

肿瘤发病机制与治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000137

姜黄素诱导人髓母细胞瘤 Daoy 细胞自噬的实验研究

刘桂元, 毛 蜀, 何密斯, 马天明, 唐 俐

(重庆医科大学基础医学院病理生理学教研室、干细胞与组织工程研究室, 重庆 400016)

【摘要】目的:观察姜黄素(Curcumin)诱导人髓母细胞瘤 Daoy 细胞自噬的作用,并探讨其可能的作用机制。**方法:**体外培养人髓母细胞瘤 Daoy 细胞,不同浓度姜黄素作用 24、48、72 h,MTT 法检测细胞增殖;荧光染色、RT-PCR 和 Western blot 检测自噬相关蛋白 Beclin1 和 LC3 的表达;RT-PCR 和 Western blot 检测 PI3K/Akt/mTOR 信号通路中 PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 的表达。PI3K 激动剂 insulin 处理细胞后,Western blot 检测 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白的表达变化。**结果:**姜黄素明显抑制 Daoy 细胞的生长,呈时间-剂量依赖性。免疫荧光显示 Beclin1 和 LC3 在姜黄素处理组中的表达明显增强。姜黄素作用不同时间, Daoy 细胞中 Beclin1 和 LC3-II/LC3-I 的 mRNA 和蛋白水平均增高(mRNA: $F=1\ 360.962, 42.366, P=0.000, 0.000$;蛋白: $F=32.723, 11.847, P=0.001, 0.008$),而 PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 的表达受到明显抑制($F=329.662, 80.638, 183.536, P=0.000, 0.000, 0.000$)。PI3K 激动剂 insulin 不能有效阻断姜黄素引起的 PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 的降低。**结论:**姜黄素诱导自噬抑制髓母细胞瘤 Daoy 细胞生长,其机制可能与上调自噬相关基因表达,抑制自噬负调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路有关。

【关键词】姜黄素;髓母细胞瘤;自噬;PI3K/Akt/mTOR 信号通路**【中图分类号】**R739.41**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-11-06

Experiment research of curcumin induced autophagy in human medulloblastoma Daoy cell

Liu Guiyuan, Mao Shu, He Misi, Ma Tianming, Tang Li

(Teaching and Research Section of Pathophysiology, College of Basic Medicine, Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the mechanism of curcumin-induced autophagy in human medulloblastoma Daoy cells. **Methods:** Cell viability was tested by MTT assay; expression of autophagic markers Beclin1 and LC3 was assessed by fluorescence confocal microscopy, RT-PCR and Western blot; expression of PI3K, Akt, p-Akt, mTOR and p-mTOR in PI3K/Akt/mTOR signal pathway was checked by RT-PCR and Western blot. **Results:** Curcumin inhibited the proliferation of Daoy cells in a concentration and time dependent manner. Immunofluorescence showed that the intensity of Beclin1 and LC3 increased after curcumin treatment. The mRNA and protein level of Beclin1 and LC3 was increased significantly in curcumin treated group than in control group(mRNA: $F=1\ 360.962, 42.366, P=0.000, 0.000$; protein: $F=32.723, 11.847, P=0.001, 0.008$). While the expression of PI3K, p-Akt and p-mTOR in curcumin treated group were lower than that in control group($F=329.662, 80.638, 183.536, P=0.000, 0.000, 0.000$). PI3K/Akt/mTOR pathway agonist insulin could not reverse the reduction of PI3K, p-Akt and p-mTOR induced by curcumin. **Conclusion:** Curcumin could inhibit the growth of human medulloblastoma Daoy cells via autophagy.

【Key words】Curcumin; medulloblastoma; autophagy; PI3K/Akt/mTOR

髓母细胞瘤(medulloblastoma, MB)是好发于儿童后颅窝的最常见的恶性脑肿瘤,病死率高。80%的

患儿虽通过手术切除辅以放化疗,但效果并不理想,因此需要寻找新的有效化疗方法和化疗药物。姜黄素(Curcumin)是从植物姜黄根茎中提取的一种酚类化合物,具有多种药理作用^[1],在体内外均可抑制多种肿瘤细胞的生长,被广泛认为是一种潜在的有效抗肿瘤新药。近年来研究表明自噬在肿瘤的发生发展中发挥着重要的作用,诱导或抑制自噬都可能成

作者介绍:刘桂元, Email:xiangyan_youdu@sina.com,

研究方向:肿瘤病理生理。

通信作者:唐 俐, Email:tangliq@126.com。

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(编号:NSFC81272571);

重庆市渝中区科技计划资助项目(编号:20120208)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000137.html>

为有效的肿瘤治疗措施。姜黄素能诱导人胸膜间皮瘤 ACC-MESO-1、人肺癌 A549、人结肠癌 HCT116 等^[2-4]肿瘤细胞发生细胞自噬,从而抑制肿瘤生长,但对人 MB 自噬的影响目前尚无相关文献报道。本研究探讨姜黄素诱导人 MB Daoy 细胞自噬的作用及其可能的分子机制,为 MB 的治疗提供相关依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人 MB Daoy 细胞株由第三军医大学卞修武教授惠赠;胎牛血清(FBS,北京元亨金马生物公司);MEM 培养基、青链霉素双抗(美国 Hyclone 公司);二甲基亚砜(DMSO,美国 Sigma 公司);姜黄素(Curcumin,美国 Sigma 公司);细胞裂解液 RIPA、蛋白酶抑制剂 PMSF、DAPI 染料、Insulin(北京碧云天公司);牛清蛋白 V、Triton X-100(北京索莱宝科技公司);兔抗人 Beclin1 抗体(美国 Santa Cruz 公司);兔抗人 LC3 抗体(美国 Sigma 公司);兔抗人 PI3K 抗体(美国 epitomics 公司);兔抗人 Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司);兔抗人 β -actin 抗体(北京四正柏生物科技有限公司);MTT 试剂盒(美国 Sigma 公司);FITC 标记的驴抗兔 IgG(H+L)荧光二抗(北京康为世纪生物公司);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(美国联科生物公司);RNA 提取试剂盒(美国 TaKaRa 公司);反转录试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司);DNA marker(北京天根生化科技公司)。

1.2 方法

1.2.1 药物配制 姜黄素 5 mg 用 125 μ l DMSO 溶解,用无血清 MEM 培养基配至 50 ml,终浓度为 250 μ mol/L, -20 $^{\circ}$ C 避光保存备用,DMSO 终浓度 <0.1%。Insulin 按说明书用 MEM 培养液配制,终浓度为 120 μ mol/L。

1.2.2 细胞培养 Daoy 细胞培养于 10%FBS+1%青链霉素双抗+MEM 培养基的培养液,置于 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培养箱内培养。

1.2.3 MTT 法检测细胞存活率 对照组与处理组各设 5 个复孔,另设 DMSO 对照。收集对数期细胞,加入 96 孔板内,每孔 1×10^4 个/100 μ l,边缘孔用无菌 PBS 填充。孵育 24 h 后,处理组分别加入 20、40、60、80、100 μ mol/L 姜黄素,每孔 100 μ l,培养 24、48、72 h。每孔加入 5 mg/ml 的 MTT 溶液 10 μ l,继续培养 4 h,吸弃孔内培养液,每孔加 150 μ l DMSO,低速振荡 10 min。酶标仪检测 570 nm 处各孔吸光度(absorbance, A)值,计算细胞存活率。存活率=1-(对照组 A 值-处理组 A 值)/对照组 A 值 $\times 100\%$ 。

1.2.4 免疫荧光检测自噬蛋白 Beclin1 和 LC3 的表达 细胞接种于预先放置盖玻片的 6 孔板内,处理组加 30 μ mol/L 姜黄素。培养 48 h 后用 4%多聚甲醛固定 15 min,1%Triton X-100 破膜 10 min,山羊血清封闭液封闭 15 min,加入兔抗人

Beclin1(1:100)、LC3(1:50),置 4 $^{\circ}$ C 过夜。次日 37 $^{\circ}$ C 复温 30 min,避光加入 FITC 标记驴抗兔 IgG 二抗,37 $^{\circ}$ C 1 h,PBS 洗 3 次,避光加入 2%DAPI 细胞核染料进行核染,PBS 洗 3 次,抗荧光淬灭封片液封片,共聚焦荧光显微镜观察。

1.2.5 RT-PCR 检测 Beclin1 和 LC3 的表达 Beclin1 和 LC3 基因序列由 GenBank 获得,生工生物工程(上海)公司设计合成引物。Beclin1 引物序列:上游 5'-CCGCAAGATAGTGGC-AGAA-3',下游 5'-CGACCCAGCCTGAAGTTAT-3';LC3 引物序列:上游 5'-TCCTGGACAAGACCAAGTTTTT-3',下游 5'-CTCGTCTTTCTCTGCTCGTAG-3';GAPDH 引物序列:上游 5'-GAGCCAAAAGGGTCATCATCTC-3',下游 5'-AAAG-GTGGAGGAGTGGGTGTC-3'。RNA 提取试剂盒提取细胞总 RNA,反转录试剂盒合成 cDNA,以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。LC3 和 GAPDH 的 PCR 反应循环条件为 95 $^{\circ}$ C 3 min;95 $^{\circ}$ C 30 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 1 min,循环 33 次;72 $^{\circ}$ C 10 min。Beclin1 的 PCR 反应循环条件为 95 $^{\circ}$ C 3 min;95 $^{\circ}$ C 30 s,56 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 1 min,循环 35 次;72 $^{\circ}$ C 10 min。分别取 5 μ l 扩增产物于 1.5%琼脂糖凝胶电泳(110 V,40 min),BIO-RAD 图像分析仪分析结果。

1.2.6 Western blot 检测 Beclin1、LC3、PI3K、Akt、p-Akt、mTOR 和 p-mTOR 蛋白的表达 提取各组蛋白,BCA 法测定各组蛋白浓度。取蛋白 60 μ g 进行 SDS-PAGE 电泳、转膜,5%脱脂牛奶封闭 1 h(其中 p-Akt 和 p-mTOR 用 5%牛清蛋白 V 封闭),分别加入兔抗人 Beclin1(1:400)、LC3(1:1 000)、PI3K(1:50)、Akt(1:300)、p-Akt(1:1 000)、mTOR(1:200)和 p-mTOR(1:100)孵育(其中 p-Akt 和 p-mTOR 一抗用 5%牛清蛋白 V 封闭稀释),4 $^{\circ}$ C 过夜。次日 TBST 缓冲液洗膜 3 次,加入辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(1:5 000)摇床孵育 1 h,TBST 缓冲液洗膜 3 次,ECL 法显影,ChmiDoXRS 发光成像系统显色、曝光采图,Quantity One 4.5.2 软件分析。

1.3 统计学处理

计量资料用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。MTT 法检测结果应用 SAS 9.1 统计分析软件,采用重复测量的方差分析;其余数据应用 SPSS 17.0 统计软件,多样本比较用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 姜黄素抑制 Daoy 细胞生长

MTT 结果显示,不同浓度的姜黄素(20、40、60、80、100 μ mol/L)作用于 Daoy 细胞,细胞存活率随浓度增加而逐渐降低,差异有统计学意义($F=99.847$, $P=0.000$),呈剂量依赖性关系。相同浓度姜黄素作用 Daoy 细胞 24、48、72 h 后,细胞存活率随时间延长而逐渐降低,差异有统计学意义($F=67.86$, $P=0.000$),呈时间依赖性关系。不同浓度的姜黄素(20、40、60、80 和 100 μ mol/L)与不同时间(24、48、72 h)交互作用细胞后,细胞增殖受到不同程度的抑制,存活率逐渐下降,呈时间-剂量依赖关系,差异有统计学意义($F=3.03$, $P=0.021$)。其中,24 h

的 IC_{50} 为 $50 \mu\text{mol/L}$, 48 h 的 IC_{50} 为 $33 \mu\text{mol/L}$, 72 h 的 IC_{50} 为 $26 \mu\text{mol/L}$ 。后续试验姜黄素浓度选用 $30 \mu\text{mol/L}$ (图 1)。

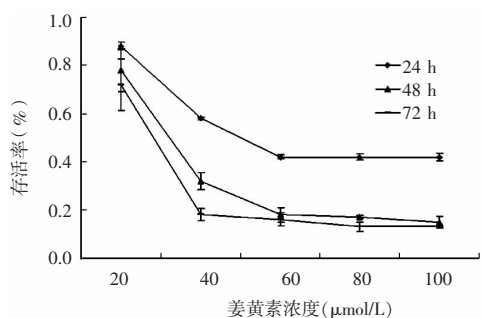


图 1 MTT 法检测姜黄素对 Daoy 细胞的增殖抑制作用

Fig.1 Cell viability tested by MTT assay

2.2 姜黄素诱导 Daoy 细胞中 Beclin1 和 LC3 表达

绿色荧光 FITC 分别标记 Beclin1 和 LC3、红色荧光 PI 标记 DNA。激光共聚焦扫描显微镜下观察可见, 对照组中 Beclin1 和 LC3 绿色荧光呈点状散在分布于细胞膜附近, 且荧光较弱, 处理组中大量荧光分布在细胞浆, 荧光强度明显增强 (图 2)。提示姜黄素作用细胞后, Beclin1 和 LC3 表达增强。

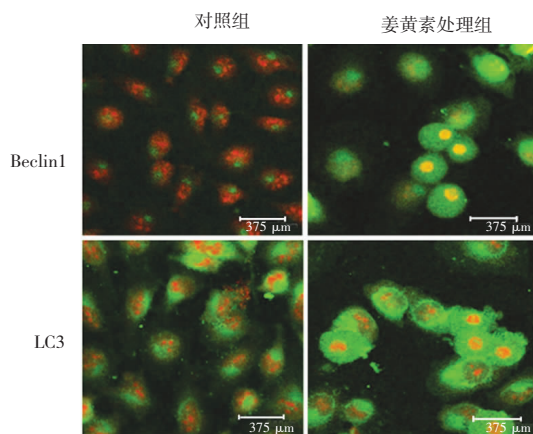


图 2 激光共聚焦荧光显微镜检测 Daoy 细胞中 Beclin1 和 LC3 表达 (800 ×)

Fig.2 Expression of Beclin1 and LC3 checked by fluorescence confocal microscopy (800 ×)

2.3 Beclin1 和 LC3 表达水平上调参与姜黄素诱导的自噬过程

RT-PCR 结果显示, $30 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素作用后, Beclin1 和

LC3 基因 mRNA 水平的表达随作用时间的延长 (0、24、48 h) 而增高。Western blot 检测结果显示, 随姜黄素作用时间延长, Beclin1 和 LC3 蛋白的表达上调, LC3-II/LC3-I 值增大 (图 3、4, 表 1)。3 组比较, 差异有统计学意义。

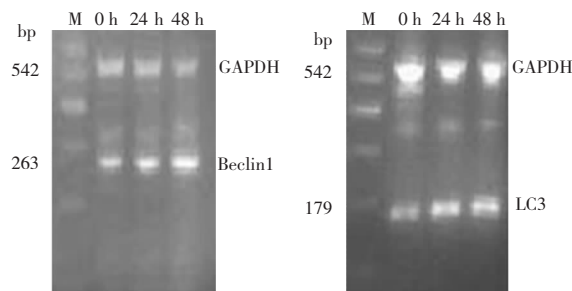


图 3 RT-PCR 检测 Beclin1 和 LC3 基因 mRNA 水平的表达

Fig.3 Expression of Beclin1 and LC3 detected by RT-PCR

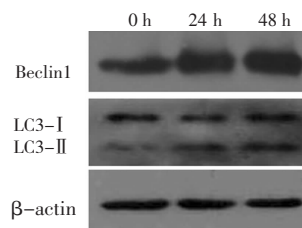


图 4 Western blot 检测 Beclin1 和 LC3 蛋白水平的表达

Fig.4 Expression of Beclin1 and LC3 detected by Western blot

2.4 姜黄素抑制 Daoy 细胞中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路

$30 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素分别作用 0、24、48 h, Western blot 检测结果显示, 随时间延长, PI3K 蛋白表达受到抑制, Akt 和 mTOR 蛋白的磷酸化水平均有不同程度的降低。Akt 总蛋白和 mTOR 总蛋白变化不明显。提示姜黄素作用后 PI3K/Akt/mTOR 信号通路被抑制 (图 5, 表 2)。

2.5 Insulin 和姜黄素作用后对 Daoy 细胞中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响

单用姜黄素处理细胞, PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 蛋白表达水平降低, Beclin1 和 LC3-II/LC3-I 表达水平增高。 200 nmol/L 的 PI3K 激动剂 insulin 可增强 PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 的表达, 降低 Beclin1 和 LC3-II/LC3-I 表达水平。用 200 nmol/L 的 PI3K 激动剂 insulin 预处理 Daoy 细胞 4 h 后再加入姜黄素 $30 \mu\text{mol/L}$ 作用 48 h, 不能减弱姜黄素对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的抑制作用 (图 6, 表 3)。

表 1 姜黄素作用 Daoy 细胞不同时间 mRNA 和蛋白的表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 mRNA and protein expression of Beclin1 and LC3 at different time periods after curcumin treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	RT-PCR		Western blot	
	Beclin1	LC3	Beclin1	LC3-II/LC3-I
0 h	0.638 ± 0.008	0.671 ± 0.054	0.756 ± 0.032	0.473 ± 0.146
24 h	0.927 ± 0.002^a	1.054 ± 0.062^a	0.971 ± 0.040^a	0.830 ± 0.040^a
48 h	1.394 ± 0.024^{ab}	1.159 ± 0.051^{ab}	1.101 ± 0.075^{ab}	0.966 ± 0.098^{ab}
F 值	1 360.962	42.366	32.723	11.847
P 值	0.000	0.000	0.001	0.008

注: a, 与对照组相比, $P < 0.05$; b, 与 48 h 相比, $P < 0.05$

表 2 姜黄素作用不同时间对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)Tab.2 Effect of different curcumin treatment periods on protein expression of PI3K/Akt/mTOR signal pathway ($\bar{x} \pm s$)

组别	PI3K	Akt	p-Akt	mTOR	p-mTOR
0 h	1.509 ± 0.071	0.900 ± 0.036	1.287 ± 0.093	0.915 ± 0.031	1.627 ± 0.108
24 h	0.739 ± 0.028 ^a	0.929 ± 0.069 ^c	0.884 ± 0.035 ^a	0.941 ± 0.049 ^c	0.782 ± 0.063 ^a
48 h	0.561 ± 0.031 ^{ab}	0.910 ± 0.077 ^c	0.659 ± 0.037 ^{ab}	0.913 ± 0.052 ^c	0.427 ± 0.056 ^{ab}
F 值	329.662	0.169	80.638	0.235	183.536
P 值	0.000	0.843	0.000	0.813	0.000

注:a,与对照组相比, $P < 0.05$;b,与 48 h 相比, $P < 0.05$;c,与对照相比, $P > 0.05$

表 3 不同处理因素对 Daoy 细胞中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s$)Tab.3 Protein expression in PI3K/Akt/mTOR signal pathway after being treated with different factors ($\bar{x} \pm s$)

组别	PI3K	p-Akt	p-mTOR	Beclin1	LC3- II /LC3- I
对照组	1.146 ± 0.020	0.955 ± 0.004	1.058 ± 0.004	0.965 ± 0.002	0.895 ± 0.036
姜黄素组	0.787 ± 0.014	0.846 ± 0.017	0.840 ± 0.002	1.065 ± 0.004	1.160 ± 0.112
insulin组	1.276 ± 0.033	1.036 ± 0.018	1.072 ± 0.013	0.566 ± 0.017	0.698 ± 0.047
姜黄素 + insulin 组	0.325 ± 0.023 ^a	0.270 ± 0.011 ^a	0.133 ± 0.002 ^a	0.932 ± 0.002 ^a	1.211 ± 0.164 ^a
F 值	951.653	1 960.393	11 543.598	1 929.115	20.432
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001

注:a,与对照组相比, $P < 0.05$

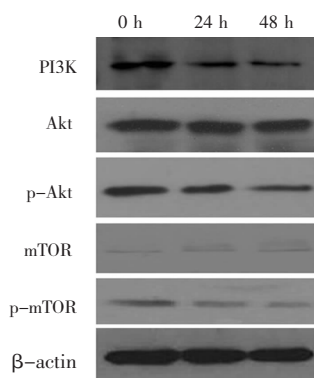
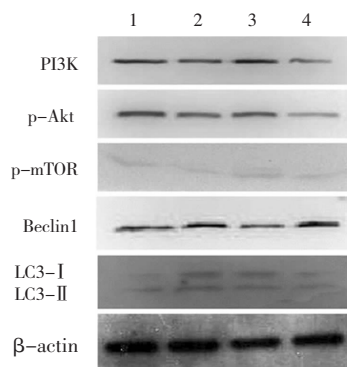


图 5 Western blot 检测姜黄素对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响

Fig.5 Protein levels of PI3K/Akt/mTOR signal pathway detected by Western blot



1. 对照组; 2. 姜黄素; 3. insulin; 4. 姜黄素 + insulin

图 6 Western blot 检测 insulin 作用后 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的改变

Fig.6 Protein levels of PI3K/Akt/mTOR signal pathway after insulin treatment detected by Western blot

3 讨论

随着医学进步,微创外科与放、化疗联合应用大大降低了 MB 患儿病死率。但传统放、化疗副作用大,且化疗效果不佳,因此迫切需要寻找更为有效的低毒抗肿瘤药物。姜黄素是姜黄中提取的一种植物多酚,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎、清除自由基和抗微生物等多方面药理作用,可抑制多种肿瘤细胞增殖。临床试验中发现姜黄素安全性高,每天使用达 10 g 对人体亦无毒性^[5]。姜黄素在肿瘤治疗和预防方面具有巨大潜力,有望成为一种新的治疗策略。

本研究发现姜黄素能够抑制 MB Daoy 细胞增殖,呈时间-剂量依赖性。姜黄素抗肿瘤的具体机制目前尚未完全明了,研究表明姜黄素作用于肿瘤细胞可诱导自噬发生^[6-8]。自噬是细胞受到刺激后吞噬自身的细胞质或细胞器,通过单层或双层膜包裹形成自噬体,自噬体与溶酶体结合形成自噬溶酶体,最终通过溶酶体内的蛋白水解酶完成其降解的过程^[9]。自噬的异常可导致多种疾病的发生,其与肿瘤的发生密切相关。在多种人类肿瘤细胞中存在自噬活性的改变,但自噬是抑制还是促进肿瘤的发生发展,至今还是国际上研究的热点。近年来,越来越多的研究证实一些植物及有效成分发挥着诱导肿瘤细胞自噬的作用^[10-11]。自噬整个过程由一组进化上高度保守的自噬相关基因 (autophagy related gene,

ATG)所调控^[12]。Beclin1 是酵母 ATG6 在哺乳细胞中的同源蛋白,主要通过Ⅲ型 PI3K(phosphatidylinositol 3 kinase)形成复合物参与自噬体的形成,其表达强度与自噬活性密切相关。微管相关蛋白 1 轻链 3(microtubule associated protein 1 light chain 3, MAP1-LC3, LC3)是哺乳动物细胞中酵母 ATG8 基因的同源物,定位于前自噬泡和自噬泡膜表面,参与自噬体的形成^[13]。非活化形式的 LC3-Ⅰ主要存在于胞质中,自噬发生时转化为 LC3-Ⅱ并结合在自噬体膜上直至被溶酶体酶降解,因此 LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ比值或 LC3-Ⅱ含量可反映细胞内自噬的水平。本研究应用激光共聚焦荧光显微镜检测 Beclin1 和 LC3 的表达,发现姜黄素处理后 Daoy 细胞中 Beclin1 和 LC3 的表达明显增强,应用 RT-PCR 和 Western blot 研究发现 Beclin1 和 LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ的表达增加呈时间依赖性,提示姜黄素能诱导 Daoy 细胞的自噬。多种人类肿瘤中存在自噬活性的改变,自噬可能在不同肿瘤或同一肿瘤的不同阶段发挥不同的作用。本研究中,姜黄素明显增强了 Daoy 细胞的自噬水平,与 Aoki 等^[14]在恶性胶质瘤中发现的姜黄素诱导自噬的研究结果一致,推断姜黄素可能通过自噬发挥杀伤肿瘤细胞的作用。

姜黄素降低肿瘤细胞存活率主要是通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 和 NF- κ B 信号通路实现^[15-16]。PI3K/Akt/mTOR 途径在自噬的调节中起重要的作用。本研究应用 Western blot 检测姜黄素对 Daoy 细胞中该通路的影响,结果发现 PI3K、p-Akt(磷酸化 Ser⁴⁷³位点)和 p-mTOR 的表达呈现时间依赖性下降,而总 Akt 和总 mTOR 表达无明显变化。PI3K/Akt/mTOR 通路激动剂 Insulin 干预后不能有效阻断姜黄素引起的 PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 的降低,并且不能降低姜黄素所致自噬标志蛋白 Beclin1 和 LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ的增高,进一步证实姜黄素可能通过抑制该通路而诱导自噬,从而抑制 Daoy 细胞生长增殖。

综上所述,姜黄素可促进 Daoy 细胞自噬,其机制可能与上调自噬相关基因 Beclin1 和 LC3-Ⅱ的表达,抑制自噬负调控信号通路中 Akt 和 mTOR 磷酸化活化及 PI3K 表达有关。目前自噬与肿瘤的关系以及自噬的调节机制尚未完全清楚,需要更深入的研究为肿瘤的治疗提供新的途径。

参 考 文 献

- [1] Qian H, Yang Y, Wang X. Curcumin enhanced adriamycin-induced human liver-derived Hepatoma G2 cell death through activate mitochondria-mediated apoptosis and autophagy[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2011, 43(3): 125-131.
- [2] Yamauchi Y, Izumi Y, Asakura K, et al. Curcumin induces autophagy in ACC-MESO-1 cells[J]. *Phytother Res*, 2012, 26(12): 1779-1783.
- [3] Xiao K, Jiang J, Guan C, et al. Curcumin induces autophagy via activating the AMPK signaling pathway in lung adenocarcinoma cells[J]. *J Pharmacol Sci*, 2013, 123(2): 102-109.
- [4] Mosieniak G, Adamowicz M, Alster O, et al. Curcumin induces permanent growth arrest of human colon cancer cells: link between senescence and autophagy[J]. *Mech Ageing Dev*, 2012, 133(6): 444-455.
- [5] Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies[J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(1A): 363-398.
- [6] Yan LJ, Jun L, Zheng HQ, et al. Autophagic and apoptotic mechanisms of curcumin induced death in K562 cells[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2009, 11(11): 918-928.
- [7] O'Sullivan-Coyne G, O'Sullivan GC, O'Donovan TR, et al. Curcumin induces apoptosis-independent death in oesophageal cancer cells[J]. *Br J Cancer*, 2009, 101(9): 1585-1595.
- [8] Youn Ju Lee, Nam-Yi Kim, Young-Ah Suh, et al. Involvement of ROS in curcumin induced autophagic cell death[J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2011, 15(1): 1-7.
- [9] Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(11): 931-937.
- [10] Meijer AJ, Codogno P. Regulation and role of autophagy in mammalian cells[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(12): 2445-2462.
- [11] Zhang Jq, Li Ym, Chen Xh, et al. Autophagy is involved in anti-cancer effects of matrine on SGC-7901 human gastric cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2011, 26(1): 115-124.
- [12] Mujumdar N, Mackenzie TN, Dudeja V, et al. Triptolide induces cell death in pancreatic cancer cells by apoptotic and autophagic pathways[J]. *Int J Cancer* 2010, 139(2): 598-608.
- [13] Noda T, Yoshimori T. Molecular basis of canonical and bactericidal autophagy[J]. *Int Immunol*, 2009, 21(11): 1199-1204.
- [14] Aoki H, Takada Y, Kondo S, et al. Evidence that curcumin suppresses the growth of malignant gliomas in vitro and in vivo through induction of autophagy: role of Akt and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways[J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 72(1): 29-39.
- [15] Reuter S, Eifes S, Dicato M, et al. Modulation of anti-apoptotic and survival pathways by curcumin as a strategy to induce apoptosis in cancer cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 76(11): 1340-1351.
- [16] Chen MJ, Du YH, Qui M, et al. Ophiopogonin B-induced autophagy in non-small cell lung cancer cells via inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Oncology Reports*, 2013, 29(2): 430-436.

(责任编辑:冉明会)