂肪酸合成及代谢关键酶基因表达的影响

**2.3 GPs 可抑制 FASN 的蛋白表达** GPs 可以显著降低 FASN 的基因表达及促进 CPT1 的基因表达, 由于蛋白水平是分子功能的执行体, 因此本研究进一步检测了这些分子在蛋白水平的变化情况。用 GPs 处理 HepG2 细胞 24 h, 并选用阳性对照药非诺贝特作为对照。采用蛋白免疫印迹的方法, 检测药物作用 24 h 的蛋白表达, GPs 可显著抑制 FASN 的蛋白表达, 并与剂量浓度相关(图 4)。GPs 在 25  $\mu\text{g/mL}$  时对 CPT1 的蛋白表达有一定的促进作用, 而阳性对照药非诺贝特可显著促进 CPT1 表达。另外, ACACA 也是脂肪酸合成的关键酶, 结果显示其在蛋白水平无改变, 与基因的检测结果一致。以上结果提示, GPs 降 TG 水平与其抑制脂肪酸合成有关, 而与阳性对照药非诺贝特主要促进脂肪酸氧化代谢有所不同。

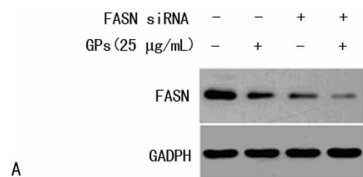
**2.4 干扰 FASN 的表达可显著减少 GPs 的降脂效应** FASN 的干扰效率采用蛋白免疫印迹方法进行验证, 在 FASN 未干扰组中, 加入 GPs 后, FASN 显著减少, 而在 FASN 干扰组中,

加入 GPs 后, FASN 下降幅度有所缩小(图 5A)。同时, 检测了细胞内 TG 水平(图 5B), 加入 GPs 后, 细胞内的 TG 水平明显下降, 与上述结果一致; 另外, HepG2 在干扰 FASN 后, 细胞内的 TG 水平也显著下降, 然而在干扰 TG 的情况下, GPs 降 TG 的作用幅度显著减少。

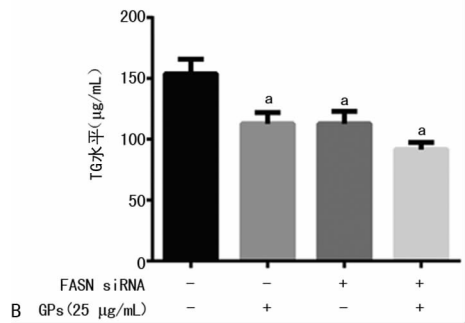


—: 不添加化合物; +: 添加化合物。

图 4 GPs 对脂肪酸合成及代谢酶的蛋白表达影响



A



B

A: 蛋白免疫印迹方法; B: 细胞内 TG 水平; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。—: 不添加化合物, +: 添加化合物。

图 5 干扰 FASN 对 GPs 降脂效应的影响

### 3 讨论

本研究中, 对 GPs 在肝 HepG2 TG 代谢中的作用进行了深入的研究, 发现 GPs 具有明显降低肝 HepG2 TG 的作用, 提示其在防治肝细胞脂肪沉积中的应用前景。肝细胞作为体内脂代谢的中心枢纽, 是连接血脂平衡和肝脏脂代谢平衡的关键, 本研究的结果也提示 GPs 能够减少血中 TG, 其可能的原因是通过抑制肝脏的脂质合成来起作用。前期的研究中发现 GPs 可显著降低高脂肪高胆固醇饮食大鼠的血脂<sup>[6]</sup>, 如降低血中的 TG、TC、游离脂肪酸及低密度脂蛋白, 并且能够显著地减少大鼠肝脏的脂质沉积, 这一现象与本研究结果一致, 即 GPs 可能在改善脂肪肝方面有一定的潜在应用价值。

回顾近几年的文献, 许多研究关注 GPs 在抗肿瘤中的应用, 如 GPs 可通过促进内质网应激及线粒体凋亡通路诱导口腔鳞癌细胞 SCC-4 的周期阻滞及凋亡<sup>[7]</sup>, 还可通过下调 NF- $\kappa$ B 及基质金属蛋白酶 9 (MMP-9) 来抑制 SCC-4 细胞的转

移<sup>[8]</sup>;GPs 诱导线粒体凋亡的作用在多种肿瘤细胞中已经证实,如结肠癌细胞<sup>[9]</sup>、肺癌细胞<sup>[10-11]</sup>及肝癌细胞<sup>[12-13]</sup>。这些研究提示,GPs 在一定的浓度下对肿瘤细胞有杀伤作用,因此为了排除本模型中其对 HepG2 的细胞毒作用带来的干扰,首先摸索了合适的剂量浓度。GPs 在 125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的浓度下可显著抑制 HepG2 细胞的增殖活性,而在 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度下虽有一定的抑制,但相对不十分明显,因此选择了 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以下的几个剂量浓度用于研究。在这样的浓度下,发现 GPs 抑制 TG 的作用是较为直接的作用。从另一方面来看,抑制 TG 合成可能对其抗肿瘤作用有一定的帮助,因为脂质合成是肿瘤细胞增殖分裂的物质基础。

为了研究 GPs 降细胞内 TG 的机制,本研究对脂肪酸代谢中关键酶的基因进行了分析,如 ACAC 的两个亚基 ACACA 和 ACACB,ACAC 催化乙酰辅酶 A 生成丙二酰辅酶 A,是脂肪酸从头合成的限速酶,也是降脂药物开发的潜在靶点<sup>[14-15]</sup>,然而 GPs 对其无影响。FASN 是促进脂肪酸长链合成的主要催化酶,对于脂肪酸的合成至关重要。本研究结果显示,GPs 可显著抑制 FASN 的基因表达,提示其重要的降脂机制。本研究也考察了脂肪酸合成过程中的 ACAT1,发现对其无明显调节作用。另外,也对脂肪酸  $\beta$  氧化代谢的酶进行了分析,如 ACOX1,它是脂肪酸  $\beta$  氧化的第一个催化酶,然而 GPs 亦对其表达无明显作用;CPT1 是脂肪酸  $\beta$  氧化代谢的关键限速酶,GPs 在较高的浓度下可促进其表达,提示 GPs 可能也促进脂肪酸的氧化代谢。本研究在蛋白水平进行验证,结果与基因的表达一致,即 GPs 显著抑制 FASN 的表达及在较高浓度下促进 CPT1 的表达。以上结果提示 GPs 可能通过抑制脂肪酸合成及促进其氧化来降低 TG 水平。

为了进一步验证 FASN 在 GPs 降 TG 的作用,本研究观察在干扰 FASN 的情况下 GPs 降 TG 的效应。结果显示,干扰 FASN 可显著降低肝细胞 TG 水平;与非干扰 FASN 的条件下 GPs 降 TG 的效应相比,HepG2 细胞在干扰 FASN 后 GPs 降 TG 的幅度显著减少,结果表明 FASN 是 GPs 降 TG 的主要机制,即 GPs 通过抑制 FASN 表达而降低 TG 的效应。虽然 GPs 也可能存在促进脂肪酸  $\beta$  氧化代谢,本研究结果提示其可能的主要作用是通过抑制 FASN 来介导。但是 GPs 是如何来抑制 FASN 的表达,并不清楚,有待于今后进一步的深入研究。

综上所述,本研究首次报道了 GPs 对培养肝 HepG2 细胞的降脂效应,其降 TG 效应主要是通过抑制 FASN 的表达来抑制脂肪酸的合成,另一方面可能在一定程度上具有促进脂肪酸  $\beta$  氧化代谢的作用。本研究结果为阐释 GPs 降脂效应提供了理论基础,并为其今后在临床上的应用提供实验依据,具有重要的科学意义。然而目前对于 GPs 在降脂中的作用及机制仍十分有限,需要进一步系统全面的深入研究,才能为其临床应用提供良好的研究基础。

## 参考文献

[1] 金亭亭,孙兆林,江蔚新. 绞股蓝化学成分及药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药,2014,10(16):30-32.  
[2] 沈楠,许文频,李敏,等. 绞股蓝皂苷对高脂血症大鼠脂代谢的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2011,9(9):

1081-1083.

- [3] 贺琴,谭华炳,赵琴. 绞股蓝总皂甙抗高脂血症致动脉粥样硬化的机制研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2009,7(4):464-465.  
[4] 汪肇植,胡格,翟文海. 绞股蓝总皂苷外用对高血脂小鼠的降血脂作用研究[J]. 中国民族民间医药杂志,2007,16(1):41-43.  
[5] 王亚利,范春雷,窦晓兵. 绞股蓝总皂苷对肝细胞低密度脂蛋白受体表达的影响[J]. 中国药理学通报,2010,26(1):138-139.  
[6] Qin R, Zhang J, Li C, et al. Protective effects of gypenosides against fatty liver disease induced by high fat and cholesterol diet and alcohol in rats[J]. Arch Pharm Res, 2012,35(7):1241-1250.  
[7] Chen JC, Lu KW, Tsai ML, et al. Gypenosides induced G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> arrest via CHk2 and apoptosis through endoplasmic reticulum stress and mitochondria-dependent pathways in human tongue cancer SCC-4 cells[J]. Oral Oncol, 2009,45(3):273-283.  
[8] Lu KW, Tsai ML, Chen JC, et al. Gypenosides inhibited invasion and migration of human tongue cancer SCC4 cells through down-regulation of NFkappaB and matrix metalloproteinase-9[J]. Anticancer Res, 2008, 28(2A): 1093-1099.  
[9] Yan H, Wang X, Wang Y, et al. Antiproliferation and anti-migration induced by gypenosides in human colon cancer SW620 and esophageal cancer Eca-109 cells[J]. Hum Exp Toxicol, 2014,33(5):522-533.  
[10] Lu HF, Chen YS, Yang JS, et al. Gypenosides induced G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> arrest via inhibition of cyclin E and induction of apoptosis via activation of caspases-3 and -9 in human lung cancer A-549 cells[J]. In Vivo, 2008,22(2):215-221.  
[11] Liu JS, Chiang TH, Wang JS, et al. Induction of p53-independent growth inhibition in lung carcinoma cell A549 by gypenosides[J]. J Cell Mol Med, 2015,19(7):1697-1709.  
[12] Sun DP. Gypenosides induce apoptosis by Ca<sup>2+</sup> overload mediated by endoplasmic-reticulum and store-operated Ca<sup>2+</sup> channels in human hepatoma cells[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2013,28(4):320-326.  
[13] Shi L, Pi Y, Luo C, et al. In vitro inhibitory activities of six gypenosides on human liver cancer cell line HepG2 and possible role of HIF-1 $\alpha$  pathway in them[J]. Chem Biol Interact, 2015,238(1):48-54.  
[14] Tong L. Acetyl-coenzyme A carboxylase: crucial metabolic enzyme and attractive target for drug discovery[J]. Cell Mol Life Sci, 2005,62(16):1784-1803.  
[15] Peng Y, Lei T, Yuan J, et al. Arachidonic acid induces acetyl-CoA carboxylase 1 expression via activation of CREB1[J]. Endocrine, 2009,36(3):491-497.