

# 姜黄素保护帕金森病多巴胺能神经元的机制研究

吴 忱, 梁顺利, 徐 彬, 张荣博, 徐林胜

浙江中医药大学附属第二医院神经内科, 浙江 杭州 310005

**[摘要]** 目的:观察姜黄素对帕金森病细胞模型中多巴胺能神经元的保护作用并探讨其作用机制。方法:人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞采用 1-甲基-4-苯基-四氢吡啶离子(MPTP)处理建立帕金森病细胞模型,进一步设立姜黄素干预、自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-MA)干预以及姜黄素和 3-MA 同时干预组。各组细胞在药物处理 48 h 后分别进行酪氨酸羟化酶(TH)免疫荧光染色观察多巴胺能神经元存活数;蛋白质印迹法检测  $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -Syn)、转录因子 EB(TFEB)、自噬相关蛋白多克隆抗溶酶体相关膜蛋白 2A(LAMP2A)和微管相关蛋白 1 轻链 3-II(LC3-II)的蛋白表达;RT-PCR 检测  $\alpha$ -Syn 的 mRNA 表达。结果:与模型对照组比较,姜黄素组多巴胺能神经元存活数增加( $P < 0.01$ ), $\alpha$ -Syn 蛋白及 mRNA 表达减少(均  $P < 0.01$ ),TFEB 以及自噬蛋白 LAMP2A 和 LC3-II 表达上调(均  $P < 0.01$ );3-MA 和姜黄素同时干预组多巴胺能神经元存活数增加( $P < 0.05$ ), $\alpha$ -Syn 蛋白及 mRNA 表达减少( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),TFEB、LAMP2A 和 LC3-II 蛋白表达上调(均  $P < 0.01$ )。与姜黄素组比较,姜黄素和 3-MA 同时干预组多巴胺能神经元存活数减少,LC3-II 和 LAMP2A 蛋白表达减少(均  $P < 0.05$ )。结论:姜黄素可激活细胞自噬功能促进  $\alpha$ -Syn 自噬性清除,从而减轻 MPTP 所致的多巴胺能神经元损伤。



**[关键词]** 姜黄素/药理学;帕金森病/病理生理学;神经元/代谢; $\alpha$  突触核蛋白;转录因子;自噬;疾病模型,动物

**[中图分类号]** R742 **[文献标志码]** A

## Protective effect of curcumin on dopamine neurons in Parkinson's disease and its mechanism

WU You, LIANG Shunli, XU Bin, ZHANG Rongbo, XU Linsheng (Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China)

Corresponding author: XU Bin, E-mail: xubin2008.love@163.com, https://orcid.

收稿日期:2018-03-20 接受日期:2018-08-08

基金项目:浙江省自然科学基金(LQ17H280003);浙江省中医药科技计划(2015ZQ017);浙江省医药卫生科技计划(2014KYB181)

第一作者:吴 忱(1983—),女,硕士,主治医师,主要从事神经系统变性疾病的临床和基础研究;E-mail: youyou1983520@sina.com; https://orcid.org/0000-0003-1022-9434

通信作者:徐 彬(1965—),男,硕士,主任医师,副教授,硕士生导师,主要从事脑血管疾病、神经系统变性疾病的临床和基础研究;E-mail: xubin2008.love@163.com; https://orcid.org/0000-0001-7561-4427

org/0000-0001-7561-4427

[ **Abstract** ] **Objective:** To investigate the effect of curcumin on dopamine neurons in Parkinson's disease (PD) and its mechanism. **Methods:** SH-SY5Y human neuroblastoma cells were treated with 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) to establish the PD cell model. The model cells were treated with curcumin and/or autophagy inhibitor 3-MA. After 48 h of drug treatment, the number of surviving dopamine neurons was detected by tyrosine hydroxylase immunofluorescence method. Western blotting was used to detect protein expression of  $\alpha$ -Synuclein ( $\alpha$ -Syn), transcription factor EB (TFEB) and autophagy-related proteins lysosome-associated membrane protein 2A (LAMP2A) and microtubule-associated protein 1 light chain 3-II (LC3-II); RT-PCR was used to detect mRNA expression of  $\alpha$ -Syn. **Results:** Compared with MPTP model group, curcumin increased the number of surviving dopamine neurons ( $P < 0.01$ ), decreased both protein expression and mRNA expression of  $\alpha$ -Syn (all  $P < 0.01$ ), and increased protein expression of TFEB, LAMP2A and LC3-II (all  $P < 0.01$ ). When curcumin and 3-MA were given concurrently, the number of surviving dopamine neurons, protein expression of TFEB, LAMP2A and LC3-II increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), and both protein expression and mRNA expression of  $\alpha$ -Syn decreased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) compared with MPTP model group; but the number of surviving dopamine neurons and protein expression of LAMP2A and LC3-II decreased compared with curcumin group (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Curcumin exerts protective effect on dopamine neurons in PD, which may be associated with enhancing autophagy and promoting the clearance of  $\alpha$ -Syn.

[ **Key words** ] Curcumin/pharmacology; Parkinson disease/physiopathology; Neurons/metabolism;  $\alpha$ -Synuclein; Transcription factors; Autophagy; Disease models, animal

[ J Zhejiang Univ ( Med Sci ), 2018,47(5):480-486. ]

帕金森病是目前中老年人最常见的神经系统变性疾病之一。路易小体中  $\alpha$ -突触核蛋白 ( $\alpha$ -Synuclein,  $\alpha$ -Syn) 异常聚集与帕金森病密切相关<sup>[1]</sup>,而细胞自噬功能障碍是导致  $\alpha$ -Syn 清除障碍和异常聚集的重要因素<sup>[2-3]</sup>。姜黄素是从姜黄根茎中提取的一种多酚类物质,具有诱导自噬激活的作用,近年来研究发现其对帕金森病具有保护作用<sup>[4-5]</sup>,但具体机制尚未明确。本研究诱导 SH-SY5Y 细胞建立帕金森病细胞模型,评价姜黄素对多巴胺能神经元、 $\alpha$ -Syn、转录因子 EB(transcription factor EB, TFEB)及自噬相关蛋白的影响,探讨姜黄素保护多巴胺能神经元的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞购于中国科

学院典型培养物保藏委员会细胞库;1-甲基-4-苯基-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine, MPTP)、姜黄素、自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)和鼠抗酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)单克隆抗体为美国 Sigma 公司产品;兔多克隆抗微管相关蛋白 1 轻链 3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)抗体为英国 Abcam 公司产品;兔多克隆  $\alpha$ -Syn 抗体为美国 Santa 公司产品;兔多克隆抗溶酶体相关膜蛋白 2A(lysosome-associated membrane protein 2A, LAMP2A)抗体为美国 Proteintech 公司产品;鼠抗 TFEB 单克隆抗体为美国 CST 公司产品;核蛋白试剂盒为上海碧云天生物技术有限公司产品;超纯 RNA 提取试剂盒为北京康为世纪生物科技有限公司产品;PrimeScript<sup>TM</sup> RT Master Mix 试剂盒和 Premix Taq<sup>TM</sup> 试剂盒为日

本 TaKaRa 公司产品。

### 1.2 帕金森病细胞模型制备和实验分组

人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞于 DMEM 高糖培养液中,单层细胞汇合至 80% ~ 90% 时使用。取对数生长期的 SH-SY5Y 细胞,培养基中加入 MPTP (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 诱导 48 h 建模。以正常 SH-SY5Y 细胞为空白对照组,另设模型对照组、姜黄素组、姜黄素 + 3-MA 组和 3-MA 组。姜黄素组、姜黄素 + 3-MA 组和 3-MA 组在 MPTP 处理的同时分别将姜黄素 (40  $\mu\text{mol/L}$ )、姜黄素 (40  $\mu\text{mol/L}$ ) + 3-MA (4 mmol/L)、3-MA (4 mmol/L) 加入培养基中孵育 48 h。各组分别在 MPTP 和药物诱导后去除培养基,收集细胞用于各项指标测定。

### 1.3 TH 免疫荧光观察存活细胞数

细胞经药物处理后将细胞悬液滴加至盖玻片,4% 多聚甲醛固定 30 min, PBS 洗三次,加破膜工作液室温孵育 10 min 进行细胞破膜,牛血清白蛋白封闭;去除封闭液后滴加小鼠 TH 单克隆抗体 (1:500),4  $^{\circ}\text{C}$  过夜,荧光二抗室温孵育,4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (DAPI) 复染细胞核, PBS 洗涤后封片;切片于荧光显微镜下观察,采用 Case Viewer 切片扫描软件采集图像,在高倍视野下每个标本随机取 10 个视野,其中 TH 阳性为存活的细胞。

### 1.4 蛋白质印迹法检测 $\alpha\text{-Syn}$ 、TFEB 和自噬相关蛋白 LAMP2A、LC3-II 表达

收集处理好的细胞,加入蛋白裂解液冰上裂解,4  $^{\circ}\text{C}$  离心取上清液。测定蛋白浓度,提取总蛋白,然后取蛋白提取液,100  $^{\circ}\text{C}$  变性 5 min,制胶,加样,SDS-PAGE 后恒压转至硝酸纤维素膜 (NC 膜),5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,分别加入封闭液稀释的  $\alpha\text{-Syn}$  抗体 (1:200)、TFEB 抗体 (1:200)、LC3 抗体 (1:2000)、LAMP2A 抗体 (1:500) 和内参蛋白,4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜,将一抗孵育后的膜放入二抗中,室温孵育 1 h。膜于荧光检测试剂中反应 2 min 后在凝胶成像系统中观察、拍照。

### 1.5 RT-PCR 检测 $\alpha\text{-Syn}$ mRNA 表达

按照超纯 RNA 提取试剂盒说明书提取 RNA,按照 PrimeScript<sup>TM</sup> RT Master Mix 试剂盒说明书配制反应液,轻柔混匀后进行逆转录反应,条件如下:37  $^{\circ}\text{C}$  15 min,85  $^{\circ}\text{C}$  5 s,4  $^{\circ}\text{C}$ 。 $\alpha\text{-Syn}$  引物序列为:上游引物 5'-ATGGATGTATTCATGAAAG GACT-3',下游引物 5'-CTACATAGAGAACACCCT CTTT-3'。按照 Premix Taq<sup>TM</sup> 试剂盒反应体系加入

试剂和引物,进行 PCR,反应条件为:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 2 min;95  $^{\circ}\text{C}$  变性 15 s,55  $^{\circ}\text{C}$  退火 15 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 15 s,35 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。取反应产物 5  $\mu\text{L}$  于琼脂糖凝胶电泳 130 V、25 min,凝胶成像分析系统中观察 DNA 条带并拍照保存,采用 ImageJ2x 软件分析图片条带灰度值。

### 1.6 统计学方法

所有实验独立重复 6 次。采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,计量资料用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 姜黄素对细胞存活数的影响

各组 TH 免疫荧光染色结果见图 1。空白对照组、模型对照组、姜黄素组、姜黄素 + 3-MA 组和 3-MA 组 TH 阳性细胞数分别为 (25.9  $\pm$  3.8)、(14.3  $\pm$  2.3)、(19.0  $\pm$  2.7)、(16.6  $\pm$  2.3) 和 (11.7  $\pm$  1.6)  $\times$  800/每高倍视野。与空白对照组比较,模型对照组、姜黄素组、姜黄素 + 3-MA 组和 3-MA 组 TH 阳性细胞数减少 (均  $P < 0.01$ );与模型对照组比较,姜黄素组 TH 阳性细胞数增加 ( $P < 0.01$ ),荧光染色强度增加,且细胞排列紧密,而 3-MA 组 TH 阳性细胞数减少 ( $P < 0.05$ );姜黄素 + 3-MA 组 TH 阳性细胞数也较模型对照组增加 ( $P < 0.05$ ),但较姜黄素组少 ( $P < 0.05$ )。结果提示,姜黄素可减轻 MPTP 对神经元的毒性,增加多巴胺能神经元的存活数。

### 2.2 姜黄素对细胞 $\alpha\text{-Syn}$ 蛋白和 mRNA 表达的影响

与空白对照组比较,模型对照组、姜黄素组、姜黄素 + 3-MA 组和 3-MA 组  $\alpha\text{-Syn}$  蛋白和 mRNA 表达增加 (均  $P < 0.01$ );与模型对照组比较,姜黄素组  $\alpha\text{-Syn}$  蛋白和 mRNA 表达减少 ( $P < 0.01$ ),而 3-MA 组  $\alpha\text{-Syn}$  蛋白和 mRNA 表达增加 ( $P < 0.05$ );姜黄素 + 3-MA 组  $\alpha\text{-Syn}$  蛋白和 mRNA 表达也较模型对照组减少 ( $P < 0.05$ ),与姜黄素组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见图 2。结果提示,在帕金森病细胞模型中,姜黄素可促进细胞  $\alpha\text{-Syn}$  清除,减少  $\alpha\text{-Syn}$  表达和聚集。

### 2.3 姜黄素对细胞自噬相关蛋白 LAMP2A 和 LC3-II 蛋白表达的影响

与空白对照组比较,模型对照组、姜黄素组、

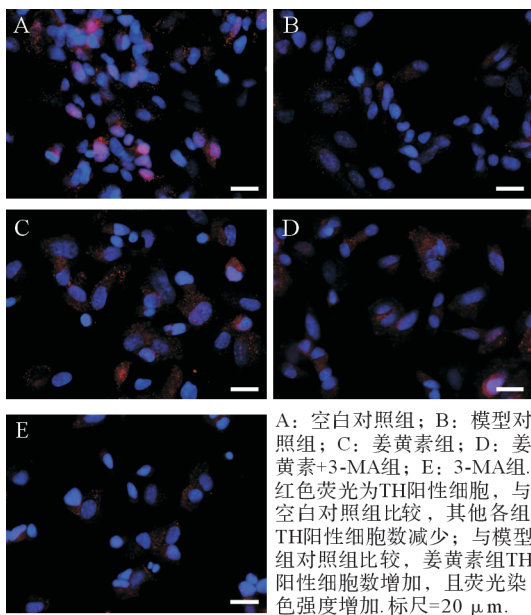
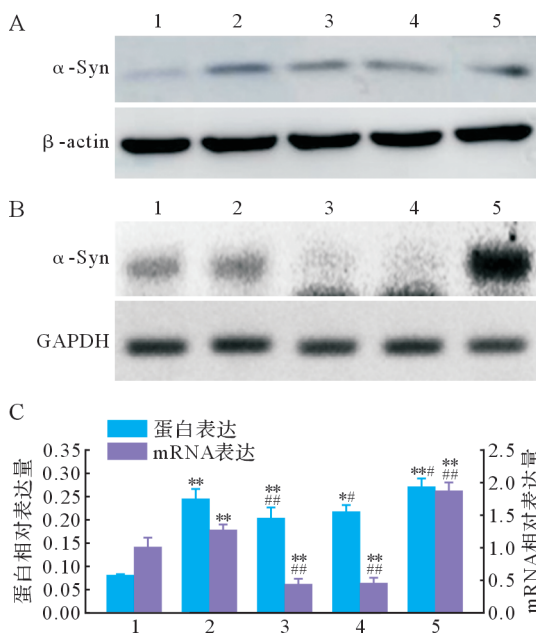


图1 酪氨酸羟化酶(TH)免疫荧光染色观察细胞存活的数量和状态

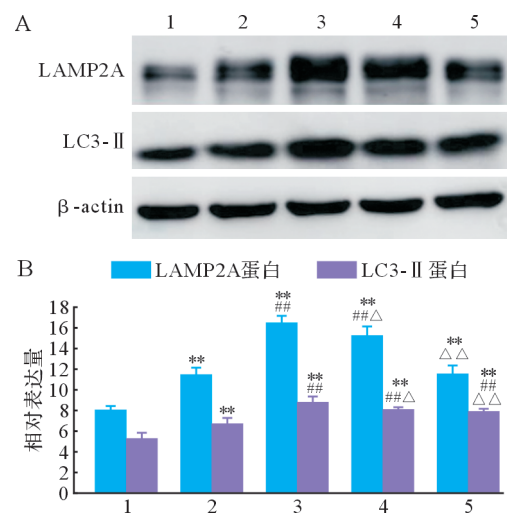
Figure 1 Number and status of surviving dopamine neurons by tyrosine hydroxylase (TH) immunofluorescence staining



A: α-Syn 蛋白表达电泳图; B: α-Syn mRNA 表达电泳图; C: 各组 α-Syn 蛋白和 mRNA 相对表达量比较. 1: 空白对照组; 2: 模型对照组; 3: 姜黄素组; 4: 姜黄素 + 3-MA 组; 5: 3-MA 组. 与空白对照组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型对照组比较, #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ . α-Syn: α 突触核蛋白.

图2 各组 α-Syn 蛋白和 mRNA 表达及比较 ( $n = 6$ )  
Figure 2 Protein and mRNA expression of α-Syn in each group ( $n = 6$ )

姜黄素 + 3-MA 组和 3-MA 组 LAMP2A 和 LC3-II 蛋白表达增加 (均  $P < 0.01$ ); 与模型对照组比较, 姜黄素组 LAMP2A 和 LC3-II 蛋白表达增加 (均  $P < 0.01$ ); 姜黄素 + 3-MA 组 LAMP2A 和 LC3-II 表达较模型对照组增加 (均  $P < 0.01$ ), 但较姜黄素组减少 (均  $P < 0.05$ ); 3-MA 组 LAMP2A 表达较姜黄素组及姜黄素 + 3-MA 组均减少 (均  $P < 0.01$ ), LC3-II 表达也较姜黄素组减少 ( $P < 0.01$ ), 但与姜黄素 + 3-MA 组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 3. 结果提示, 在帕金森病细胞模型中, 姜黄素干预具有激活细胞自噬的作用.



A: LAMP2A 和 LC3-II 蛋白表达电泳图; B: 各组 LAMP2A 和 LC3-II 蛋白相对表达量比较. 1: 空白对照组; 2: 模型对照组; 3: 姜黄素组; 4: 姜黄素 + 3-MA 组; 5: 3-MA 组. 与空白对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型对照组比较, ##  $P < 0.01$ ; 与姜黄素组比较, Δ  $P < 0.05$ , ΔΔ  $P < 0.01$ . LAMP2A: 多克隆抗溶酶体相关膜蛋白 2A; LC3-II: 微管相关蛋白 1 轻链 3-II.

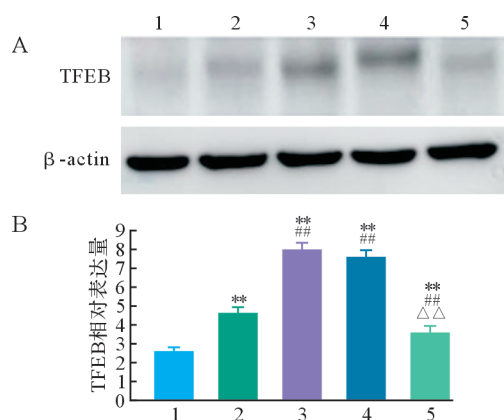
图3 各组 LAMP2A 和 LC3-II 蛋白表达及比较 ( $n = 6$ )  
Figure 3 Protein expression of LAMP2A and LC3-II in each group ( $n = 6$ )

### 2.4 姜黄素对细胞 TFEB 蛋白表达的影响

与空白对照组比较, 模型对照组、姜黄素组、姜黄素 + 3-MA 组和 3-MA 组 TFEB 蛋白表达均增加 (均  $P < 0.01$ ); 与模型对照组比较, 姜黄素组和姜黄素 + 3-MA 组 TFEB 蛋白表达增加 (均  $P < 0.01$ ), 而 3-MA 组 TFEB 蛋白表达减少 ( $P < 0.01$ ), 见图 4. 结果提示, 在帕金森病细胞模型中, 姜黄素可能通过增加 TFEB 表达来调节自噬.

## 3 讨论

帕金森病是一种以黑质多巴胺能神经元变性



A: TFEB 蛋白表达电泳图; B: 各组 TFEB 蛋白相对表达量比较。1: 空白对照组; 2: 模型对照组; 3: 姜黄素组; 4: 姜黄素 + 3-MA 组; 5: 3-MA 组。与空白对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型对照组比较, ##  $P < 0.01$ ; 与姜黄素组比较, △△  $P < 0.01$ 。

图4 各组转录因子 EB (TFEB) 蛋白表达及比较 ( $n = 6$ )

Figure 4 Protein expression of transcription factor EB (TFEB) in each group ( $n = 6$ )

坏死为主要病理特征的常见神经系统退行性疾病,其发病率和致残率高。目前,帕金森病治疗以药物为主,中药在帕金森病治疗中具有独特作用。姜黄素具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎及器官保护等多种药理作用<sup>[6]</sup>,近年来逐渐用于帕金森病治疗。研究表明,姜黄素在多种帕金森病小鼠模型中表现出抗炎、抗氧化等作用,可减少氧化应激和线粒体损伤,改善小鼠运动障碍,发挥神经保护作用<sup>[7-13]</sup>。在帕金森病细胞模型中姜黄素也表现出抗氧化应激、减少线粒体损伤、调节细胞内钙离子释放等作用,从而保护多巴胺能神经元、减少细胞死亡<sup>[14-17]</sup>。本研究采用 MPTP 诱导建立帕金森病细胞模型,TH 免疫荧光结果显示姜黄素可增加多巴胺能神经元存活数,减少 MPTP 所致的神经毒性作用。

帕金森病的发病与多种机制相关,其中细胞自噬功能障碍致  $\alpha$ -Syn 清除受损在其中发挥重要作用,因此能够激活自噬的药物可通过促进  $\alpha$ -Syn 自噬性清除来治疗帕金森病<sup>[18]</sup>。经典的自噬激活剂雷帕霉素在帕金森病细胞和动物模型中对多巴胺能神经元具有保护作用<sup>[19]</sup>,证实了上述观点。研究表明,姜黄素具有诱导自噬的功能,在肺癌、肝癌、恶性胶质细胞瘤等多种肿瘤细胞模型中可诱导自噬从而抑制肿瘤细胞生长<sup>[20-22]</sup>;阿尔

茨海默病动物模型证实,姜黄素可通过下调 PI3K/Akt/mTOR 信号途径诱导自噬、抑制  $\beta$  淀粉样蛋白形成,发挥神经保护作用<sup>[23]</sup>。因此我们推测姜黄素在帕金森病中同样具有诱导自噬的功能,并可能通过此功能发挥神经保护作用。

LC3-II 作为哺乳动物细胞中自噬体的标志物之一,可反映自噬活性的高低。但也有观点认为,LC3-II 蛋白表达增加也可能是由于溶酶体功能缺失而并非自噬活性增加。当溶酶体功能缺陷导致自噬途径阻断时,自噬标志物蛋白会因为降解减少而积聚,但这种因积聚而增多的自噬蛋白并不能提高细胞内自噬活性<sup>[24]</sup>。因此本实验还测定了 LAMP2A 蛋白的表达。LAMP2A 是一种重要的溶酶体膜蛋白,主要定位于溶酶体膜上,可作为溶酶体的标志物。研究结果显示,姜黄素可以增加帕金森病细胞中 LC3-II 和 LAMP2A 的表达,提示姜黄素具有激活细胞自噬的作用。姜黄素还可以减少细胞  $\alpha$ -Syn 的蛋白及 mRNA 表达,说明其激活的自噬可促进细胞中  $\alpha$ -Syn 清除,可见细胞自噬激活促进  $\alpha$ -Syn 自噬性清除是姜黄素对帕金森病发挥神经保护作用的机制之一。自噬抑制剂 3-MA 和姜黄素同时干预则部分消除了姜黄素对 LC3-II 和 LAMP2A 的影响,且多巴胺能神经元存活数也相应减少,进一步验证了上述结论。但两者同时干预仍使得多巴胺能神经元存活数较模型对照组增加, $\alpha$ -Syn 蛋白及 mRNA 表达减少,提示激活细胞自噬并不是姜黄素促进  $\alpha$ -Syn 清除的唯一机制,姜黄素还可能通过其他途径清除  $\alpha$ -Syn 发挥多巴胺能神经元保护作用。本研究还观察到模型对照组较空白对照组 LAMP2A 和 LC3-II 表达增加,提示自噬激活;但与此同时  $\alpha$ -Syn 蛋白表达增加,TH 阳性细胞减少,提示 MPTP 激活的自噬并没有促进  $\alpha$ -Syn 的降解,这可能是一种自噬应激现象,蛋白积聚加重导致自噬性细胞死亡,需要今后更深入的研究。

TFEB 是细胞自噬的重要调控蛋白。在过表达  $\alpha$ -Syn 的帕金森病动物模型中,TFEB 功能受损可增加多巴胺能神经元对  $\alpha$ -Syn 毒性的易感性,TFEB 过表达则可增强细胞自噬功能,促进  $\alpha$ -Syn 清除,还有研究发现在帕金森病患者中脑的多巴胺能神经元细胞核内 TFEB 表达减少<sup>[25-26]</sup>。Song 等<sup>[27]</sup>发现一种合成的姜黄素衍生物可与 TFEB 特异性结合,促进 TFEB 核转运,从而增强自噬和

溶酶体功能,但并未抑制雷帕霉素靶蛋白活性。Zhang 等<sup>[28]</sup>研究发现,姜黄素在激活细胞自噬的同时增加了 TFEB 蛋白表达,进一步证实 TFEB 表达增加可能是姜黄素激活自噬的重要途径。3-MA 是磷脂酰肌醇 3 激酶的抑制剂,可特异性阻断自噬体的形成,广泛用作自噬抑制剂。3-MA 与姜黄素同时干预并未消除姜黄素对 TFEB 的影响,可能与两者对自噬的作用途径不同、药物存在相互作用等相关。

综上所述,姜黄素可保护 MPTP 所致的多巴胺能神经元损伤,激活细胞自噬功能、促进  $\alpha$ -Syn 自噬性清除可能是作用机制之一;同时,TFEB 在细胞自噬过程中发挥重要作用,可能是姜黄素激活自噬的重要途径。此外,姜黄素还可能通过激活 AMPK 信号通路、抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路、增加转铁蛋白受体 1 和铁调节蛋白 1 的表达、磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2 信号通路等多种途径激活自噬功能<sup>[29-32]</sup>。因此,姜黄素是帕金森病治疗的一个非常有潜力的中药,但也有学者认为姜黄素药物峰浓度低、口服吸收差、生物利用度低、体内的化学性质不稳定、生物学活性较弱,可能导致临床应用无效<sup>[33-35]</sup>。因此,姜黄素在帕金森病治疗中的作用、机制及其在临床应用的可行性、有效性和安全性等问题需要更多、更深入的研究加以探讨。

## 参考文献

- [1] BENSKEY M J, PEREZ R G, MANFREDSSON F P. The contribution of alpha synuclein to neuronal survival and function-implications for Parkinson's disease [J]. **J Neurochem**, 2016, 137(3):331-359.
- [2] LEHRI-BOUFALA S, OUIDJA M O, BARBIER-CHASSEFIÈRE V, et al. New roles of glycosaminoglycans in  $\alpha$ -synuclein aggregation in a cellular model of Parkinson disease [J/OL]. **PLoS One**, 2015, 10(1):e0116641.
- [3] SALA G, MARINIG D, AROSIO A, et al. Role of chaperone-mediated autophagy dysfunctions in the pathogenesis of Parkinson's disease [J]. **Front Mol Neurosci**, 2016, 9:157.
- [4] KHUWAJA G, KHAN M M, ISHRAT T, et al. Neuroprotective effects of curcumin on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats; behavioral, neurochemical and immunohistochemical studies [J]. **Brain Res**, 2011, 1368:254-263.
- [5] PANDAREESH M D, SHRIVASH M K, NAVEEN KUMAR H N, et al. Curcumin monoglucoside shows improved bioavailability and mitigates rotenone induced neurotoxicity in cell and drosophila models of Parkinson's disease [J]. **Neurochem Res**, 2016, 41(11):3113-3128.
- [6] AQQARWAL B B, HARIKUMAR K B. Potential therapeutic effect of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, meta-bolic, autoimmune and neoplastic diseases [J]. **Int J Biochem Cell Biol**, 2009, 41(1):40-59.
- [7] HE X J, UCHIDA K, MEGUMI C, et al. Dietary curcumin supplementation attenuates 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) neurotoxicity in C57BL mice [J]. **J Toxicol Pathol**, 2015, 28(4):197-206.
- [8] SPINELLI K J, OSTERBERG V R, MESHUL C K, et al. Curcumin treatment improves motor behavior in  $\alpha$ -synuclein transgenic mice [J/OL]. **PLoS One**, 2015, 10(6):e0128510.
- [9] MANSOURI Z, SABETKASAEI M, MORADI F, et al. Curcumin has neuroprotection effect on homocysteine rat model of Parkinson [J]. **J Mol Neurosci**, 2012, 47(2):234-242.
- [10] SONG S, NIE Q, LI Z, et al. Curcumin improves neurofunctions of 6-OHDA-induced parkinsonian rats [J]. **Pathol Res Pract**, 2016, 212(4):247-251.
- [11] KHATRI D K, JUVEKAR A R. Neuroprotective effect of curcumin as evinced by abrogation of rotenone-induced motor deficits, oxidative and mitochondrial dysfunctions in mouse model of Parkinson's disease [J]. **Pharmacol Biochem Behav**, 2016, 150-151:39-47.
- [12] CUI Q, LI X, ZHU H. Curcumin ameliorates dopaminergic neuronal oxidative damage via activation of the Akt/Nrf2 pathway [J]. **Mol Med Rep**, 2016, 13(2):1381-1388.
- [13] SIDDIQUE Y H, NAZ F, JYOTI S. Effect of curcumin on lifespan, activity pattern, oxidative stress, and apoptosis in the brains of transgenic Drosophila model of Parkinson's disease [J]. **Biomed Res Int**, 2014, 2014:606928.
- [14] VAN DER MERWE C, VAN DYK H C, ENGELBRECHT L, et al. Curcumin rescues a PINK1 knock down SH-SY5Y cellular model of Parkinson's disease from mitochondrial dysfunction and cell death [J]. **Mol Neurobiol**, 2017, 54(4):2752-2762.
- [15] UÇUZ A C, ÖZ A, NAZIROĞLU M. Curcumin inhibits apoptosis by regulating intracellular calcium

- release, reactive oxygen species and mitochondrial depolarization levels in SH-SY5Y neuronal cells[J]. **J Recept Signal Transduct Res**,2016,36(4):395-401.
- [16] JAISIN Y, THAMPITHAK A, MEESARAPEE B, et al. Curcumin protects the dopaminergic cell line SH-SY5Y from 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity through attenuation of p53-mediated apoptosis [J]. **Neurosci Lett**,2011,489(3):192-196.
- [17] BOLLIMPELLI V S, KUMAR P, KUMARI S, et al. Neuroprotective effect of curcumin-loaded lactoferrin nano particles against rotenone induced neurotoxicity [J]. **Neurochem Int**,2016,95:37-45.
- [18] HARRIS H, RUBINSZTEIN D C. Control of autophagy as a therapy for neurodegenerative disease [J]. **Nat Rev Neurol**,2011,8(2):108-117.
- [19] MALAGELADA C, JIN Z H, JACKSON-LEWIS V, et al. Rapamycin protects against neuron death in *in vitro* and *in vivo* models of Parkinson's disease[J]. **J Neurosci**,2010,30(3):1166-1175.
- [20] QIAN H, YANG Y, WANG X. Curcumin enhanced Adriamycin-induced human liver-derived hepatoma G2 cell death through activation of mitochondria-mediated apoptosis and autophagy[J]. **Eur J Pharm Sci**,2011,43(3):125-131.
- [21] THAYYULLATHIL F, RAHMAN A, PALLICHANKANDY S, et al. ROS-dependent prostate apoptosis response-4 (Par-4) up-regulation and ceramide generation are the prime signaling events associated with curcumin-induced autophagic cell death in human malignant glioma [J]. **FEBS Open Bio**,2014,4:763-776.
- [22] JAROONWITCHAWAN T, CHAICHAROENAU-DOMRUNG N, NAMKAEW J, et al. Curcumin attenuates paraquat-induced cell death in human neuroblastoma cells through modulating oxidative stress and autophagy[J]. **Neurosci Lett**,2017,636:40-47.
- [23] KLIONSKY D J, ABDELMOHSEN K, ABE A, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition) [J]. **Autophagy**,2016,12(1):1-222.
- [24] WANG C, ZHANG X, TENG Z, et al. Downregulation of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in curcumin-induced autophagy in APP/PS1 double transgenic mice [J]. **Eur J Pharmacol**,2014,740:312-320.
- [25] EBRAHIMI-FAKHARI D, WAHLSTER L. Restoring impaired protein metabolism in Parkinson's disease-TFEB-mediated autophagy as a novel therapeutic target [J]. **Mov Disord**,2013,28(10):1346.
- [26] DECREASESAC M, BJÖRKLUND A. TFEB: Pathogenic role and therapeutic target in Parkinson disease [J]. **Autophagy**,2013,9(8):1244-1246.
- [27] SONG J X, SUN Y R, PELUSO I, et al. A novel curcumin analog binds to and activates TFEB *in vitro* and *in vivo* independent of MTOR inhibition [J]. **Autophagy**,2016,12(8):1372-1389.
- [28] ZHANG J, WANG J, XU J, et al. Curcumin targets the TFEB-lysosome pathway for induction of autophagy [J]. **Oncotarget**,2016,7(46):75659-75671.
- [29] 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.
- [30] LI W, ZHOU Y, YANG J, et al. Curcumin induces apoptotic cell death and protective autophagy in human gastric cancer cells [J]. **Oncol Rep**,2017,37(6):2459-3466.
- [31] YANG C, MA X, WANG Z, et al. Curcumin induces apoptosis and protective autophagy in castration-resistant prostate cancer cells through iron chelation [J]. **Drug Des Devel Ther**,2017,11:431-439.
- [32] LI X, FENG K, LI J, et al. Curcumin inhibits apoptosis of chondrocytes through activation ERK1/2 signaling pathways induced autophagy [J/OL]. **Nutrients**,2017,9(4):E414.
- [33] HEGER M, VAN GOLEN R F, BROEKGAARDEN M, et al. The molecular basis for the pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin and its metabolites in relation to cancer [J]. **Pharmacol Rev**,2013,66(1):222-307.
- [34] SCHNEIDER C, GORDON O N, EDWARDS R L, et al. Degradation of curcumin: from mechanism to biological implications [J]. **J Agric Food Chem**,2015,63(35):7606-7614.
- [35] NELSON K M, DAHLIN J L, BISSON J, et al. The essential medicinal chemistry of curcumin [J]. **J Med Chem**,2017,60(5):1620-1637.

[ 本文编辑 余方 刘丽娜 ]