

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.17.006
网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190617.0900.003.html(2019-06-17)

姜黄素对神经胶质瘤细胞的抑制作用及机制研究*

王泽夏^{1,2},封 烨¹,刘 菲¹,余良主¹,李敏才^{1△},胡美纯¹
(1.湖北科技学院药学院,湖北咸宁 437100;2.信阳农林学院,河南信阳 464006)

[摘要] **目的** 探讨天然中药小分子化合物姜黄素对人神经胶质瘤的作用及调节机制。**方法** 以人胶质母细胞瘤 U251 细胞株为研究对象,采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测不同浓度姜黄素在 24、48、72 h 对 U251 增殖的作用,通过划痕实验、Transwell 小室方法检测姜黄素对 U251 细胞迁移和侵袭能力的调节;膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)荧光染色法检测姜黄素对 U251 细胞凋亡的作用;以 Western blot 检测姜黄素对蛋白激酶 B(Akt)、磷酸化 Akt(p-Akt)、人第 10 号染色体缺失磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)蛋白表达的影响。**结果** 与对照组相比,姜黄素 10 μmol/L 以上时,对 U251 细胞增殖具有抑制作用;与对照组比较,姜黄素能明显抑制 U251 的迁移与侵袭能力,促进 U251 细胞的凋亡;且姜黄素可明显抑制 p-Akt 蛋白表达、促进 PTEN 蛋白表达,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 姜黄素抑制神经胶质瘤细胞的增殖、迁移、侵袭等作用可能与下调 p-Akt 蛋白、上调 PTEN 蛋白表达有关。

[关键词] 神经胶质瘤;姜黄素;蛋白激酶 B;人第 10 号染色体缺失磷酸酶及张力蛋白同源基因;作用机制

[中图法分类号] R739.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)17-2903-06

Inhibitory effect and mechanism of curcumin on glioma cells*
WANG Zexia^{1,2}, FENG Ye¹, LIU Fei¹, YU Liangzhu¹, LI Mincai^{1△}, HU Meichun¹
(1. School of Pharmacy, Hubei University of Science and Technology, Xianning, Hubei 437100, China;
2. Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang, Henan 464006, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect and regulatory mechanisms of curcumin, a small molecular compound of natural Chinese medicine, on human glioblastoma. **Methods** Human glioblastoma cell line U251 was studied. MTT assay was used to detect the proliferation of U251 at different concentrations of curcumin at 24, 48 and 72 h. The regulation of migration and invasion of U251 cells by curcumin was detected by scratch test and Transwell assay. The effect of curcumin on the apoptosis of U251 cells was detected by Annexin V-FITC fluorescent staining. And Western blot was used to detect the effects of curcumin on the expression of protein kinase B (Akt), phosphorylation-Akt (p-Akt) and phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN) proteins. **Results** The concentration of curcumin more than 10 μmol/L inhibited the proliferation of U251 cells when compared with the control group. And curcumin significantly inhibited the migration and invasion of U251 cells and promoted the apoptosis. Curcumin inhibited the protein expression of p-Akt and promote the protein expression of PTEN with significant difference statistically ($P<0.05$). **Conclusion** Curcumin inhibits the proliferation, migration and invasion of glioma cells, which may be related to the down-regulation of p-Akt protein and up-regulation of PTEN protein expression.

[Key words] glioma; Curcumin; protein kinase B; gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten; mechanism of action

胶质瘤是一种常见的原发性脑肿瘤,包括星形细胞瘤、少突胶质瘤和室管膜瘤。多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)是所有肿瘤中最具侵袭性的实体瘤之一,预后极差。分化不良的 GBM 具有细胞形态多样性、核异型性、核分裂活跃,组织学特征表现为坏死、血管增生和血栓形成等形态学特征^[1]。目前的治疗方式有肿瘤切除、化疗、放疗及抗

血管类靶向药物治疗等;由于 GBM 的特殊性,寻找新的治疗方法或更好的药物具有重要意义。姜黄素[1,7-二(4-羟基-3-甲氧基苯基)-1,6-庚二烯-3,5-二酮, Curcumin]是从姜黄属植物粉末状根茎中分离得到的一种天然多酚类化合物^[2],这种化合物对人类疾病,如炎症性疾病和神经退行性疾病具有积极的治疗作用^[3-4]。有研究表明,姜黄素对肝癌、乳腺癌具有抑制

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81602649)。 作者简介:王泽夏(1992—),助教,硕士,主要从事肿瘤与分子生物学研究。 △ 通信作者, E-mail: mincaili@163.com。

增殖、调节信号通路等多种作用^[3]。蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB), 又称 Akt, 参与细胞存活、细胞周期调节和细胞增殖生长等多种生物学作用^[5]。Akt 受到外部信号刺激时, 磷酸化 Akt(p-Akt) 与许多底物的相互作用体现其调节功能。有文献报道姜黄素能通过调节 Akt 促进卵巢癌细胞的凋亡^[6]。Akt 功能还受到其他因素的拮抗作用, 如人第 10 号染色体缺失磷酸酶及张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)、糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β)和同源盒结构基因(homeobox gene, HOX)B9 的调节^[7]。PTEN 是抑癌基因, PTEN 蛋白可以抑制 Akt 及其下游激酶的活性, 从而抑制肿瘤生长和促进凋亡^[8]。姜黄素在 GBM 中的研究报道较少, 本研究探讨姜黄素对 GBM 的增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响, 进一步揭示对 Akt 及相关蛋白的调节机制, 以为姜黄素临床药理作用提供基础性数据。

1 材料与方法

1.1 材料 人胶质母细胞瘤 U251 细胞株为研究模型。主要相关试剂: 姜黄素购自美国 Sigma 公司; 四甲基偶氮唑盐(MTT)购自碧云天生物技术研究; 二甲亚砜(DMSO)购自美国 Sigma 公司; 达尔伯克改良伊格培养基(DMEM)高糖培养基购自美国 Hyclone 公司; 胎牛血清(FBS)、青霉素-链霉素购自美国 Gibco 公司; Matrigel 胶购自美国 Corning 公司; Hoechst 细胞凋亡检测试剂盒购自碧云天生物技术研究; 膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)双染细胞凋亡检测试剂盒购自上海贝博生物科技有限公司; Akt 抗体(C67E7)购自美国 CST 公司; p-Akt 抗体(bsm-33281M)购置北京博奥森生物技术有限公司; PTEN 抗体(D3Q6G)购自美国 CST 公司; GAPDH 抗体(sc-32233)购自美国 Santa Cruz 公司; Akt 抑制剂(Quercetin)购自美国 Selleck 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人胶质母细胞瘤 U251 细胞培养于 5% CO₂、37 °C 培养箱内。培养基为高糖 DMEM 含 10% FBS 和 1% 青霉素-链霉素, 待细胞长满至 90% 时进行传代, 取细胞对数期进行实验。

1.2.2 MTT 增殖实验 将 U251 细胞消化后调整细胞密度至 8×10^4 个/mL, 按每孔 100 μ L 加至 96 孔板中并放置培养箱中培养过夜。吸去原培养基, 加入 DMEM 高糖培养基 100 μ L, 设 6 个姜黄素浓度[0(对照组)、5、10、20、30、40 μ mol/L], 每个浓度设 5 个复孔, 放入培养箱使药物分别作用 24、48、72 h。作用时间结束后将细胞板取出, 每孔加入 20 μ L 的 MTT(5 mg/mL), 放置培养箱 4 h 后取出。吸去 96 孔板中的液体, 每孔加入 DMSO 150 μ L, 室温反应 15 min 后放置酶标仪中, 使用 490 nm 进行吸光度(OD)的测定。细胞存活率=(实验组 OD 值-对照组 OD 值)/对照

组 OD 值, 设定对照组存活率为 1。

1.2.3 细胞划痕实验 消化后 U251 细胞铺至 6 孔板内培养, 待细胞融合至 90%~95% 时, 使用黄枪头轻轻地在 6 孔板底部划一条线。弃去原培养液, 分别加入含 0(对照组)、10、20 μ mol/L 的姜黄素培养液, 放置培养箱 12 h 后, 弃去培养液, 磷酸盐缓冲液(PBS)润洗 2 次, 4% 多聚甲醛固定 10 min 后拍照。细胞迁移率=(初始细胞间隙-实验组细胞间隙)/(初始细胞间隙-对照组细胞间隙), 设定对照组迁移率为 1。

1.2.4 细胞黏附实验 在冰上将 Matrigel 胶与 DMEM 培养基按 1:2 比例混合后按每孔 30 μ L 加至 96 孔板相应位置中, 放置培养箱内 1 h。用 10 μ mol/L 姜黄素浓度预作用 24 h 后调整细胞密度为 1.5×10^5 个/mL, 每孔加入 100 μ L, 每组设 3 个复孔。将 96 孔板放置培养箱 90 min 后取出, 去培养基 PBS 润洗 2 次, 4% 多聚甲醛固定 10 min, 0.1% 结晶紫染色 5~6 min, PBS 洗去多余结晶紫。每组拍照结果进行细胞计数, 细胞黏附率=姜黄素组细胞数/对照组细胞数。设定对照组黏附率为 1。

1.2.5 细胞侵袭实验 在冰上将 Matrigel 胶与 DMEM 按 1:2 比例混合后按每孔 30 μ L 加至 Transwell 小室中, 同 24 孔板一起放置培养箱 1 h, 取出后将未凝固的 Matrigel 胶吸走。将事先饥饿 24 h 的细胞消化后并调整细胞密度为 6×10^5 个/mL。设 3 个姜黄素浓度组[0(对照组)、10、20 μ mol/L], 每组做 3 个平行组。上室加入 100 μ L 细胞和 100 μ L 含相应药物浓度的 DMEM 无血清培养基。下室加入相对应药物浓度的含血清 DMEM 培养基。放置培养箱培养 24 h 后, 取出弃去培养基, 4% 多聚甲醛固定 10 min, 用棉签轻轻擦去未穿过 Matrigel 胶的细胞, 0.1% 结晶紫染色 5 min, PBS 洗去多余结晶紫, 待干燥后拍照。每组拍照结果进行细胞计数。细胞侵袭率=实验组细胞数/对照组细胞数。设定对照组侵袭率为 1。

1.2.6 细胞 Annexin V-FITC/PI 双染凋亡实验 将无菌的细胞爬片提前放置在 24 孔板内, 把消化的细胞调整密度至 3.5×10^5 个/mL, 以每孔 500 μ L 加入至 24 孔板中过夜。弃除培养基, 加入分别含 0(对照组)、10、20 μ mol/L 的姜黄素培养基并放置培养箱培养 24 h。取出后弃除培养基, PBS 润洗 2 遍后加入 Hoechst 染色液染色 5 min; PBS 润洗 2 次, 每孔加入 400 μ L Annexin V 结合液, 再加入 5 μ L Annexin V-FITC 染色液和 10 μ L PI 染色液, 混匀, 避光室温反应 10 min, PBS 润洗 2 次。取出爬片, 将有细胞面的爬片贴于含有抗荧光淬灭剂的载玻片上, 将载玻片置于正置荧光显微镜上, 使用 UV 激发光拍摄 Hoechst 染色的细胞(细胞核); 使用 Blue 激发光拍摄 Annexin V 染色的细胞(早期凋亡); 使用 Green 激发光拍摄 PI 染色细胞(晚期凋亡或坏死)。

1.2.7 Western blot 实验 将 10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素及 20 $\mu\text{mol/L}$ Akt 抑制剂(Quercetin)作用 24 h 的细胞取出置于冰上。配制裂解液工作液[加强型放射免疫沉淀试验(RIPA)裂解液、苯甲基磺酰氟(PMSF)、磷酸化蛋白酶抑制剂、Cocktail]。用 PBS 润洗细胞 2 次,吸去多余 PBS;加入适量裂解液工作液静置 10 min 使其细胞充分裂解,使用细胞刮刀刮下后再静置 5 min;将细胞转移至离心管中离心(12 000 r/min,4 $^{\circ}\text{C}$,15 min),取上清液,使用二喹啉甲酸(BCA)试剂盒测定蛋白水平并定量;加入相对应体积的 5 $\times$ 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE) Loading buffer 置于 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中煮沸 7 min。按照配方制备凝胶,并再每孔加入等体积样品,并保证每孔蛋白不低于 50 μg ;使用 80 V 电泳至分离胶后改 120 V 电泳至底部。将预先在甲醛浸泡 10 min 的聚偏氟乙烯(PVDF)膜按照相应顺序放置转膜夹内进行转膜(270 mA,70 min)。使用 5%脱脂牛奶封闭 1 h;将 PVDF 按条带大小裁剪后放入对应一抗内 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,TBST 润洗 3 次,每次 10 min;放置对应种属二抗室温孵育 1 h后 TBST 润洗 3 次,每次 10 min 后显影。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行统计分析,所以实验均重复 3 次。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 姜黄素抑制神经胶质瘤细胞增殖 通过观察姜黄素对 U251 细胞增殖的影响,在刺激时间相同的条件下,随着姜黄素刺激浓度升高,U251 细胞增殖活性下

调;在姜黄素刺激浓度相同的条件下,作用时间越长,U251 细胞增殖活性越下降明显,见图 1。本研究认为 10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素刺激 24 h 为理想实验刺激条件。

2.2 姜黄素抑制神经胶质瘤细胞迁移 不同浓度的姜黄素刺激后,对 U251 细胞迁移能力均有明显的抑制作用。与对照组比较,给药组的 U251 细胞迁移能力呈下降趋势,其中 10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素刺激下,细胞迁移能力降低至 76.54%;20 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素刺激下,细胞迁移能力降至 37.61%,与对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。各组细胞划痕图像,见图 2。

2.3 姜黄素减弱神经胶质瘤细胞黏附 与对照组比较,在姜黄素刺激下,U251 细胞黏附能力减弱,见图 3AB。姜黄素组黏附的数量为(207.97 $\pm$ 15.68)个,明显低于对照组的(299.12 $\pm$ 38.40)个;姜黄素组胶质瘤细胞黏附能力下降至 68.60%,见图 3。

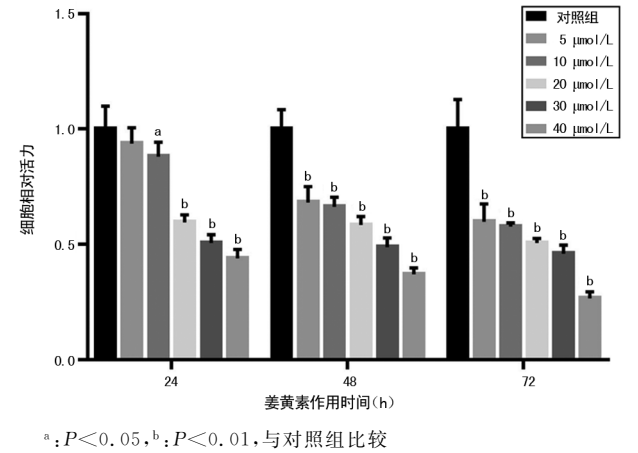
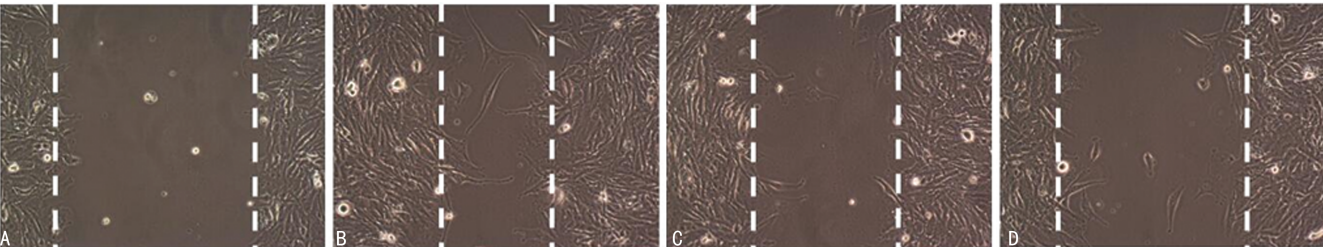
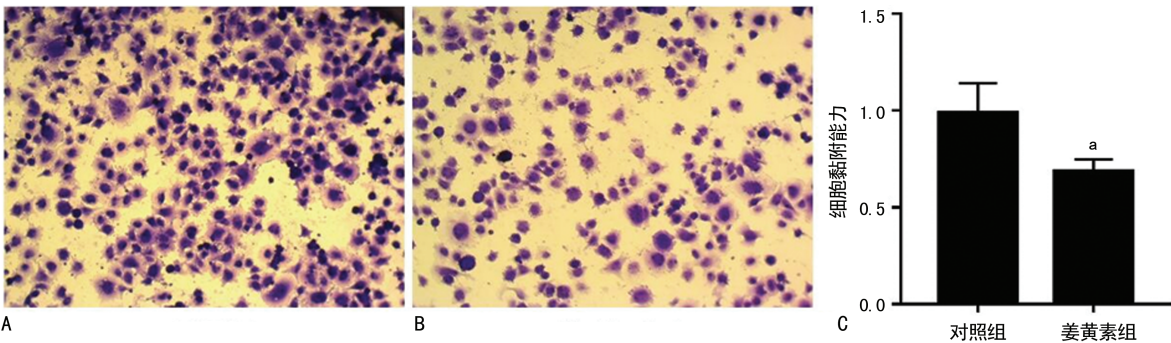


图 1 姜黄素对 U251 细胞增殖的影响 (n=3)



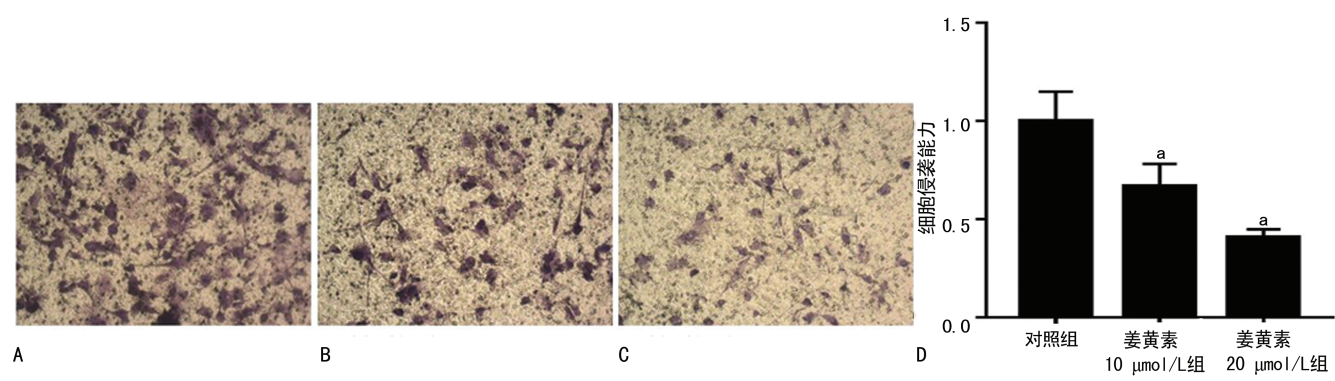
A: 初始划痕图像;B: 对照组细胞迁移 12 h 后;C: 姜黄素 10 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞迁移 12 h 后;D: 姜黄素 20 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞迁移 12 h 后

图 2 各组细胞划痕图像($\times 100$)



A: 对照组;B: 姜黄素组;C: 两组细胞黏附能力比较; a: $P<0.05$, 与对照组比较

图 3 对照组与姜黄素组神经胶质细胞结晶紫染色($\times 100$)及细胞黏附能力比较 (n=3)



A:对照组;B:姜黄素 10 μmol/L 组;C:姜黄素 20 μmol/L 组;D:各组胶质瘤细胞侵袭能力比较;^a: $P<0.01$,与对照组比较

图 4 各组神经胶质细胞结晶紫染色 (×100) 及细胞侵袭能力比较 (n=3)

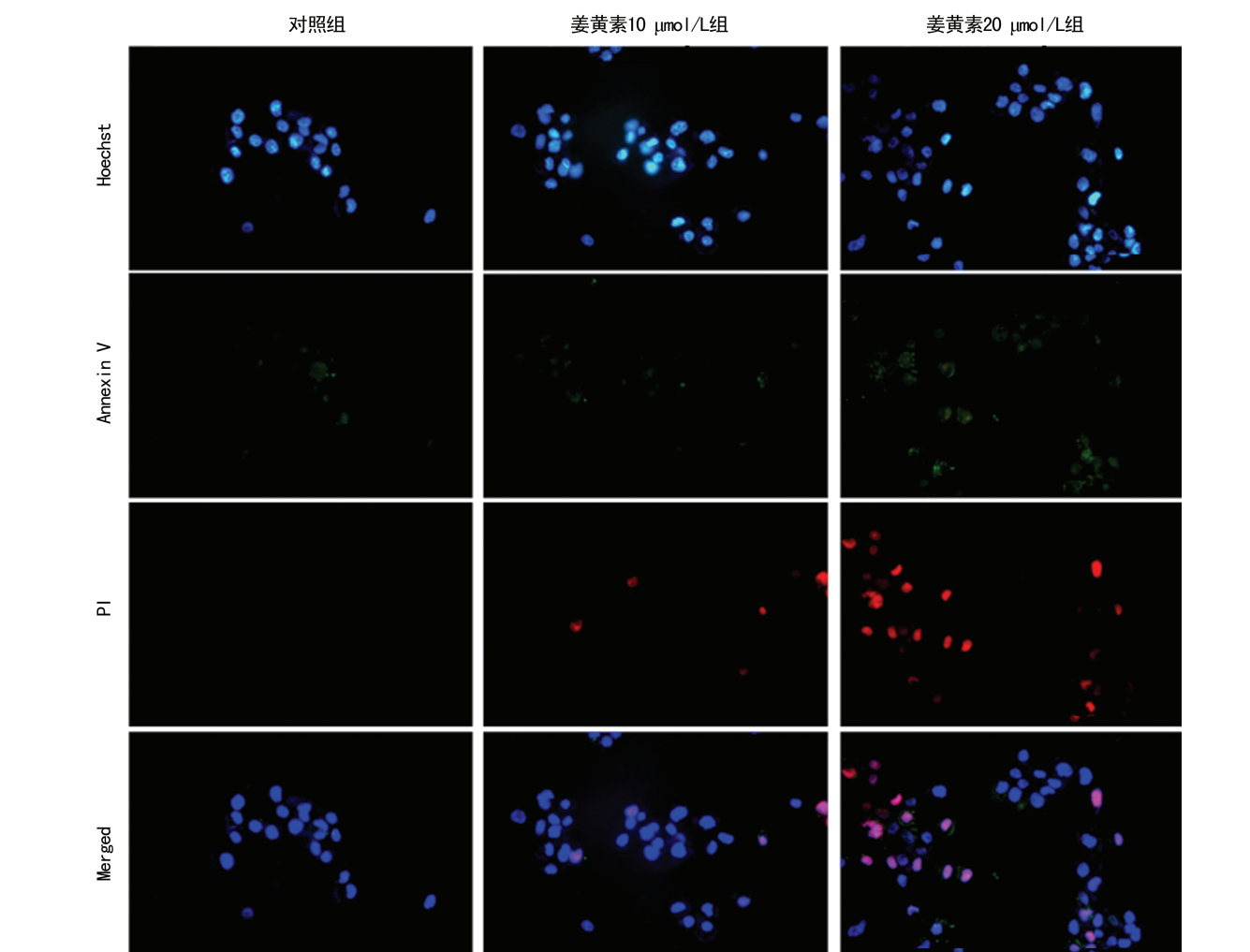
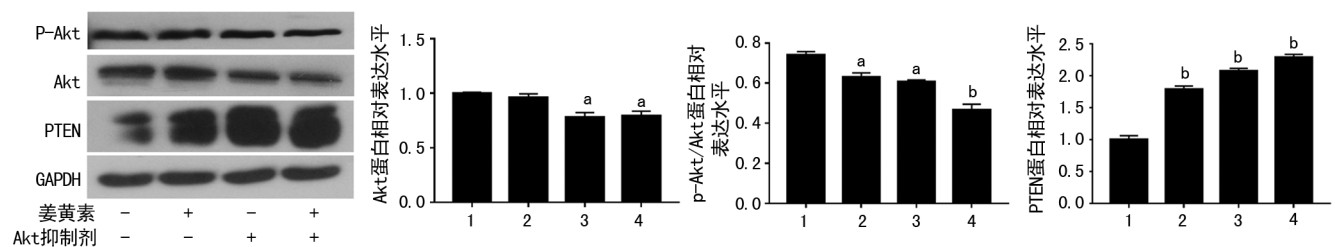


图 5 各组细胞荧光显微镜下 Annexin V-FITC/PI 双染结果 (×100)



1:对照组;2:姜黄素组;3:Akt 抑制剂组;4:姜黄素 + Akt 抑制剂组;^a: $P<0.05$,^b: $P<0.01$,与对照组比较

图 6 各组 U251 细胞中 PTEN、Akt、p-Akt 蛋白表达水平比较 (n=3)

2.4 姜黄素下调神经胶质瘤细胞侵袭能力 在不同浓度姜黄素刺激后,U251 细胞侵袭能力呈下调趋势,Transwell 实验结果显示,10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素组侵袭转移的细胞数量为(110.43 $\pm$ 15.08)个,明显低于对照组的(165.13 $\pm$ 20.07)个;当姜黄素浓度达到 20 $\mu\text{mol/L}$ 时,侵袭转移的细胞数量为(65.57 $\pm$ 5.36)个,胶质瘤细胞的侵袭能力明显下调至41.00%,见图 4。

2.5 姜黄素促进神经胶质瘤细胞凋亡 随着姜黄素浓度升高,Annexin V-FITC 染色阳性细胞及 PI 染色阳性细胞均逐渐增加,提示胶质瘤细胞凋亡和死亡数量增多。与对照组(4.29%)比较,姜黄素 10、20 $\mu\text{mol/L}$ 组 U251 细胞凋亡率(18.99%、32.17%)明显升高,差异均有统计学意义($P<0.01$)。各组细胞荧光显微镜下 Annexin V-FITC/PI 双染结果,见图 5。

2.6 姜黄素对胶质瘤细胞 Akt 和 PTEN 蛋白表达的影响 与对照组比较,姜黄素组 U251 细胞 Akt 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$),见图 6A、B;与对照组相比,姜黄素组 U251 细胞 p-Akt/Akt 表达明显下调($P<0.05$),见图 6A、C。给予 Akt 抑制剂(Quercetin)刺激作用后,与对照组比较,U251 细胞 Akt、p-Akt/Akt 明显下调($P<0.05$),见图 6A、B、C。在姜黄素与 Quercetin 共同刺激下,与对照组比较,U251 细胞 Akt、p-Akt/Akt 表达呈明显下调趋势($P<0.05$),见图 6A、B、C。在姜黄素处理的 U251 细胞,与对照组比较,PTEN 蛋白表达明显提高($P<0.01$),见图 6D。

3 讨论

肿瘤细胞迁移是肿瘤侵袭性的重要表现之一,肿瘤细胞的黏附能力是肿瘤转移重要的生物学特征,肿瘤细胞的侵袭性是良恶性肿瘤的重要标志。本研究探讨姜黄素对胶质瘤细胞 U251 作用研究,发现姜黄素对胶质瘤细胞的增殖、迁移、侵袭等方面有明显抑制作用,并检测到 p-Akt、PTEN 蛋白水平表达变化,揭示姜黄素通过这些相关蛋白调节作用机制影响 GBM 的生物学行为,胶质瘤作为颅内最常见的原发性肿瘤,病死率极高,其治疗显得特别重要。目前基本治疗手段是手术加放疗,由于肿瘤浸润性生长方式、放射性损伤周围正常脑组织的特点,导致治疗效果差。自从 2005 年美国食品和药品管理局(FDA)批准了口服烷基化剂替莫唑胺(TMZ)治疗 GBM 以来, TMZ 被认为是 GBM 的一线化疗剂^[9],其分子机制是 TMZ 诱导 DNA 烷基化、形成交联,触发细胞凋亡。TMZ 治疗缺点是在脑肿瘤内会产生耐药性^[10]。FDA 批准的另一种治疗 GBM 药物是贝伐单抗,是人源化的抗 VEGF-A 单克隆抗体。VEGF 促进血管生成,

可上调 VEGF 信号转导通路^[11]。贝伐单抗通过抑制胶质瘤血管生成、下调 VEGF 信号通路起到治疗作用。有研究发现贝伐单抗与静脉血栓栓塞、出血和胃肠穿孔等不良反应有关^[12]。大多数抗 GBM 治疗药物涉及单一靶点的调节^[13],开发新的多靶点、更安全的抗 GBM 药物具有重要意义。

中药成分姜黄素来源广泛,在中国传统食物如生姜等食物含量成分很大。二酮类化合物姜黄素具有抗炎、抗氧化、降脂等作用,广泛应用于慢性疾病治疗。临床研究表明,姜黄素单独或与其他药物合用,对癌症患者具有良好的抗癌效果;姜黄素和紫杉醇协同作用可以抑制乳腺癌细胞的生长^[14];姜黄素能增强顺铂、依托泊苷和喜树碱对癌细胞的损伤作用^[15-16]。说明姜黄素对不同类型肿瘤细胞效应作用存在一定的分子靶点。ZHANG 等^[17]报道姜黄素制剂能穿过小鼠的血脑屏障,这对姜黄素在治疗颅内疾病方面提供了实验依据,为姜黄素对胶质瘤的治疗提供了极大的可能性。

恶性肿瘤细胞属性是无限的增殖与浸润性生长,肿瘤细胞凋亡是影响肿瘤生长的重要因素。本研究发现姜黄素可明显抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移、侵袭,具有抗肿瘤作用,证明了姜黄素除能对除实体瘤以外的肿瘤也具有抗肿瘤作用。本研究还表明姜黄素能明显促进 GBM 细胞凋亡的作用,也是对姜黄素抑制胶质瘤细胞增殖的解释之一。

Akt/p-Akt 是细胞增殖与信号调节通路的重要分子,Akt 是信号传导途径中重要的蛋白激酶,p-Akt 是 Akt 激活的主要机制,介导多种生物学效应。姜黄素通过联合甘草次酸下调 PI3K/Akt/PTEN 信号通路的活化,从而抑制肝癌细胞生长^[18];姜黄素能通过 Akt/PTEN/FOXO4 通路诱导 p53 基因表达缺失的肝癌细胞株 Hep3B 凋亡^[19]。这些研究表明,姜黄素可以通过 Akt/PTEN 通路有效的抑制恶性肿瘤细胞增殖。本研究中姜黄素对总 Akt 表达没有明显的影响,对 p-Akt 表达有明显下调作用;发现姜黄素与 Akt 抑制剂(Quercetin)有明显的协同效应。本研究认为姜黄素可通过 p-Akt/Akt 活性调节 GBM 增殖、侵袭与迁移。

PTEN 是肿瘤组织中的抑癌基因,PTEN 蛋白的沉默促进肿瘤发生。PTEN 蛋白是具有脂质和蛋白磷酸酯酶活性的双特异性磷酸酯酶,对肿瘤增殖、迁移有抑制作用。本研究发现姜黄素能上调胶质瘤细胞中 PTEN 表达,对胶质瘤细胞的发挥抑制作用。LEE 等^[20]报道 PI3K/Akt 活性调节诱导 PTEN 泛素化促进肿瘤形成,在本研究中姜黄素下调了 p-Akt 活性、抑制 PTEN 泛素化作用,上调 PTEN 表达从而抑

制胶质瘤的形成。因此本研究解释了姜黄素通过下调 Akt/PTEN 通路抑制胶质瘤细胞增殖。

姜黄素对 GBM 作用可能有更多的分子靶点参与其中,如姜黄素促进胶质瘤细胞凋亡的分子机制需要进一步研究;本研究中姜黄素对 GBM 作用的实验数据,需要在动物体内的研究证明,是本课题进一步研究的重点。本研究重要意义是天然药物姜黄素对 GBM 治疗提供实验和理论依据,可为能通过血脑屏障的抗 GBM 新药研发工作提供资料。

参考文献

- [1] ROGERS T W, TOOR G, DRUMMOND K, et al. The 2016 revision of the WHO Classification of Central Nervous System Tumours; retrospective application to a cohort of diffuse gliomas[J]. *J Neurooncol*, 2018, 137(1): 181-189.
- [2] VERA-RAMIREZ L, PEREZ-LOPEZ P, VARELA-LOPEZ A, et al. Curcumin and liver disease[J]. *Biofactors*, 2013, 39(1): 88-100.
- [3] REN B, LUO S, TIAN X, et al. Curcumin inhibits liver cancer by inhibiting DAMP molecule HSP70 and TLR4 signaling[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(2): 895-901.
- [4] XIAO Y, XIA J, WU S, et al. Curcumin inhibits acute vascular inflammation through the activation of heme oxygenase-1[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 1-12.
- [5] MANNING B D, TOKER A. AKT/PKB Signaling: Navigating the Network[J]. *Cell*, 2017, 169(3): 381-405.
- [6] ZHANG X, LV Q L, HUANG Y T, et al. Akt/FoxM1 signaling pathway-mediated upregulation of MYBL2 promotes progression of human glioma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 105-123.
- [7] WYATT L A, FILBIN M T, KEIRSTEAD H S. PTEN inhibition enhances neurite outgrowth in human embryonic stem cell-derived neuronal progenitor cells[J]. *J Comp Neurol*, 2014, 522(12): 2741-55.
- [8] LEE Y R, CHEN M, PANDOLFI P P. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor; new modes and prospects[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(9): 547-562.
- [9] CHINOT O L, WICK W, MASON W, et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(8): 709-22.
- [10] PERRY J R, LAPERRIERE N, MASON W P. Radiation plus Temozolomide in Patients with Glioblastoma[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(22): 2195-2197.
- [11] GILBERT M R, DIGNAM J J, ARMSTRONG T S, et al. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(8): 699-708.
- [12] POULSEN H S, URUP T, MICHAELSEN S R, et al. The impact of bevacizumab treatment on survival and quality of life in newly diagnosed glioblastoma patients[J]. *Cancer Manag Res*, 2014(6): 373-387.
- [13] BHATTACHARJEE S, NANDI S. Rare genetic diseases with defects in DNA repair; opportunities and challenges in orphan drug development for targeted cancer therapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 10(9): 1-21.
- [14] CALAF G M, PONCE-CUSI R, CARRION F. Curcumin and paclitaxel induce cell death in breast cancer cell lines[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(4): 2381-2388.
- [15] JIANG H, GENG D, LIU H, et al. Co-delivery of etoposide and curcumin by lipid nanoparticulate drug delivery system for the treatment of gastric tumors[J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(9): 3665-3673.
- [16] CHEN C F, LU C C, CHIANG J H, et al. Synergistic inhibitory effects of cetuximab and curcumin on human cisplatin-resistant oral cancer CAR cells through intrinsic apoptotic process[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 6323-6330.
- [17] ZHANG N, YAN F, LIANG X, et al. Localized delivery of curcumin into brain with polysorbate 80-modified cerasomes by ultrasound-targeted microbubble destruction for improved Parkinson's disease therapy[J]. *Theranostics*, 2018, 8(8): 2264-2277.
- [18] CHANG M, WU M, LI H. Curcumin combined with glycyrrhetic acid inhibits the development of hepatocellular carcinoma cells by down-regulating the PTEN/PI3K/AKT signalling pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(12): 5567-5575.
- [19] LIOU A T, CHEN M F, YANG C W. Curcumin Induces p53-Null Hepatoma Cell Line Hep3B Apoptosis through the AKT-PTEN-FOXO4 Pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 1-12.
- [20] LEE M S, JEONG M H, LEE H W, et al. PI3K/AKT activation induces PTEN ubiquitination and destabilization accelerating tumorigenesis[J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1): 7769-7783.

(收稿日期:2018-10-24 修回日期:2019-03-28)