

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.24.002

四氢姜黄素对大鼠 C6 神经胶质瘤细胞的抑制作用及机制研究*

任 薇¹, 李晓璐², 张 倩², 李楚文^{2△}

(1. 广东省第二中医院/广东省中医药工程技术研究院/广东省中医药研究开发重点实验室, 广州 510095; 2. 广州医科大学药学院, 广州 511436)

[摘要] 目的 探讨四氢姜黄素(THC)对大鼠 C6 神经胶质瘤细胞的抑制作用及机制。方法 采用四甲基偶氮唑盐法检测不同浓度 THC(12.50、25.00、50.00、100.00、200.00、400.00 和 800.00 $\mu\text{mol/L}$) 作用于大鼠 C6 神经胶质瘤细胞后的细胞存活率,通过 Annexin V-FITC/PI 染色和 caspase-3/-7 活化分析检测 C6 细胞凋亡情况,使用 DHE(二氢乙锭)-活性氧(ROS)检测试剂盒在流式细胞仪中检测 ROS 产生量,使用酶联免疫吸附测定试剂盒测量总抗氧化剂(TAS)和 8-羟基-2'-脱氧鸟苷(8-OHdG)水平,通过定量实时逆转录-聚合酶链反应技术检测细胞核内核因子- κB (NF- κB)和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) mRNA 表达量。结果 THC 对 C6 细胞呈浓度和时间依赖性增殖抑制,可诱导 C6 细胞凋亡,THC 处理降低了 C6 细胞中 TAS 水平并增加了 8-OHdG 水平,以剂量依赖性方式增强 PPAR γ mRNA 表达,同时下调 NF- κB 表达量。结论 THC 可通过抑制 C6 胶质瘤细胞 NF- κB 水平和增强 PPAR γ 表达增加 ROS 的产生和降低 TAS 水平,从而促进细胞凋亡。提示 THC 在作为治疗神经胶质细胞瘤的新药开发方面具有一定的潜力和前景。

[关键词] 四氢姜黄素;神经胶质瘤;核因子- κB ;过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ;凋亡**[中图分类号]** R285.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)24-4149-06

Inhibitory effects and mechanisms of tetrahydrocurcumin on C6 glioma cells in rat*

REN Wei¹, LI Xiaojun², ZHANG Qian², LI Chuwen^{2△}

(1. Guangdong Provincial Second Hospital of Traditional Chinese Medicine/Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine Engineering Technology, Guangzhou, Guangdong 510095; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 511436, China)

[Abstract] **Objective** To study on the inhibitory effect and mechanism of tetrahydrocurcumin on rat C6 glioma cells. **Methods** MTT assay was used to detect the cell viability after different concentrations of THC (12.50, 25.00, 50.00, 100.00, 200.00, 400.00 and 800.00 $\mu\text{mol/L}$) acting on C6 cells. Annexin V-fluorescein isothiocyanate (FITC) / propidium iodide (PI) staining and caspase-3/-7 assay were used to detect the apoptosis in C6 cells. And reactive oxygen species (ROS) production was detected by using a kit that is based on the reaction of dihydroethidium (DHE) with superoxide anions by flow cytometry. Total antioxidant status (TAS), 8-hydroxy-2 deoxyguanosine(8-OHdG) levels in the cells were determined by using the ELISA kits. The nuclear factor- κB (NF- κB) and peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) mRNA expression levels were detected by RT-PCR. **Results** THC inhibited the proliferation of C6 cells in a concentration — and time—dependent manner, which could induce the apoptotic C6 cells, the THC processing reduced the the TAS level and increased 8 - OHdG level in C6 cells, enhanced the PPAR γ mRNA expression level and meanwhile down—regulated the the NF - κB expression level with the dose—dependent manner. **Conclusion** THC could increase ROS production and reduce TAS levels by inhibiting NF- κB level and enhancing PPAR γ expression in C6 glioma cells, thus promotes the cellular apoptosis, suggesting that THC has certain potential and prospect in the aspect of a new drug development for the treatment of neuroglioma.

[Key words] tetrahydrocurcumin; glioma; nuclear factor- κB ; peroxisome proliferator-activated receptor γ ; apoptosis

* 基金项目:广东省基础与应用基础研究基金项目(2020A1515110899);广东省中医药科技协同创新中心项目(2018B020207009);广东省广州市科技计划项目(202102020972)。 作者简介:任薇(1983—),中药师,硕士,主要从事中药学及循证中医药学研究。 △ 通信作者, E-mail: lichuwen@gzhmu.edu.cn.

胶质瘤是最常见的原发性脑瘤,约占全部脑瘤的 80%,其中胶质母细胞瘤是最恶性的脑肿瘤,目前的治疗方式有肿瘤切除、化疗、放疗、抗血管类靶向药物治疗等,但由于胶质母细胞瘤生长快速,广泛浸润邻近脑组织,假性坏死和诱导血管生成,且无明显的作用靶点,阻碍了疗效,且胶质瘤患者预后较差,70%的胶质瘤患者在第 1 次术后 10 年内复发^[1]。因此,寻找直接且密切相关的靶点、探索胶质瘤的潜在机制、寻找新的治疗方法或更好的药物具有重要意义。近年来,在分子水平上对胶质瘤发病机制的研究发现,胶质瘤的发病由异常的病理过程所致,如细胞周期调控、信号传导、DNA 损伤修复缺陷等^[2]。因此,迫切需要在遗传和分子水平上更好地了解胶质瘤的发生和发展,以确定新的治疗策略。

姜黄素是一种天然化合物,具有抗肿瘤作用,对肝癌、乳腺癌均具有抑制增殖、调节信号通路等多种作用^[3-4]。姜黄素在体内的主要活性代谢产物为四氢姜黄素(THC),其比姜黄素在生理条件下更稳定,在水介质中更易溶解,而且在血浆中具有良好的稳定性,因而具有更高的生物利用度^[5-11]。THC 具有抗氧化和抗炎作用,以及预防治疗阿尔兹海默症等功能,对多种癌细胞具有抗肿瘤活性。基于此,本研究探讨了 THC 对 C6 神经胶质瘤细胞增殖的影响,揭示其对过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)/核因子- κ B(NF- κ B)信号通路调控的机制,旨在为神经胶质瘤的治疗提供新策略,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

来自美国菌种保藏中心(ATCC)的大鼠 C6 神经胶质瘤细胞系。

1.1.2 药物与试剂

THC 购自上海源叶生物科技有限公司,杜氏改良 Eagle 培养基(DMEM)购自美国 Sigma-Aldrich 公司,胎牛血清(FBS)购自美国 Gibco 公司,青霉素-链霉素(分别取 100 U/mL-100 μ g/mL)购自美国 Sigma-Aldrich 公司,含 0.25% 1 mmol 胰蛋白酶的乙二胺四乙酸(EDTA)溶液购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,四甲基偶氮唑盐(MTT)购自美国 Sigma-Aldrich 公司(批号:M5655),裂解缓冲液(RIPA)购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司,酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,二氢乙锭(DHE)-活性氧(ROS)检测试剂盒(MCH100111)购自德国 Merck Millipore 公司,Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自德国 Merck Millipore 公司,Muse[®] caspase-3/7 试剂盒(MCH100108)购自德国 Merck Millipore 公司,RNA 分离试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,SuperScript[™] IV 一步法逆转录-聚合酶链反应(PCR)

系统购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,SYBR Green 预混液购自美国 Applied Biosystems 公司,二辛可宁酸 Pierce (BCA)蛋白质测定试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,聚偏二氟乙烯(PVDF)膜购自美国 Bio-Rad 公司,PPAR γ 、NF- κ B、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、 β -肌动蛋白(β -actin)均购自美国 Cell Signaling Technology 公司,增强型化学发光(ECL)测定试剂盒购自美国 GE Healthcare 公司。

1.1.3 主要仪器

酶标仪(800TS)购自美国 BioTek Instruments 公司,流式细胞术(Muse[®] Cell Analyzer)购自德国 Merck Millipore 公司,StepOnePlus[™] 实时荧光定量 PCR 系统购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及 THC 处理

使用含有 10% FBS 和 1% 青链霉素双抗(PS)的 DMEM 完全培养基于 37 $^{\circ}$ C、5% 二氧化碳细胞恒温培养箱中孵育 C6 细胞,于培养瓶中贴壁生长至 80%~90% 时用含有 0.25% 1 mmol/L 胰蛋白酶的 EDTA 溶液分离 C6 细胞。加入新鲜配制不同浓度(12.5、25.0、50.0、100.0、200.0、400.0 和 800.0 μ mol/L)的 THC 药液至 96 孔板中,每孔加 100 μ L。分别培养 24、48、72 h,取出 96 孔板,弃旧培养基,再避光加入 0.5 mg/mL 新鲜制备的 MTT 溶液,每孔加 100 μ L。在黑暗中于培养箱中孵育 3 h。弃上清液,将形成的甲臞晶体溶解在 100 μ L 100% 二甲基亚砷(DMSO)中。用酶标仪 570 nm 波长检测吸光度值。为计算细胞活力将未经 THC 处理的细胞视为对照组,并假设这些细胞是 100% 有活力的。以下公式用于计算未经处理和经 THC 处理的 C6 细胞的存活率[(THC 处理的细胞吸光度-空白吸光度)/(未处理细胞吸光度-空白吸光度) \times 100%]。根据 MTT 结果,通过相应的图谱确定 25%(IC₂₅)、50%(IC₅₀)和 75%(IC₇₅)浓度的 THC 分别为 25.0、50.0、75.0 μ mol/L,0 μ mol/L 作为对照组用于后续分析。

1.2.2 细胞裂解物制备和生化分析

将 C6 细胞(5×10^3)置于 96 孔板中孵育,并加入 25、50、75 μ mol/L 浓度的 THC 处理黏性细胞 24 h,用于生化分析。用磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.4)洗涤细胞,再使用胰蛋白酶将黏附的细胞与 96 孔板分离,然后置于离心管中 4 $^{\circ}$ C、1 000 g 离心 5 min。将沉淀在 PBS 中洗涤 2 次,然后将重悬于 RIPA 中的 500 μ L 放射免疫沉淀测定中的沉淀与 RIPA 在 4 $^{\circ}$ C 下在轨道振荡器中温育 20 min。将沉淀物 4 $^{\circ}$ C、10 000 g 离心 20 min 获得细胞碎片。使用 ELISA 试剂盒测量经 IC₂₅、IC₅₀、IC₇₅ 浓度的 THC 处理的细胞裂解物中的 8-羟基-2'-脱氧鸟苷(8-OHdG)和总抗氧化剂(TAS)水平。

1.2.3 ROS 生成量检测

使用 DHE-ROS 检测试剂盒检测经 25、50、75 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 THC 孵育 24 h 的 C6 细胞中 ROS 生成量。在室温条件下取 10 μL 经 THC 处理和未经 THC 处理的细胞悬液 (2×10^6), 用移液管加入 190 μL Muse[®] 氧化应激试剂工作溶液, 充分混合, 将混合物在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min, 然后在 Muse[®] Cell Analyzer 中测量。

1.2.4 Annexin V-FITC/PI 染色和 caspase-3/7 测定

使用 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒评估 THC 诱导的 C6 细胞凋亡。将 C6 细胞 (2×10^6) 接种于 6 孔板中生长, 并将贴壁细胞与 25、50、75 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 THC 一起温育 24 h。用胰蛋白酶分离细胞, 用 PBS 进行洗涤。将细胞与 5 μL Annexin V-FITC 和 1 μL 碘化丙啶在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下在黑暗中温育 15 min, 用流式细胞术分析细胞凋亡情况。通过测量 caspase-3/7 的活化确定 THC 处理组和对照组细胞凋亡状态。将细胞 (2×10^6) 与 25.0、50.0、75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 THC 一起温育 24 h, 用 PBS 洗涤胰蛋白酶消化细胞, 并将 5 μL Muse[®] caspase-3/7 工作溶液加入 50 μL 的细胞。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min 后将 150 μL 7-AAD 添加到细胞培养基中, 充分混合并在 Muse[®] cell Analyzer 上进行测量。

1.2.5 定量实时逆转录 PCR

通过定量实时逆转录-PCR 分析未经 THC 处理和经 THC 处理 24 h 的 C6 细胞 (2×10^6) 中 PPAR γ mRNA 的表达。在实时荧光定量逆转录 PCR 程序中根据说明用 RNA 分离试剂盒提取总 RNA。纯化后的 RNA 在无酶无菌水中洗涤后使用 NanoDropTM 2000/2000c 以 A260/A280 比率确定其质量和浓度。用 SuperScriptTM IV 一步法实时荧光定量逆转录 PCR 系统从总 RNA 中合成 cDNA。PPAR γ 、 β -肌动蛋白的引物: PPAR γ 正向引物 5'-CCC TTT ACC ACG GTT GAT TTC TC-3' 和反向引物 5'-GCA GGC TCT ACTTTG ATC GCA CT-3'; β -肌动蛋白正向引物 5'-GTG GGG CGC CCC AGG CAC CA-3' 和反向引物 5'-CTT CCT TAA TGT CAC GCA CGA TTT C-3'。在 StepOnePlusTM 实时 PCR 系统及其软件程序中使用 SYBR Green 预混液扩增 cDNA。热循环曲线: 在 95 $^{\circ}\text{C}$ 下进行 10 min 的预孵育步骤, 然后在 95 $^{\circ}\text{C}$ 下进行 45 个循环的变性步骤 10 s, 在 55 $^{\circ}\text{C}$ 下进行 1 min 的退火步骤, 并在 72 $^{\circ}\text{C}$ 下进行 10 s 的延伸步骤。根据扩增后的循环数 (Ct) 值确定 PPAR γ 、 β -肌动蛋白转录水平。使用 β -肌动蛋白 mRNA 水平作为内标, 并使用公式 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 确定相对表达水平。

1.3 统计学处理

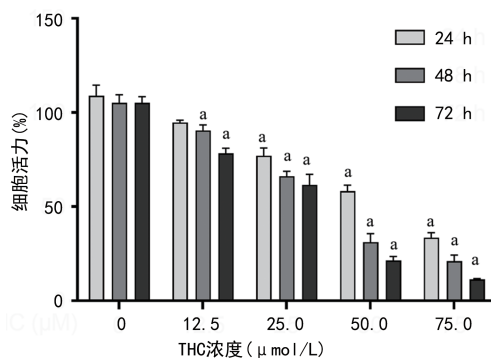
采用 SPSS28.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析

(ANOVA), 进行 Tukey 事后分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 THC 对 C6 细胞活力的抑制作用

与对照组比较, 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 24、48 h, 以及 25.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 24 h 组 C6 细胞活力均明显降低, 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 孵育 72 h 组 C6 细胞较对照组减少 22.7%, 25.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 24、48、72 h 组 C6 细胞较对照组分别减少 23%、33%、40%, 50.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 24、48、72 h 组 C6 细胞较对照组分别减少 48%、66%、78%, 75 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 24、48、72 h 组 C6 细胞较对照组分别减少 70%、79%、89%, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 100.0 $\mu\text{mol/L}$ THC 浓度未检测到任何细胞。见图 1。

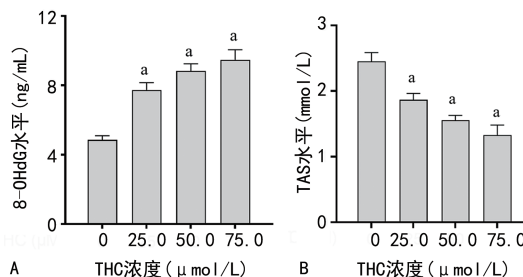


^a: $P < 0.05$, 与对照组比较。

图 1 不同浓度 THC 处理 C6 细胞活力比较

2.2 THC 调节 C6 细胞中 8-OHdG、TAS 水平

与对照组比较, 25.0、50.0、75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 24 h 组 C6 细胞 8-OHdG 水平均明显升高, TAS 水平均明显降低, 75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 24 h 组 C6 细胞 8-OHdG 水平最高, TAS 水平最低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2。



A: 8-OHdG; B: TAS; ^a: $P < 0.05$, 与对照组比较。

图 2 不同浓度 THC 处理 C6 细胞 8-OHdG、TAS 水平比较

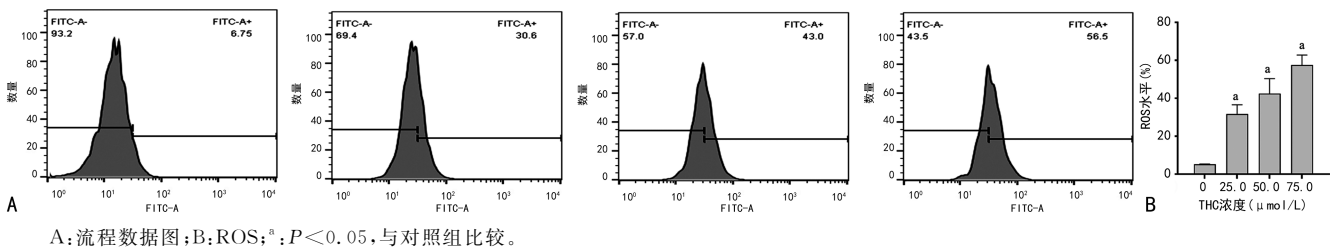
2.3 THC 诱导的 C6 细胞氧化应激

与对照组比较, 25.0、50.0、75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 24 h 组 C6 细胞 ROS 生成量均明显升高, 75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 24 h 组 C6 细胞 ROS 生成量最高 (约为 57%), 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3。

2.4 THC 触发 C6 细胞凋亡

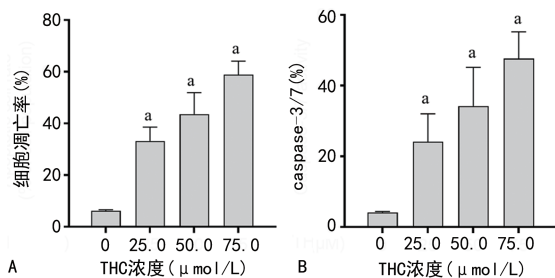
与对照组比较,25.0、50.0、75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 C6 细胞凋亡率均明显增高,75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 C6 细胞凋亡率最高,caspase-3/7 活

性明显增强,75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 C6 细胞 caspase-3/7 活性最高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 4。



A: 流程数据图; B: ROS; ^a: $P < 0.05$, 与对照组比较。

图 3 不同浓度 THC 处理 C6 细胞中 ROS 水平比较

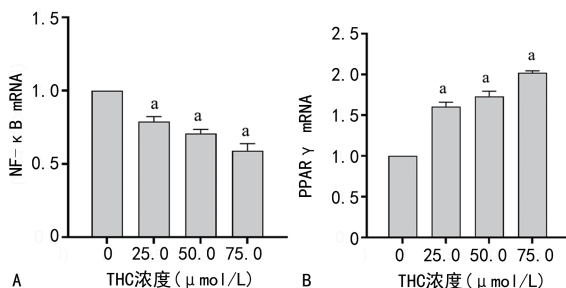


A: AnnexinV-FITC 凋亡分析; B: caspase-3/7 活性; ^a: $P < 0.05$, 与对照组比较。

图 4 不同浓度 THC 处理 C6 细胞中 AnnexinV-FITC、caspase-3/7 活性比较

2.5 THC 对 C6 细胞 NF- κ B、PPAR γ mRNA 水平的影响

与对照组比较,25.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 C6 细胞 NF- κ B mRNA 水平略下降,差异无统计学意义($P > 0.05$);50.0、75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 C6 细胞 NF- κ B mRNA 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组比较,25.0、50.0、75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 C6 细胞 PPAR γ mRNA 水平均明显增加,75.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 THC 处理 C6 细胞 PPAR mRNA 水平最高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 5。



A: NF- κ B mRNA; B: PPAR γ mRNA; ^a: $P < 0.05$, 与对照组比较。

图 5 不同浓度 THC 处理 C6 细胞 NF- κ B、PPAR γ mRNA 水平比较

3 讨论

本研究探讨了不同持续时间(24、48、72 h)和浓度 THC 处理是否可通过触发各种生化机制在 C6 胶质瘤细胞中引起抗肿瘤作用,确定了 C6 细胞的 IC₂₅、

IC₅₀ 和 IC₇₅,结果显示,THC 可调节 C6 细胞中 8-OHdG、TAS 水平,8-OHdG 水平上调和 TAS 水平下降在 THC 处理 C6 细胞中呈浓度依赖性,THC 浓度越大 C6 细胞中 8-OHdG 水平越高,TAS 水平越低;并且可诱导 C6 细胞氧化应激,经 THC 处理 C6 细胞中 ROS 积累显示出浓度依赖性,THC 浓度越大 C6 细胞中 ROS 生成量越高。通过 PPAR γ /NF- κ B 信号通路分析了氧化、凋亡和 DNA 损伤机制,结果显示,THC 处理 24 h 后活细胞比率降低。凋亡细胞比例及 caspase-3/7 活性存在 THC 浓度依赖性,THC 浓度越大细胞凋亡率越高,细胞 caspase-3/7 活性越强,并且 THC 浓度的增加引起 C6 细胞 PPAR γ mRNA 表达增加和 NF- κ B 抑制。可见 THC 处理上调了 C6 细胞 PPAR γ mRNA 水平并降低了 NF- κ B mRNA 水平,提示 PPAR γ 、NF- κ B 通过诱导氧化和凋亡机制诱导 DNA 损伤。

ROS 可引起细胞大分子生物分子(DNA、蛋白质和脂质)的氧化^[12]。肿瘤细胞的高增殖导致 ROS 产生增加和异常的氧化还原稳态^[13]。通过增强抗氧化防御机制优化氧化负荷,从而阻止 ROS 诱导的生物分子的氧化和诱导细胞凋亡^[14]。肿瘤细胞的抗氧化能力阻碍了过量的 ROS 产生,从而抵抗细胞凋亡^[15]。同样 C6 胶质瘤细胞中 PPAR 激动剂治疗未能改变过氧化氢酶的表达和酶活性^[16]。因 DNA 螺旋中的核碱基与 ROS 相互作用而形成的 8-OHdG 是最丰富的 DNA 损伤和潜在的生物标志物^[17]。本研究结果显示,在 THC 处理 C6 细胞中 ROS 产生和 DNA 损伤以剂量依赖性方式增加,而细胞增殖受到抑制。C6 细胞中 THC 诱导的 ROS 产生与 TAS 水平的降低呈比例。此外,本研究结果显示,细胞 ROS 水平的增加导致 DNA 损伤,增加 8-OHdG 水平。ALMAMUN 等^[18]研究也表明,THC 治疗通过诱导红细胞中的氧化应激增加 ROS 的产生。

caspase 通过外在和内在的促凋亡信号机制启动程序性细胞死亡,对凋亡程序的启动至关重要^[19]。协调细胞凋亡破坏阶段的 caspase-3/7 的激活是细胞凋亡的一个特征^[20]。PPAR γ 激动剂可通过多种信号通

路诱导胶质瘤细胞凋亡激活 PPAR γ ,如增加肿瘤细胞系中促凋亡蛋白的表达或通过改变线粒体膜电位导致细胞色素 C 释放至细胞质中^[21]。据文献报道,PPAR γ 的活化降低了抗凋亡蛋白的表达,并增加了 A375 细胞系中凋亡蛋白的表达^[22]。另有研究发现,经 THC 处理的 A549 细胞抗凋亡蛋白和肿瘤抑制基因表达降低,而 caspase-3/7 活性增加;THC 及其衍生物已被证明通过 caspase-3、caspase-9 激活途径诱导 C6、U-87 MG 胶质瘤细胞凋亡^[23-25]。

NF- κ B 是适应性免疫反应的主要调节因子,通过抑制细胞凋亡和促进细胞增殖诱导迁移和侵袭,特别是在癌细胞中具有结构活性的 NF- κ B 上调氧化应激和 DNA 损伤,以及坏死性细胞死亡^[26]。据文献报道,PPAR γ 与 NF- κ B 的物理相互作用通过降低 NF- κ B 对炎症启动子的结合亲和力抑制 NF- κ B 信号通路^[27]。有研究表明,MCF-7 乳腺癌细胞中二十二碳六烯酸处理通过 PPAR γ mRNA 表达的增加引起 NF- κ B 抑制^[28]。另有研究表明,C6 胶质瘤细胞中 NF- κ B 的失活或抑制通过下调抗凋亡蛋白及上调凋亡蛋白引发细胞凋亡,从而激活 caspase 级联反应^[29-30]。THC 具有介导 PPAR γ 抑制炎症、血管生成和转移的潜力^[25]。本研究对 PPAR γ 、NF- κ B 测定的结果显示,THC 处理 C6 神经胶质瘤细胞通过增强 PPAR γ 的表达和活化使 NF- κ B 蛋白水平降低,触发 C6 细胞凋亡。这些结果可能有望用于解决治疗神经胶质瘤的药物抗性问题的。

综上所述,作为 PPAR γ 激动剂的 THC 在 C6 神经胶质瘤细胞中显示出浓度和时间依赖性抗肿瘤作用,通过引起细胞 PPAR γ mRNA 水平的增加引起 NF- κ B 抑制,从而诱导 DNA 损伤和细胞凋亡;此外,在 THC 处理的细胞中观察到 8-OHdG 水平的增加和 TAS 水平的降低。本研究通过 PPAR γ /NF- κ B 信号通路在胶质瘤细胞中证实了 THC 的促细胞凋亡作用。但尚需在动物体内模型进行研究和验证,也是后续将要关注的重点。本研究结果为将 THC 开发为治疗神经胶质细胞瘤的新药提供了参考依据。

参考文献

- [1] 钱王芳,王臻,肖红. 胶质瘤发病机制的研究进展[J]. 长春中医药大学学报,2022,38(5):585-590.
- [2] OTANI Y, ICHIKAWA T, KUROZUMI K, et al. Dynamic reorganization of microtubule and glioma invasion [J]. Acta Medica Okayama, 2019, 73(4):285-297.
- [3] 许飞. 姜黄素抗消化系统肿瘤机制的研究进展[J]. 牡丹江医学院学报,2021,42(6):127-129.
- [4] 王泽夏,封焯,刘菲,等. 姜黄素对神经胶质瘤细胞的抑制作用及机制研究[J]. 重庆医学,2019,48(17):2903-2908.
- [5] HU S, XU Y C, MENG L W, et al. Curcumin inhibits proliferation and promotes apoptosis of breast cancer cells[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(2):1266-1272.
- [6] 张镇标. 姜黄素氯化物的抗炎、抗腹水瘤活性研究[D]. 广州:广州中医药大学,2017.
- [7] LAI C S, WU J C, YU S F, et al. Tetrahydrocurcumin is more effective than curcumin in preventing azoxymethane-induced colon carcinogenesis [J]. Mol Nutr Food Res, 2011, 55(12):1819-1828.
- [8] 张敏,华桦,曾安琪,等. 四氢姜黄素对 MCF-7 细胞增殖、凋亡及转移的作用[J]. 中成药,2022,44(3):942-947.
- [9] TSENG Y H, CHIOU S S, WENG J P, et al. Curcumin and tetrahydrocurcumin induce cell death in Ara-C-resistant acute myeloid leukemia [J]. Phytother Res, 2019, 33(4):1199-1207.
- [10] YOTSUNGNOEN B, BHATTARAKOSOL P, CHANGTAM C, et al. Effects of tetrahydrocurcumin on tumor growth and cellular signaling in cervical cancer xenografts in nude mice [J]. Biomed Res Int, 2016, 2016:1781208.
- [11] 孙丽丛,景永帅,张丹参. 四氢姜黄素的神经保护作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2021,35(10):796-797.
- [12] HANAF R, ANESTOPOULOS I, VOULGARIDOU G P, et al. Oxidative stress based-biomarkers in oral carcinogenesis; how far have we gone? [J]. Curr Mol Med, 2012, 12(6):698-703.
- [13] KLAUNIG J E. Oxidative stress and cancer [J]. Curr Pharm Des, 2018, 24(40):4771-4778.
- [14] MOLONEY J N, COTTER T G. ROS signaling in the biology of cancer [J]. Semin Cell Dev Biol, 2018, 80:50-64.
- [15] STORZ P. Reactive oxygen species in tumor progression [J]. Front Biosci, 2005, 10:1881-1896.
- [16] KHOO N K, HEBBAR S, ZHAO W, et al. Differential activation of catalase expression and activity by PPAR agonists: implications for astrocyte protection in anti-glioma therapy [J]. Redox Biol, 2013, 1(1):70-79.
- [17] VALAVANIDIS A, VLACHOGIANNI T, FIOTAJIS C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-

- OHdG): Acritical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis[J]. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, 2009, 27(2): 120-139.
- [18] ALMAMUN B A, BISSINGER R, CAO H, et al. Triggering of Suicidal Erythrocyte Death by Bexarotene[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(5): 1239-1251.
- [19] HENGARTNER M O. The biochemistry of apoptosis[J]. *Nature*, 2000, 407(6805): 770-776.
- [20] DANIAL N N, KORSMEYER S J. Cell death: critical control points[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 205-219.
- [21] ZANDER T, KRAUS J A, GROMMES C et al. Induction of apoptosis in human and rat glioma by agonists of the nuclear receptor PPARgamma[J]. *J Neurochem*, 2002, 81(5): 1052-1060.
- [22] LIU Y, MENG Y, LI H et al. Growth inhibition and differentiation induced by peroxisome proliferator activated receptor gamma ligand rosiglitazone in human melanoma cell line A375[J]. *Med Oncol*, 2006, 23(3): 393-402.
- [23] JOYCE D, ALBANESE C, STEER J et al. NF-KappaB and cell-cycle regulation: the cyclin connection[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2001, 12(1): 73-90.
- [24] JANSSENS S, TSCHOPP J. Signals from within: the DNA damage-induced NF-kappaB response[J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(5): 773-784.
- [25] GRETSKAYA N M, GAMISONIA A M, DUDINA P V et al. Novel bexarotene derivatives: Synthesis and cytotoxicity evaluation for glioma cells in 2D and 3D in vitro models[J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 883: 173346.
- [26] TANIGUCHI K, KARIN M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(5): 309-324.
- [27] BERGER J, MOLLER D E. The mechanisms of action of PPARs[J]. *Annu Rev Med*, 2002, 53: 409-435.
- [28] DELERIVE P, FRUCHART J C, STAELS B. Peroxisome proliferatoractivated receptors in inflammation control[J]. *J Endocrinol*, 2001, 169(3): 453-459.
- [29] HWANG J K, YU H N, NOH E M, et al. DHA blocks TPA-induced cell invasion by inhibiting MMP-9 expression via suppression of the PPAR- γ /NF- κ B pathway in MCF-7 cells[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(1): 243-249.
- [30] KIEKOW C J, FIGUEIRÓ F, DIETRICH F, et al. Quercetin derivative induces cell death in glioma cells by modulating NF- κ B nuclear translocation and caspase-3 activation[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2016, 84: 116-122.

(收稿日期: 2022-06-10 修回日期: 2022-10-10)

(上接第 4148 页)

- 过敏的诊断与治疗进展[J]. *临床和实验医学杂志*, 2018, 17(20): 2238-2241.
- [40] 陈红兵, 高金燕. 食物过敏反应及其机制[J]. *营养学报*, 2007, 29(2): 105-109.
- [41] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编委会鼻科组中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 变应性鼻炎特异性免疫治疗专家共识[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2011, 46(12): 976-980.
- [42] PAJNO G B, FERNANDEZ-RIVAS M, ARASI S, et al. EAACI Guidelines on allergen immunotherapy: IgE-mediated food allergy[J]. *Allergy*, 2018, 73(4): 799-815.
- [43] MSALLAM R, BALLA J, RATHORE A P S, et al. Fetal mast cells mediate postnatal allergic responses dependent on maternal IgE[J]. *Science*, 2020, 370(6519): 941-950.
- [44] BJÖRKSTÉN B, SEPP E, JULGE K, et al. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 108(4): 516-520.
- [45] 王晶. 生命早期益生菌干预预防儿童过敏性疾病的 Meta 分析[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2020.
- [46] KUKKONEN K, SAVILAHTI E, HAAHTE LA T, et al. Long-term safety and impact on infection rates of postnatal probiotic and prebiotic (synbiotic) treatment: randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Pediatrics*, 2008, 122(1): 8-12.

(收稿日期: 2022-10-08 修回日期: 2022-11-02)