

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.01.006

姜黄素对脑缺血再灌注损伤大鼠 PI3K/AKT/mTOR 的影响*

兰晶, 潘敬芳

(宜昌市中心人民医院/三峡大学第一临床医学院神经内科, 宜昌湖北 443000)

[摘要] **目的** 探讨姜黄素对大鼠脑缺血再灌注损伤的作用及机制。**方法** 通过线栓法构建大鼠脑缺血再灌注损伤模型。评估姜黄素对大鼠脑梗死范围、脑含水量、神经症状、脑组织病理形态,以及磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(AKT)、磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)、雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、丙二醛(MDA)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、超氧化物歧化酶(SOD)、B 细胞淋巴瘤因子 2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(Caspase-3)、活化性半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶 3(Cleavage-Caspase-3)的表达影响。**结果** 姜黄素对脑缺血再灌注损伤有保护作用,其可以减轻大鼠神经症状和脑组织病理形态的改变,以及脑梗死面积和脑含水量。此外,姜黄素还可以减轻 MDA、Bax、Cleavage-Caspase-3、促炎症细胞因子 IL-6、MCP-1 和 TNF- α 的表达,增加 PI3K、p-AKT、mTOR、Bcl-2、Caspase-3、CAT、GPX 与 SOD 表达。**结论** 姜黄素预处理对脑缺血再灌注有明显保护作用,该作用可能与激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路激活而抑制炎症、凋亡和氧化应激相关。

[关键词] 姜黄素;脑缺血;再灌注损伤;炎症;凋亡;氧化应激;PI3K/AKT/mTOR

[中图分类号] R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)01-0036-04

Effect of curcumin on PI3K/AKT/mTOR in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury*

Lan Jin, Pan Jingfang

(Department of Neurology, Yichang Municipal Central People's Hospital/ First College of Clinical Medical Science, Three Gorges University, Yichang, Hubei 443000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect and mechanism of curcumin on rat cerebral ischemia reperfusion injury. **Methods** The rat model of cerebral ischemia reperfusion injury was constructed by the suture-occluded method. The effects of curcumin on cerebral infarction range, cerebral water content, neurological symptoms, cerebral histopathological morphology and expressions of PI3K, AKT, p-AKT, m-TOR, MDA, CAT, GPX, SOD, Bcl-2, Bax, Caspase-3 and Cleavage-Caspase-3 were evaluated. **Results** Curcumin had the protective effect on cerebral ischemia reperfusion injury, could alleviate the neurological symptoms, decreased the cerebral tissue pathological morphological changes and cerebral water content, in addition, which could alleviate the expressions of MDA, Bax, Cleavage-Caspase-3, IL-6, MCP-1 and TNF- α and increased the expressions of PI3K, p-AKT, mTOR, Bcl-2, Caspase-3, CAT, GPX and SOD. **Conclusion** The curcumin pretreatment has the significantly protective effect on cerebral ischemia-reperfusion injury, which may be associated with activating PI3K/AKT/mTOR signal pathway, while suppressing inflammation, apoptosis and oxidative stress.

[Key words] curcumin; brain ischemia; reperfusion injury; inflammation; apoptosis; oxidative stress; PI3K/AKT/mTOR

脑缺血再灌注损伤是脑血供中断后,重新恢复大脑血供导致脑损伤反而加重的临床危象,是人类致死和致残的重要原因,仅次于心脏疾病和癌症。因此,减轻脑缺血再灌注损伤具有重要的临床现实意义。其发病机制复杂,具体机制尚不清楚^[1-3]。目前研究显示其发病机制可能为脑供血中断,导致脑组织细胞缺血、缺氧,诱发炎症、细胞凋亡和氧化自由基的产生,而恢复血供后进一步诱发炎症级联反应、细胞凋亡及氧自由基,因此抑制炎症、凋亡和氧化应激是减轻脑缺血再灌注损伤的有效途径^[1-3]。姜黄素(curcumin)是从姜科姜黄属植物如姜黄、莪术、郁金的干燥根茎中提取的一种天然有效成分,最近研究发现其有抗氧化、抗凋亡和抗炎的活性^[4-8],而炎症、细胞凋亡和氧化应激是脑缺血再灌注损伤的重要致病机制^[1-3]。本实验利用大鼠构建脑缺血再灌注损伤模型,探讨姜黄素对脑缺血再灌注损伤后的作用及其潜在机制。

1 材料与方

1.1 材料 姜黄素(Sigma 公司,USA)经 HPLC 鉴定纯度超

过 99%,用含 6%(体积分数)的乙醇和 6%(体积分数)聚乙二醇稀释,水合氯醛(Google 生物)。磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3Ks, CST 公司, USA),磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT, CST 公司, USA),蛋白激酶 B(AKT, CST 公司, USA),雷帕霉素靶蛋白(mTOR, CST 公司, USA),B 细胞淋巴瘤因子 2(Bcl-2, CST 公司, USA),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax, CST 公司, USA),半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(Caspase-3, CST 公司, USA),活化性半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶 3(Cleavage-Caspase-3, CST 公司, USA),三氨基甲烷(TRIZOL)试剂(Invitrogen 公司, USA),逆转录试剂盒(GeneCopoeia 公司, USA),双链嵌合荧光染色 SYBR green(Takara 公司, Japan),实时聚合酶链反应(RT-PCR)引物(擎科生物技术有限公司,订单号 SY14032221),苏木素-伊红染色(HE)试剂由三峡大学中心实验室配制。紫外分光光度计(Thermo fisher)、逆转录仪(ependorf)、RT-PCR 仪(BIO-RAD IQ5)、显微镜(Olympus BX51)及成像系统(HITMAS-30)均为潍坊医学院提供。SD 大鼠购自北京华福

* 基金项目:湖北省宜昌市科技基金资助项目(A11301-05)。 作者简介:兰晶(1979-),主治医师,硕士,从事脑缺血再灌注损伤方面研究。

康实验动物中心,SPF 级,质量合格证号 420131024,饲养于三峡大学动物实验中心,许可证号 SYXK(20130145),设施使用证明号 00134727。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立与分组 50 只健康雄性 SD 大鼠,2 月龄,体质量 250~280 克。适应性喂养 1 周后,状态良好,分为假手术组(Sham 组),模型组(IRI 组)和姜黄素组(Cur 组),每组 10 只。Cur 组术前 30 min 给予姜黄素 25、50、100 mg/kg 腹腔注射,剂量参考文献[9]。Sham 组和 IRI 组则给予等体积腹腔注射生理盐水,Sham 组只分离动脉不插线;模型组和 Cur 组方法建立大脑中动脉闭塞再灌注(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型,具体方法参考文献[9],手术过程顺利,无死亡动物,术后各组单笼喂养,自由进食、饮水。

1.2.2 神经症状评分、脑梗死范围及脑含水量测定 大鼠脑缺血再灌注 24 h 后,按文献[9]制订的 5 分制标准进行评分。0 分:正常,无神经损伤症状;1 分:不能完全伸展对侧前爪;2 分:向外侧转圈;3 分:向对侧倾倒;4 分:不能自发行走,意识丧失。大鼠脑缺血再灌注损伤 24 h 后,快速断头取脑,-20 ℃速冻 30 min,去除嗅球、小脑和低位脑干,脑组织从额极向后做连续冠状切成 5 片,将脑片置入 37 ℃ 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)染料中温浴 30 min。染色结果白色为梗死灶,红色为正常脑组织。数码相机拍照,应用图像分析系统测量脑梗死面积并计算脑梗死体积占大脑总体积的百分比。大鼠脑缺血再灌注损伤 24 h 后将大鼠断头,去掉嗅球、小脑和低位脑干,称取大脑湿质量,107 ℃烘烤 72 h 后称取干质量。脑含水量(%)=(湿质量-干质量)/湿质量×100%。

1.2.3 脑组织病理组织学检查 脑组织置于 4%多聚甲醛液 4 ℃后固定 1 周。依次脱水、透明、浸蜡及包埋,行厚 8 μm 冠状切片,常规 HE 染色、封片,光镜下观察,损伤评分参考文献[9]。

1.2.4 Western blot 检测 取脑组织于精微天平称质量,按照每 50 mg 组织中加入 1 mL RIPA 裂解液(以 1:50 加入 50×cocktail),检测脑组织 PI3K(1:2 000),p-AKT(1:1 000),AKT(1:1 000),mTOR(1:500),Bax(1:500),BCL-2(1:500),Caspase-3(1:500),Cleavage-Caspase-3(1:500),β-actin(1:3 000)表达,具体方法参考文献[10]。

1.2.5 RT-PCR 检测脑组织中巨噬细胞炎症因子 1(MCP-1)、白细胞介素 6(IL-6)和肿瘤坏死因子(TNF-α)的 mRNA 表达 称取适量脑组织,置入 1.5 mL EP 管中,利用 TRIzol 法提取总 RNA,紫外分光光度计测定 RNA 水平。采用 TaqMan Reverse Transcription Reagents 试剂盒,将 mRNA 反转录成 cDNA。取反转录产物采用 Power SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒进行 RT-PCR 反应。PCR 以 β-actin 为内参,具体方法参考文献[9]。取缺血侧大脑皮层,所用特异性引物为擎科生物技术有限公司合成。TNF-α 引物大小为 75 bp,上游引物:5'-GCC TCG TCT CAT AGA CAA GAT GGT-3';下游引物:5'-GAA GGC AGC CCT GGT AAC C-3'。MCP-1 引物大小为 143 bp,上游引物:5'-TCT CGC CCA GGG AGT GCA AAG AGA G-3';下游引物:5'-TAT CGC CAA GGG AAC ATC TCG AAG CG-3'。IL-6 引物大小为 84 bp,上游引物:5'-CTG CAA GAG ACT TCC ATC CAG-3';下游引物 5'-AGT GGT ATA GAC AGG TCT GTT GG-3'。β-actin 引物大小为 610 bp,上游引物:5'-AGA GGG AAA TCG TGC GTG AC-3';下游引物:5'-CAA TAG TGA TGA CCT GGC CGT-3'。扩增

条件为:95 ℃(10 min)→95 ℃(10 s)→60 ℃(1 min)×40 个循环,利用图像分析仪器上进行扫描分析,将 IL-6、MCP-1 和 TNF-α 基因扩增产物的密度与 β-actin 基因扩增产物的密度之比作为 IL-6、MCP-1 和 TNF-α 基因表达值。

1.2.6 酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清中 IL-6、MCP-1 和 TNF-α 表达水平 按照 ELISA 试剂盒说明书操作步骤检测血清中 IL-6、MCP-1 和 TNF-α 表达水平。

1.2.7 测定脑组织匀浆中指标水平 按照 ELISA 试剂盒说明书测定脑组织匀浆中脑组织中丙二醛(MDA)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和超氧化物歧化酶(SOD)水平,具体步骤按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法 采用 SPSS18.0 统计软件进行资料分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间比较采用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

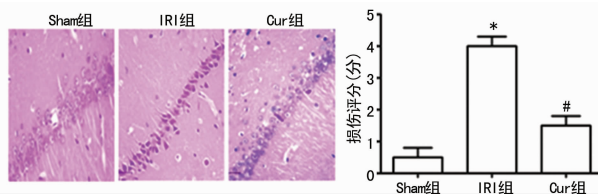
2.1 姜黄素对大鼠神经症状,脑梗面积和脑含水量的影响 与 Sham 组相比,IRI 组神经行为缺陷,脑梗死面积和脑含水量均明显增加(*P*<0.05),而 Cur(低、中、高剂量)组与 IRI 组相比,神经行为缺陷,脑梗死面积和脑含水量均明显降低(*P*<0.05),见表 1。姜黄素 100 mg/kg 可得到最佳保护效果。

表 1 姜黄素对脑梗死、脑水肿和神经功能缺损的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	<i>n</i>	脑梗死(%)	脑含水量(%)	神经功能缺损(分)
Sham 组	10	0	75.18±1.41	0
IRI 组	10	31.68±4.25 ^a	86.79±2.17 ^a	2.98±0.75 ^a
Cur 组(20 mg/kg)	10	21.18±3.15 ^{ab}	81.11±1.96 ^{ab}	2.33±0.55 ^{ab}
Cur 组(50 mg/kg)	10	18.23±2.38 ^{ab}	79.43±2.03 ^{ab}	2.11±0.41 ^{ab}
Cur 组(100 mg/kg)	10	15.64±1.96 ^{ab}	77.68±1.75 ^b	2.01±0.25 ^{ab}

^a:*P*<0.05,与 Sham 组比较;^b:*P*<0.05,与 IRI 组比较。

2.2 姜黄素对脑组织病理结构的影响 与 Sham 组相比,IRI 组神经元细胞损伤,固缩核和神经元染色均明显增加(*P*<0.05),其损伤评分分别为 IRI 组(4.0±0.5)分,而 Sham 组(0.5±0.5)分。与 IRI 组相比,Cur 组神经元细胞损伤,固缩核和神经元染色均明显降低(*P*<0.05),其损伤评分为(1.5±0.5)分,见图 1。



*:*P*<0.05,与 Sham 组比较;#:*P*<0.05,与 IRI 组比较。

图 1 姜黄素预处理对脑组织病理结构的影响(×400)

2.3 姜黄素对 PI3K、AKT、p-AKT、m-TOR 蛋白表达的影响 与 Sham 组相比,IRI 组 PI3K,p-AKT 和 mTOR 表达均明显增高(*P*<0.05),但 AKT 表达差异无统计学意义(*P*>0.05)。与 IRI 组相比,Cur 组 PI3K,p-AKT 和 mTOR 表达均进一步增加(*P*<0.05),而 AKT 表达差异无统计学意义(*P*>0.05),见图 2、表 2。

2.4 姜黄素对脑组织促炎症细胞因子 IL-6、MCP-1 和 TNF-α mRNA 的表达影响 与 Sham 组相比,IRI 组促炎症细胞因子 IL-6、MCP-1 和 TNF-α mRNA 表达水平均明显增高(*P*<

0.05), 而 Cur 组与 IRI 组相比, 促炎症细胞因子 IL-6、MCP-1 和 TNF- α mRNA 表达水平均明显降低 ($P < 0.05$), 见表 3。

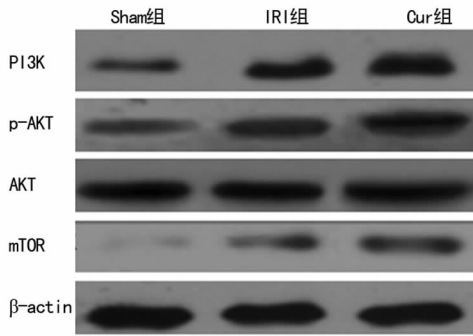


图 2 WB 检测姜黄素预处理对 PI3K、p-AKT、AKT 和 mTOR 蛋白表达的影响

表 2 姜黄素对 PI3K、p-AKT、AKT 和 mTOR 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	PI3K/ β -actin	p-AKT/AKT	mTOR/ β -actin
Sham 组	0.12 \pm 0.03	0.16 \pm 0.03	0.07 \pm 0.02
IRI 组	0.41 \pm 0.03 ^a	0.55 \pm 0.03 ^a	0.36 \pm 0.04 ^a
Cur 组	0.78 \pm 0.04 ^{ab}	0.87 \pm 0.04 ^{ab}	0.54 \pm 0.04 ^{ab}

^a: $P < 0.05$, 与 Sham 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 IRI 组比较。

表 3 姜黄素对 IL-6、MCP-1 和 TNF- α mRNA 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	IL-6	MCP-1	TNF- α
Sham 组	1.00 \pm 0.10	1.00 \pm 0.05	0.95 \pm 0.10
IRI 组	12.00 \pm 1.50 ^a	5.00 \pm 0.40 ^a	7.50 \pm 0.75 ^a
Cur 组	5.00 \pm 0.50 ^b	1.50 \pm 0.50 ^b	2.50 \pm 0.40 ^b

^a: $P < 0.05$, 与 Sham 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 IRI 组比较。

2.5 姜黄素对血清中促炎症细胞因子 IL-6、MCP-1 和 TNF- α 的表达影响 与 Sham 组相比, IRI 组促炎症细胞因子 IL-6、MCP-1 和 TNF- α 表达水平均明显增高 ($P < 0.05$), 而 Cur 组与 IRI 组相比, 促炎症细胞因子 IL-6 水平增高, MCP-1 和 TNF- α 表达水平均明显降低 ($P < 0.05$), 见表 4。

表 4 姜黄素对血清中 IL-6、MCP-1 和 TNF- α 表达影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	IL-6 (pg/mL)	MCP-1 (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
Sham 组	100 \pm 10	110 \pm 20	100 \pm 20
IRI 组	900 \pm 100 ^a	750 \pm 50 ^a	1 350 \pm 150 ^a
Cur 组	4 500 \pm 60 ^{ab}	250 \pm 30 ^b	450 \pm 60 ^b

^a: $P < 0.05$, 与 Sham 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 IRI 组比较。

2.6 姜黄素对 CAT、GPx、SOD 和 MDA 表达影响 与 Sham 组相比, IRI 组 CAT、GPx 和 SOD 表达明显降低 ($P < 0.05$), 而 MDA 表达增高 ($P < 0.05$); Cur 组与 IRI 组相比, CAT、GPx 和 SOD 的表达均明显增高 ($P < 0.05$), 而 MDA 表达降低 ($P < 0.05$), 见表 5。

2.7 姜黄素对脑组织 Caspase3、Cleavage-Caspase-3、Bax 和 BCL-2 表达影响 与 Sham 组相比, IRI 组 Cleavage-Caspase-3 和 Bax 表达明显增高 ($P < 0.05$), 而 Caspase-3 和 Bcl-2 表达明显降低 ($P < 0.05$)。Cur 组与 IRI 组相比, Cleavage-Caspase-3

和 Bax 表达明显降低 ($P < 0.05$), 而 Caspase-3 和 Bcl-2 表达明显增高 ($P < 0.05$), 见图 3、表 6。

表 5 姜黄素对 CAT、GPx、SOD 和 MDA 表达影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	CAT (pg/mL)	GPx (pg/mL)	SOD (pg/mL)	MDA (pg/mL)
Sham 组	88 \pm 6	115 \pm 15	132 \pm 11	100 \pm 30
IRI 组	25 \pm 5 ^a	31 \pm 4 ^a	22 \pm 4 ^a	1 700 \pm 200 ^a
Cur 组	57 \pm 4 ^b	75 \pm 5 ^b	67 \pm 7 ^b	700 \pm 150 ^b

^a: $P < 0.05$, 与 Sham 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 IRI 组比较。

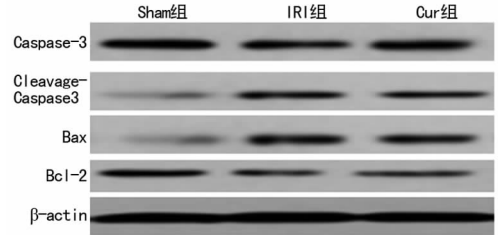


图 3 WB 检测姜黄素预处理对 Cleavage-Caspase-3、Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 蛋白表达的影响

表 6 姜黄素对脑组织 Cleavage-Caspase-3、Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 表达影响

组别	Caspase-3/ β -actin	Cleavage-Caspase-3/ β -actin	Bax/ β -actin	Bcl-2/ β -actin
Sham 组	0.83 \pm 0.05	0.12 \pm 0.03	0.13 \pm 0.02	0.57 \pm 0.04
IRI 组	0.45 \pm 0.03 ^a	0.55 \pm 0.04 ^a	0.68 \pm 0.05 ^a	0.25 \pm 0.02 ^a
Cur 组	0.62 \pm 0.03 ^b	0.23 \pm 0.04 ^b	0.33 \pm 0.04 ^b	0.42 \pm 0.03 ^b

^a: $P < 0.05$, 与 Sham 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 IRI 组比较。

3 讨论

脑缺血再灌注损伤既往常好发于脑外, 休克等过程中的危重症, 但随着心脏体外大循环手术, 心脏移植等多种心血管外科手术的广泛开展, 其发病率越发增高, 已成为诱发脑梗的重要原因, 目前已经严重威胁到人类的身心健康^[1-3]。目前尚无有效的干预手段, 因而要寻找新的药物减轻脑缺血再灌注损伤至关重要。既往研究提示脑缺血再灌注损伤的发病机制涉及炎症、凋亡、氧化应激、坏死、自噬等^[1-3]。本研究发现脑缺血再灌注损伤可上调促炎症细胞因子 IL-6、MCP-1 和 TNF- α 表达, 增加促凋亡蛋白 Cleavage-Caspase-3 Bax 和促氧化应激产物 MDA 表达, 减少抗凋亡蛋白 Caspase-3 和 Bcl-2 表达, 以及下调抗氧化应激产物 CAT、GPx 和 SOD 表达, 这与既往研究结果一致, 进一步证实了炎症、凋亡和氧化应激在脑缺血再灌注损伤中扮演重要角色^[1-3], 因此, 抑制炎症、凋亡和氧化应激是减轻脑缺血再灌注损伤的有效途径。

姜黄素是从姜科植物中提取的一种小相对分子质量的多酚类物质, 是姜黄的主要活性成分, 大约占姜黄的 2%~8%。既往大量研究表明, 姜黄素具有清除自由基、抗氧化、抗真菌、抗炎、抗凋亡、抗癌, 以及改善心血管系统等生物学活性^[4-8]。对心脏、肝脏等器官缺血再灌注损伤具有保护作用, 但对脑缺血再灌注损伤的作用及机制尚不清楚^[10-12]。本研究发现姜黄素对脑缺血再灌注损伤有保护作用, 可减少促炎症细胞因子 IL-6、MCP-1 和 TNF- α 表达, 下调促凋亡蛋白 Cleavage-

Caspase-3 和 Bax 及促氧化应激产物 MDA 的表达,而增加凋亡蛋白 Caspase-3 和 Bcl-2,上调抗氧化应激产物 CAT,GPx 和 SOD 的表达。这显示姜黄素可通过抗炎、抗凋亡和抗氧化应激途径而减轻脑缺血再灌注损伤。但姜黄素在脑缺血再灌注损伤中抑制炎症、凋亡和氧化应激的具体机制不清。

mTOR 是一种进化上相对保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是 AKT 下游的一个重要靶点,可通过磷酸化其下游的靶蛋白,参与基因的转录和蛋白的表达,进而影响炎症、氧化应激、自噬、凋亡等生物学活动^[13]。其激活途径为细胞内外因子通过受体酪氨酸激酶激活 PI3K,活化的 PI3K 在 PDK1 的协同下磷酸化 AKT。活化的 AKT 磷酸化 TSC2,而磷酸化的 TSC2 可通过负向调节使 Rheb 从 TSC1/TSC2 复合物中解聚,从而使 Rheb 活性增强,进而激活 mTOR^[12-14]。本研究发现脑缺血再灌注损伤可增加 PI3K、p-AKT 和 mTOR 的表达,而姜黄素可进一步增加 PI3K、p-AKT 和 mTOR 的表达,这提示姜黄素可进一步增加 PI3K/AKT/mTOR 信号途径的活性,其调节为正向调节。

综上所述,姜黄素可通过进一步促进 PI3K/AKT/mTOR 信号通路激活而减轻炎症、凋亡和氧化应激,进而减轻脑缺血再灌注损伤。但是姜黄素是直接作用于 PI3K 信号分子还是通过调节其上游激酶和(或)信号分子而间接发挥作用仍不清楚,除 PI3K/AKT/mTOR 信号通路外,是否还有其他信号通路涉及姜黄素抑制炎症、凋亡和氧化应激,尚需进一步更深入的研究。

参考文献

- [1] Liu J, Li J, Yang Y, et al. Neuronal apoptosis in cerebral ischemia/reperfusion area following electrical stimulation of fastigial nucleus[J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9(7): 727-734.
- [2] Zhang X, Yan H, Yuan Y, et al. Cerebral ischemia-reperfusion-induced autophagy protects against neuronal injury by mitochondrial clearance[J]. *Autophagy*, 2013, 9(9): 1321-1333.
- [3] Gao HJ, Liu PF, Li PW, et al. Ligustrazine monomer against cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(5): 832-840.
- [4] Gibellini L, Bianchini E, De Biasi S, et al. Natural compounds modulating mitochondrial functions [J]. *Evid*

Based Complement Alternat Med, 2015; 527209.

- [5] Fiorentini D, Zamboni L, Dalla Sega FV, et al. Polyphenols as modulators of aquaporin family in health and disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015; 196914.
- [6] Mahmood K, Zia KM, Zuber M, et al. Recent developments in curcumin and curcumin based polymeric materials for biomedical applications: a review[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 81(15): 877-890.
- [7] Ghosh S, Banerjee S, Sil PC. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: a recent update[J]. *Food Chem Toxicol*, 2015(83): 111-124.
- [8] Shanmugam MK, Rane G, Kanchi MM, et al. The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment[J]. *Molecules*, 2015, 20(2): 2728-2769.
- [9] Liu L, Zhang W, Wang L, et al. Curcumin prevents cerebral ischemia reperfusion injury via increase of mitochondrial biogenesis[J]. *Neurochem Res*, 2014, 39(7): 1322-1331.
- [10] Li W, Wu M, Tang L, et al. Novel curcumin analogue 14p protects against myocardial ischemia reperfusion injury through Nrf2-activating anti-oxidative activity[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 282(2): 175-183.
- [11] Fan Z, Jing H, Yao J, et al. The protective effects of curcumin on experimental acute liver lesion induced by intestinal ischemia-reperfusion through inhibiting the pathway of NF- κ B in a rat model[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014; 191624.
- [12] Wu NC, Wang JJ. Curcumin attenuates liver warm ischemia and reperfusion-induced combined restrictive and obstructive lung disease by reducing matrix metalloproteinase 9 activity[J]. *Transplant Proc*, 2014, 46(4): 1135-1138.
- [13] Bockaert J, Marin P. mTOR in brain physiology and pathologies[J]. *Physiol Rev*, 2015, 95(4): 1157-1187.
- [14] Latacz A, Russell JA, Oclon E, et al. mTOR pathway - novel modulator of astrocyte activity[J]. *Folia Biol (Kra-kow)*, 2015, 63(2): 95-105.

(收稿日期: 2016-07-18 修回日期: 2016-09-08)

(上接第 35 页)

- [6] 张淑华. 大豆苷元对宫颈癌 HeLa 细胞增殖及凋亡的影响和机制[D]. 扬州: 扬州大学, 2011.
- [7] Chen ZP, Yeung DC. Regulation of p53 expression in HeLa cells[J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1996, 38(3): 607-616.
- [8] Yatagai C, Singu T, Maruyama M, et al. Genistein and its analogue enhanced tissue plasminogen activator activity in HeLa S3 [J]. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2007, 36(6): 298-304.
- [9] Kim SH, Kim SH, Kim YB, et al. Genistein inhibits cell growth by modulating various mitogen-activated protein kinases and AKT in cervical cancer cells[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009(1171): 495-500.

- [10] Lee DE, Lee KW, Jung SK, et al. 6,7,4'-trihydroxyisoflavone inhibits HCT-116 human colon cancer cell proliferation by targeting CDK1 and CDK2 [J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(4): 629-635.
- [11] Yashar CM, Spanos WJ, Taylor DD, et al. Potentiation of the radiation effect with genistein in cervical cancer cells [J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 99(1): 199-205.
- [12] Guo JM, Kang GZ, Xiao BX, et al. Effect of daidzein on cell growth, cell cycle, and telomerase activity of human cervical cancer in vitro[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2004, 14(5): 882-888.

(收稿日期: 2016-07-15 修回日期: 2016-08-18)