

The Inhibitory Effect of Protopanaxadiol and Compound K on Hepatocellular Carcinoma and the Underlying Mechanisms

Chunlei Zhang¹, Haiyan Song¹, Yangxian Xu², Guang Ji^{1*}

¹Institute of Digestive Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai

²Department of General Surgery, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai

Email: *jiliver@vip.sina.com

Received: May 8th, 2017; accepted: May 23rd, 2017; published: May 26th, 2017

Abstract

There is still no effective treatment available for advanced liver cancer or the recurrence and metastasis after surgical resection. Protopanaxadiol (PPD) and ginsenoside Compound K are the metabolites of protopanaxadiol-type ginsenosides *in vivo*. In recent years, a number of studies have found that these two kinds of natural products could play a role of tumor suppression through inducing cell apoptosis, inhibiting cell proliferation, inhibiting angiogenesis and limiting tumor cell metastasis. Among them, there are many studies focusing on the effect of PPD or Compound K on hepatocellular carcinoma (HCC), in which the anti-cancer effect is prominent. This paper reviews the recent studies on the role of PPD/Compound K in HCC and the related mechanisms, in order to benefit the development of new effective natural medicine to treat HCC.

Keywords

Hepatocellular Carcinoma, Protopanaxadiol, Compound K

原人参二醇及Compound K抑制肝细胞肝癌的作用及机制

张春蕾¹, 宋海燕¹, 许阳贤², 季光^{1*}

¹上海中医药大学附属龙华医院脾胃病研究所, 上海

²上海中医药大学附属龙华医院普外科, 上海

Email: *jiliver@vip.sina.com

*通讯作者。

收稿日期：2017年5月8日；录用日期：2017年5月23日；发布日期：2017年5月26日

摘要

中晚期肝癌及术后复发转移性肝癌目前仍然缺乏有效治疗手段。原人参二醇(*protopanaxadiol*, PPD)及人参皂苷Compound K是二醇型人参皂苷在体内的代谢产物。近年来多项研究发现这两种天然产物可通过诱导细胞凋亡、抑制细胞增殖、抑制血管生成、抑制转移等机制对多种肿瘤发挥抑瘤效应。其中对肝细胞肝癌的作用研究较多，抑癌效果尤为突出。本文就近年来PPD及Compound K抗肝细胞肝癌的作用和相关机制研究进行系统综述，以期有助于开发出有效治疗肝癌的天然药物。

关键词

肝细胞肝癌，原人参二醇，Compound K

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一，全球每年近 80 万人死于肝癌，位居癌症死因的第三位。在我国由于肝炎和肝炎转肝硬化的病人众多，每年肝癌发病率及病死率均占全球一半以上，肝癌居癌症死因的第 2 位。其中，90%以上肝癌是肝细胞肝癌(*hepatocellular carcinoma*, HCC)。恶性程度高、手术切除或肝移植后复发转移率高、缺乏有效化疗和靶向药物，使 HCC 迄今仍然预后很差[1] [2] [3] [4] [5]。

中医药治疗肿瘤尤其对于中晚期肿瘤，采用“去邪扶正”的治则，近年来临床实践和研究表明这种中医疗法可联合局部手术、放化疗应用起到增效减毒和改善患者生活质量的功效，也可单独使用发挥抑瘤作用。但传统中药复方成分复杂，药效和质控不稳定，药效物质及机制不明确，难以被国际同行接受。从中合理有效地筛检出有效组分或成分研究是突破中药开发应用瓶颈的研究思路。

人参是常用的中医去邪扶正药物，长期实验结果表明，人参有显著抗癌作用[6]。人参主要生物活性成分为人参皂苷，是四环三萜类化合物，包括原人参二醇型、原人参三醇型和齐墩果酸型，其中原人参二醇型皂苷具有较强抗肿瘤作用[7]。药物代谢结果表明，原人参二醇型皂苷在体内经肠道菌群代谢降解为：次苷-20-O-β-D-吡喃葡萄糖苷-20(S)-原人参二醇(20-O-beta-d-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol, GPD)，又被研究者称为 Compound K，或苷元—原人参二醇(*protopanaxadiol*, PPD)入血，是其体内主要代谢物和药效实体[8] [9]。PPD 也可由人参属的三七、西洋参皂苷或者绞股蓝属植物提取物反应获得。近年来的多项体内体外实验显示，PPD 和 Compound K 具有较强的抗多种肿瘤活性，包括胃癌、乳腺癌、肝癌、卵巢癌、结肠癌、黑色素瘤等[8] [9]，对肿瘤细胞有很强细胞毒性，并有抑制细胞增殖、诱导细胞分化和凋亡、调节免疫等作用[10]-[15]。二者对肝细胞肝癌的效果尤为显著，能有效抑制肝癌细胞增殖、诱导凋亡，并可提高抗肝癌药物的肿瘤抑制作用，增效减毒。明确药理机制有利于药物的开发应用，近年来科研人员同时对 PPD 和 Compound K 的抗癌作用相关分子机制也进行了深入研究。本文概述二者在 HCC 中的生物药理作用及机制，以期促进其在 HCC 治疗中的开发应用。

2. PPD/Compound K 调控凋亡途径, 诱导细胞凋亡

PPD/Compound K 可诱导肝癌细胞的凋亡, 其作用主要通过三种基本途径: 由细胞表面的死亡受体如 Fas 和肿瘤坏死因子受体家族引发的膜受体途径; 由多种应激条件、化学试剂或药物所起始的线粒体途径; 内质网应激活化半胱天冬蛋白酶 Caspase-12 进而导致凋亡的内质网应激途径。

研究表明, PPD 可抑制 SMMC-7721 细胞裸鼠异种移植瘤生长, 发挥抗肿瘤作用[16] [17]。体外实验发现 PPD 呈剂量依赖性地抑制 SMMC-7721 细胞的增殖并诱导细胞凋亡, 进一步发现其上调 Caspase-3 活性, 诱导凋亡小体出现[16] [17]。Compound K 能够上调人肝癌细胞 MHCC97-H 的 Fas、Fas 配体(FasL) 表达及 Bax/Bcl-2 比例, 抑制 Akt 的磷酸化, 通过调节 Fas 死亡受体和线粒体介导的通路诱导 MHCC97-H 细胞凋亡[18]。但也有研究发现, 在人肝癌细胞 HepG2 中, Compound K 虽可抑制 Fas/FasL 表达, 上调可溶性 Fas 配体(sFasL)的表达, 但阻断 Fas 受体并没有影响 Compound K 诱导的细胞凋亡, 提示 Fas/FasL 途径只是 Compound K 诱导细胞凋亡的途径之一[19]。

Liu 等研究证实, Compound K 可以破坏线粒体膜电位($\Delta\psi_m$), 导致细胞色素 C 的释放, 诱导细胞凋亡[20]。用 Compound K 干预人肝癌细胞株 MHCC97-H, 细胞染色显示亚二倍体凋亡率增加。进一步研究发现 Compound K 致线粒体膜电位降低, 诱导 DNA 剪切损伤。明艳林等用 Compound K 干预人肝癌细胞株 SMMC-7721、HepG2、MHCC97-H, 同样发现 Compound K 增加细胞周期中亚二倍体峰, 促进 DNA 降解梯形条带的形成, 线粒体跨膜电位崩溃, 增加 Caspase-9/Caspase-3 的表达, 表明 Compound K 可促进肝癌细胞凋亡, 从而发挥其抗 HCC 活性[21]。Song 等研究发现, Compound K 通过上调抑癌基因 P53 表达, 诱导细胞核内的 Bid 剪切并转移至线粒体, 促使细胞色素 C 从线粒体释放, 从而介导线粒体凋亡途径促使肝癌细胞凋亡[22] [23]。Cho 等也报道 Compound K 促进凋亡作用通过激活 caspases-3、caspases-8 和 caspases-9, 破坏线粒体膜电位, 释放细胞色素 C 和 Smac/DIABLO, Bid 和 Bax 易位到线粒体表面, 并下调 Bcl-2 和 Bcl-xL 的表达实现[24]。

近来研究发现过度内质网应激可启动细胞凋亡, 前者可特异性激活 Caspase-12, 进一步活化 Caspase-3 等下游效应蛋白酶, 最终导致细胞凋亡。在人肝癌细胞 HepG2 中, PPD 通过内外源性途径诱导细胞凋亡, 激活死亡受体 5 以及 Caspase-3、Caspase-8 和 Caspase-9 的活性, 并上调与内质网应激相关分子的表达。Guo 等研究发现 PPD 可通过上调与内质网应激相关的蛋白和基因, 使 PPD 治疗的细胞出现巨大的细胞质空泡化以及内质网的形态变化, 从而抑制 HepG2 细胞的生长, 并诱导其凋亡[25]。

3. PPD/Compound K 调控细胞周期, 抑制细胞增殖

PPD 阻滞肝癌细胞周期于 G0/G1 期, 抑制肝癌细胞增殖。Mochizuki 等研究证实 PPD 使细胞产生明显的 G1 期阻滞现象, 可能给抑癌基因提供了作用的靶点, 如 p53 蛋白即是通过将细胞周期阻滞于 G1 期, 对损伤 DNA 进行修复, 当修复失败时诱导细胞凋亡[26]。Compound K 可将肝癌细胞 SMMC-7721 阻滞在 G0/G1 期, 从而抑制 SMMC-7721 增殖发挥其抗肝癌作用[27]。Ming 等研究发现, Compound K 以时间和剂量依赖方式能明显抑制肝癌细胞 BEL-7402 增殖, 流式检测发现 Compound K 可将细胞周期阻滞在 G0/G1 期, 进一步诱导细胞收缩、膜泡化、染色质降解等细胞凋亡特征[28]。在人肝癌细胞 MHCC97-H 中, Compound K 同样将细胞周期阻滞在 G1 期, 从而抑制细胞增殖[18]。

4. PPD/Compound K 抑制血管形成和 HCC 转移

论肿瘤细胞转移是造成绝大多数癌症患者死亡的原因, 而肿瘤诱导的新生血管生成是肿瘤生长与转移最重要的原因之一[29]。其中, 内皮细胞增殖在血管新生中起着非常重要的作用, 而 PPD 可以剂量依赖的方式抑制人脐静脉内皮细胞增殖[30]。此外, 肝癌血管生成受诸多血管生成因子如血管内皮生长因子

(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)等的影响, 这些细胞因子的表达可被 PPD 所抑制, 进而抑制肿瘤血管的生成[31] [32]。秦俊杰等研究也发现 PPD 通过抑制肝癌间质血管密度, 抑制肿瘤血管的形成, 使肿瘤细胞的增殖活性下降, 从而抑制了肿瘤生长[33]。

Ming 等通过体内外实验发现 Compound K 可以抑制 NF- κ B 通路的激活, 使体外肝癌细胞的集落形成、黏附和侵袭能力减弱, 同时也使得体内自发肝癌的转移性生长得到抑制。并且 Compound K 也能够通过抑制 VEGF、bFGF 的分泌来抑制肝癌细胞的侵袭转移[34]。

5. PPD/Compound K 协同抗癌药物作用

P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)表达增加是肿瘤耐药的一个重要原因。PPD 可通过阻断 P-gp 的活性, 从而显著提高化疗药物的肿瘤抑制作用, 显示与化疗药物抗癌活性具有协同效应[35]。明艳林等将 Compound K 与常用抗肝癌药物环磷酰胺(Cytosan, CTX)、5-氟尿嘧啶(5-FU)、顺铂(cDDP)联合处理肝癌细胞 Bel-7402、SMMC-7721, 发现 Compound K 与 CTX 联合用药后对肝癌细胞 Bel-7402、SMMC-7721 的增殖抑制作用明显增强, 具有化疗协同、增敏作用; 与 5-FU 联合用药后对两种细胞的抑制作用仅有相加效果, 与 cDDP 联合对 SMMC-7721 具有轻微协同效果[36]。

6. 小结

原人参二醇型皂苷代谢物 PPD 及 Compound K 具有广泛的生物学作用, 对包括 HCC 在内的多种肿瘤的药效作用已经被多项研究证实, 药理机制研究也取得一定进展。其抗肝癌作用主要通过诱导细胞凋亡、抑制细胞增殖、抑制血管生成从而抑制转移等来实现, 另外可提高其它化疗药物的抗肿瘤活性、改善肿瘤耐药, 在其它肿瘤研究中还发现 PPD 有激活体内免疫系统、促进活性氧的产生活化 AMPK/JNK 诱导自噬等对抗肿瘤的作用[37] [38]。PPD 及 Compound K 有望开发成治疗 HCC 的新型药物, 但迄今多数研究仍然局限于体外实验或小鼠皮下成瘤实验, 二者对于其它多种 HCC 细胞、动物肝脏原位肿瘤的作用以及临床实验研究有待后续开展。另外由于 HCC 发生发展的分子生物学机制的复杂性及天然药物的多靶点性, PPD 及 Compound K 抗肝癌的机制也尚需更多更深入的探讨。

基金项目

国家自然科学基金(81573894, 81202667); 中西医结合人才计划(ZY3-RCPY-4-2014)。

参考文献 (References)

- [1] (2014) Global Battle against Cancer Won't Be Won with Treatment Alone—Effective Prevention Measures Urgently Needed to Prevent Cancer Crisis. *Central European Journal of Public Health*, **22**, 23, 28.
- [2] 梁宏元, 卢再鸣. 原发性肝癌综合介入治疗现状与困惑[J]. 临床肝胆病杂志, 2016(1): 44-48.
- [3] 杨婉婷, 侯恩存. 原发性肝癌治疗的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(21): 3495-3499.
- [4] Zhu, A.X. (2012) Molecularly Targeted Therapy for Advanced Hepatocellular Carcinoma in 2012: Current Status and Future Perspectives. *Seminars in Oncology*, **39**, 493-502. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2012.05.014>
- [5] Personeni, N., Rimassa, L., Pressiani, T., et al. (2013) Molecular Determinants of Outcome in Sorafenib-Treated Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **139**, 1179-1187. <https://doi.org/10.1007/s00432-013-1429-x>
- [6] Yun, T.K., Kim, S.H. and Lee, Y.S. (1995) Trial of a New Medium-Term Model Using Benzo(a)pyrene Induced Lung Tumor in Newborn Mice. *Anticancer Research*, **15**, 839-845.
- [7] Huang, Y.C., Chen, C.T., Chen, S.C., et al. (2005) A Natural Compound (Ginsenoside Re) Isolated from *Panax ginseng* as a Novel Angiogenic Agent for Tissue Regeneration. *Pharmaceutical Research*, **22**, 636-646.

<https://doi.org/10.1007/s11095-005-2500-3>

- [8] Lee, S.J., Ko, W.G., Kim, J.H., *et al.* (2000) Induction of Apoptosis by a Novel Intestinal Metabolite of Ginseng Saponin via Cytochrome c-Mediated Activation of Caspase-3 Protease. *Biochemical Pharmacology*, **60**, 677-685.
- [9] 张虹, 付雯雯, 徐华丽, 等. 20(s)-原人参二醇、人参皂苷 Rh2 及人参皂苷 Rg3 抗肿瘤作用的对比[J]. 中国老年学杂志, 2014(17): 4911-4913.
- [10] 郭亚雄, 刘艳波, 李德龙, 等. 20(s)-原人参二醇对前列腺癌 RM-1 细胞的生长抑制作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2010, 36(2): 349-353.
- [11] 许宏, 杨佳卉, 杨景丽. 原人参二醇对人肺腺癌 A549 细胞作用的 meta 分析[J]. 甘肃科技, 2016, 32(4): 135-137.
- [12] Tawab, M.A., Bahr, U., Karas, M., *et al.* (2003) Degradation of Ginsenosides in Humans after Oral Administration. *Drug Metabolism & Disposition*, **31**, 1065-1071. <https://doi.org/10.1124/dmd.31.8.1065>
- [13] Bae, E.A., Choo, M.K., Park, E.K., *et al.* (2002) Metabolism of Ginsenoside R(c) by Human Intestinal Bacteria and Its Related Antiallergic Activity. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **25**, 743-747. <https://doi.org/10.1248/bpb.25.743>
- [14] Dong, H.J., Jiang, B.H., Han, Y., *et al.* (2010) Transformation of Compound K from Saponins in Leaves of Panaxnotoginseng by Immobilized β -Glucanase. *Chinese Herbal Medicines*, **2**, 1044-1047.
- [15] 刘娜, 朴虎日, 李宁, 等. 原人参二醇及其衍生物的化学与抗癌活性研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2008, 18(5): 384-388.
- [16] 孟庆国, 衣松涛, 何杰, 等. 20(S)-原人参二醇及 20(S)-原人参三醇新衍生物的设计、合成及体外抗肿瘤活性测定 [C]//中国药学会. 创新药物及新品种研究、开发学术研讨会论文集: 2006 年卷. 烟台: 中国药学会, 2006: 133-139.
- [17] 张锐, 徐华丽, 于小凤, 等. 20(S)-原人参二醇对 SMMC-7721 细胞体内外作用的研究[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(11): 1504-1508.
- [18] Zheng, Z.Z., Ming, Y.L., Chen, L.H., *et al.* (2014) Compound K-Induced Apoptosis of Human Hepatocellular Carcinoma MHCC97-H Cells *in Vitro*. *Oncology Reports*, **32**, 325-331.
- [19] Oh, S.H., Yin, H.Q. and Lee, B.H. (2004) Role of the Fas/Fas Ligand Death Receptor Pathway in Ginseng Saponin Metabolite-Induced Apoptosis in Hepg2 Cells. *Archives of Pharmacal Research*, **27**, 402-406. <https://doi.org/10.1007/BF02980081>
- [20] Liu, X., Kim, C.N., Yang, J., *et al.* (1996) Induction of Apoptotic Program in Cell-Free Extracts: Requirement for dATP and Cytochrome c. *Cell*, **86**, 147-157. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80085-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80085-9)
- [21] 明艳林, 郑志忠, 陈良华, 等. 人参皂苷 IH901 抗肝癌生长及其侵袭转移的作用机理[J]. 中国科学: 生命科学, 2011, 41(3): 219-225.
- [22] Song, G., Chen, G.G., Yun, J.P., *et al.* (2009) Association of p53 with Bid Induces Cell Death in Response to Etoposide Treatment in Hepatocellular Carcinoma. *Current Cancer Drug Targets*, **9**, 871-880. <https://doi.org/10.2174/156800909789760302>
- [23] Song, G., Guo, S., Wang, W., *et al.* (2010) Intestinal Metabolite Compound K of Ginseng Saponin Potently Attenuates Metastatic Growth of Hepatocellular Carcinoma by Augmenting Apoptosis via a Bid-Mediated Mitochondrial Pathway. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, **58**, 12753-12760. <https://doi.org/10.1021/jf103814f>
- [24] Cho, S.H., Chung, K.S., Choi, J.H., *et al.* (2009) Compound K, a Metabolite of Ginseng Saponin, Induces Apoptosis via Caspase-8-Dependent Pathway in HL-60 Human Leukemia Cells. *BMC Cancer*, **9**, 449.
- [25] Zhu, G.Y., Li, Y.W., Tse, A.K.W., *et al.* (2011) 20(S)-Protopanaxadiol, a Metabolite of Ginsenosides, Induced Cell Apoptosis through Endoplasmic Reticulum Stress in Human Hepatocarcinoma HepG2 Cells. *European Journal of Pharmacology*, **668**, 88-98.
- [26] Mochizuki, M., Yoo, Y.C., Matsuzawa, K., *et al.* (1995) Inhibitory Effect of Tumor Metastasis in Mice by Saponins, Ginsenoside-Rb2, 20(R)- and 20(S)-Ginsenoside-Rg3, of Red Ginseng. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **18**, 1197-1202. <https://doi.org/10.1248/bpb.18.1197>
- [27] Ming, Y.L., Song, G., Chen, L.H., *et al.* (2007) Anti-Proliferation and Apoptosis Induced by a Novel Intestinal Metabolite of Ginseng Saponin in Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Cell Biology International*, **31**, 1265-1273. <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2007.05.005>
- [28] Ming, Y.L., Zheng, Z.Z., Chen, L.H., *et al.* (2007) Apoptosis Induced by a Novel Intestinal Metabolite of Ginseng Saponin in Human Hepatocellular Carcinoma BEL-7402 Cells. *Chinese Traditional & Herbal Drugs*, **38**, 1511-1514.
- [29] Saiki, I. (2007) *In Vivo* Anti-Metastatic Action of Ginseng Saponins Is Based on Their Intestinal Bacterial Metabolites after Oral Administration. *Journal of Ginseng Research*, **31**, 1-13. <https://doi.org/10.5142/JGR.2007.31.1.001>
- [30] Usami, Y., Liu, Y.N., Lin, A.S., *et al.* (2008) Antitumor Agents. 261. 20(S)-Protopanaxadiol and 20(S)-Protopanaxa-

- triol as Antiangiogenic Agents and Total Assignment of (1)H NMR Spectra. *Journal of Natural Products*, **71**, 478-481. <https://doi.org/10.1021/np070613q>
- [31] 冷吉燕, 付军, 王继萍. 20(s)-原人参二醇对肝癌血管内皮生长因子及碱性成纤维细胞生长因子蛋白表达的影响[J]. 临床肝胆病杂志, 2008, 24(1): 42-43.
- [32] 张国成, 秦俊杰, 冷吉燕. 20(S)-原人参二醇抑制肝癌血管内皮生长因子及其基因的表达[J]. 中国老年学杂志, 2006, 26(7): 945-946.
- [33] 秦俊杰, 杨艳秋, 李颖新, 等. 20(S)-原人参二醇对肝癌间质血管密度和肿瘤细胞增殖活性的影响[J]. 临床肝胆病杂志, 2006, 22(4): 260-261.
- [34] Ming, Y., Chen, Z., Chen, L., *et al.* (2010) Ginsenoside Compound K Attenuates Metastatic Growth of Hepatocellular Carcinoma, Which Is Associated with the Translocation of Nuclear Factor- κ B p65 and Reduction of Matrix Metalloproteinase-2/9. *Planta Medica*, **77**, 428-433. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250454>
- [35] Zhao, Y., Bu, L., Yan, H., *et al.* (2009) 20S-Protopanaxadiol Inhibits P-Glycoprotein in Multidrug Resistant Cancer Cells. *Planta Medica*, **75**, 1124-1128. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1185477>
- [36] 明艳林, 郑志忠, 陈良华, 等. 20-O- β -D-吡喃葡萄糖苷-20(S)-原人参二醇对抗肝癌药物的增敏作用研究[J]. 中草药, 2010, 41(6): 935-938.
- [37] 陈明侠, 徐华丽, 于小凤, 等. 20(S)-原人参二醇的抗肿瘤及免疫调节作用研究[J]. 中国药师, 2007, 10(12): 65-68.
- [38] Kang, S., Kim, J.E., Song, N.R., *et al.* (2014) The Ginsenoside 20-O- β -D-Glucopyranosyl-20(S)-Protopanaxadiol Induces Autophagy and Apoptosis in Human Melanoma via AMPK/JNK Phosphorylation. *PLoS ONE*, **9**, e104305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104305>

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: tcm@hanspub.org