

姜黄素对 TGF- β_2 刺激下小鼠肺成纤维细胞 PPAR- γ /PDGF- β 信号通路的影响

龚 玲 刘代顺 林 江 吴 杨 朱红兰

摘要 **目的** 探讨姜黄素对转化生长因子(TGF- β_2)刺激下小鼠肺成纤维细胞过氧化物酶体增殖物活化受体- γ (PPAR- γ)/血小板衍生生长因子 β (PDGF- β)信号通路的影响。**方法** 体外培养小鼠肺成纤维细胞(C57BL/6),采用细胞生长计数板检测空白组、姜黄素组(姜黄素 5、25、50 $\mu\text{mol/L}$)、TGF- β_2 组(10 ng/mL)及 TGF- β_2 加姜黄素组(TGF- β_2 10 ng/mL 及姜黄素 5、25、50 $\mu\text{mol/L}$)细胞数;逆转录 PCR 检测空白组、TGF- β_2 组(10 ng/mL)及 TGF- β_2 加姜黄素组(TGF- β_2 10 ng/mL 及姜黄素 5、25、50 $\mu\text{mol/L}$)PPAR- γ 、PDGFR- β 及 FGFR1 mRNA 转录水平;Western blot 法及 ELISA 法检测空白组、TGF- β_2 组(10 ng/mL)及 TGF- β_2 加姜黄素 50 $\mu\text{mol/L}$ 组(TGF- β_2 10 ng/mL 及姜黄素 50 $\mu\text{mol/L}$)PPAR- γ 蛋白表达及胶原蛋白-1 水平。**结果** 与空白组比较,姜黄素组 50 $\mu\text{mol/L}$ 时在 48、72 h 时对细胞增殖抑制最明显;与 TGF- β_2 组比较, TGF- β_2 加姜黄素组 50 $\mu\text{mol/L}$ 时同样在 48 h、72 h 时对细胞增殖抑制最明显。与空白组比较,TGF- β_2 组 PPAR- γ 、PDGF- β mRNA 表达及 PPAR- γ 蛋白表达升高,胶原蛋白-1 表达增加($P < 0.05$)。与 TGF- β_2 组比较,TGF- β_2 加姜黄素组 25、50 $\mu\text{mol/L}$ 时 PPAR- γ mRNA 表达水平明显升高,且高于 TGF- β_2 加姜黄素组 5 $\mu\text{mol/L}$ 时($P < 0.05$),而 TGF- β_2 加姜黄素组 50 $\mu\text{mol/L}$ 时 PPAR- γ mRNA 表达水平高于 TGF- β_2 加姜黄素组 25 $\mu\text{mol/L}$ 时($P < 0.05$)。TGF- β_2 加姜黄素组各浓度 PDGF- β mRNA 表达低于 TGF- β_2 组($P < 0.05$),且 TGF- β_2 加姜黄素组 50 $\mu\text{mol/L}$ 时 PDGF- β mRNA 表达低于 TGF- β_2 加姜黄素组 5、25 $\mu\text{mol/L}$ 时($P < 0.05$)。TGF- β_2 组及 TGF- β_2 加姜黄素组各浓度 FGFR1 mRNA 表达水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 TGF- β_2 组比较,TGF- β_2 加姜黄素 50 $\mu\text{mol/L}$ 组 PPAR- γ 蛋白表达升高,胶原蛋白-1 表达降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 姜黄素不仅抑制 TGF- β_2 诱导的小鼠肺成纤维细胞增殖,而且还抑制胶原合成,其可能与使 PPAR- γ 表达上调及 PDGF- β 表达下调相关。因此,姜黄素可能是通过 PPAR- γ /PDGF- β 信号通路阻止肺纤维化的发生发展。

关键词 姜黄素;过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ;转化生长因子- β_2 ;血小板衍生生长因子- β ;肺纤维化

Effect of Curcumin on TGF- β_2 Regulated PPAR- γ /PDGF- β Signaling Pathway in Lung Fibroblasts of Mice GONG Ling, LIU Dai-shun, LIN Jiang, WU Yang, and ZHU Hong-lan Department of Respiratory Disease, Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Guizhou (563002)

ABSTRACT **Objective** To explore the effect of curcumin on TGF- β_2 regulated peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR- γ)/platelet derived growth factor β (PDGF- β) signaling pathway in lung fibroblasts of mice. **Methods** C57BL/6 mouse lung fibroblasts were *in vitro* cultured with TGF- β_2 , curcumin, or TGF- β_2 plus curcumin. The cell proliferation was detected by cell growth counting in the blank control group, low, middle, and high dose curcumin groups (5, 25, 50 $\mu\text{mol/L}$), the TGF- β_2 (10 ng/mL) group, TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin (5, 25, 50 $\mu\text{mol/L}$) groups. mRNA expressions of PPAR- γ , platelet-derived growth factor receptor β (PDGFR- β), fibroblast growth factor R1 (FGFR1) were detected using reverse transcription PCR. Protein levels of PPAR- γ and collagen-1 were detected using Western

基金项目:贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究专项课题(No. QZYY-2014-010)

作者单位:遵义医学院第三附属医院呼吸内科(贵州 563002)

通讯作者:刘代顺, Tel: 13885250001, E-mail: ldsdoc@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2015.10.1249

blot and ELISA in the blank control group, the TGF- β_2 group, the TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 50 $\mu\text{mol/L}$ group. Results Compared with the blank control group, curcumin 50 $\mu\text{mol/L}$ showed the most significant inhibition on cell proliferation at 48 h and 72 h. Compared with the TGF- β_2 group, TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 50 $\mu\text{mol/L}$ also showed the most significant inhibition on cell proliferation at 48 h and 72 h. Compared with the blank control group, mRNA expressions of PPAR- γ and PDGF- β , as well as protein expression of PPAR- γ increased, the collagen-1 expression also increased in the TGF- β_2 group ($P < 0.05$). Compared with the TGF- β_2 group, mRNA expressions of PPAR- γ obviously increased in the TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 25 $\mu\text{mol/L}$ group and the TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 50 $\mu\text{mol/L}$ group, higher than that in the TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 5 $\mu\text{mol/L}$ group ($P < 0.05$). mRNA expressions of PPAR- γ was higher in the TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 50 $\mu\text{mol/L}$ group than in the TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 25 $\mu\text{mol/L}$ group ($P < 0.05$). mRNA expressions of PDGF- β was lower in TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin groups than in the TGF- β_2 group ($P < 0.05$). Besides, PDGF- β mRNA expressions were lower in the TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 50 $\mu\text{mol/L}$ group than in the TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 5 $\mu\text{mol/L}$ group and the TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 25 $\mu\text{mol/L}$ group ($P < 0.05$). There was no statistical difference in FGFR1 mRNA expressions between the TGF- β_2 group and 3 TGF- β_2 plus curcumin groups ($P > 0.05$). Compared with the TGF- β_2 group, PPAR- γ protein expressions increased and collagen-1 protein expressions decreased in the TGF- β_2 (10 ng/mL) plus curcumin 50 $\mu\text{mol/L}$ group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Conclusions Curcumin not only could inhibit TGF- β_2 induced proliferation of lung fibroblasts, but also could inhibit the synthesis of collagens. These might be associated with up-regulating PPAR- γ expressions and down-regulating PDGF- β expressions. Therefore, curcumin might inhibit the occurrence and developing of lung fibrosis through blocking PPAR- γ /PDGF- β signaling pathway.

KEYWORDS curcumin; peroxisome proliferator activated receptor γ ; transforming growth factor β_2 ; platelet derived growth factor β ; pulmonary fibrosis

特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种进展性、致死性、不可逆的慢性肺纤维化疾病,具有普通型间质性肺炎 (usual interstitial pneumonia, UIP) 的组织病理学特征,主要表现为弥漫性肺间质纤维化伴随轻度炎症,成纤维细胞灶与正常肺组织并存,细胞外基质 (extra cellular matrix, ECM) 的大量增生和沉积以及蜂窝组织的形成^[1,2]。临床主要表现为进行性呼吸困难并伴随肺功能下降^[3]。IPF 虽然经过药物治疗,但预后仍不佳,确诊后的平均生存时间为 2~5 年^[4,5],因此它被认为比癌症更致命^[6]。

转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β) 诱导的肺成纤维细胞转化为肌纤维母细胞是肺间质纤维化发病机制中的一个关键点^[7]。姜黄素 (Curcumin, Cur) 是二酮类化合物,具有降血脂、抗肿瘤、抗炎、利胆、抗氧化等作用^[8-11],中医学将姜黄素作为治疗呼吸系统疾病的有效药物,如哮喘、过敏等^[12]。Smith MR 等^[13]报道,姜黄素可通过抑制 TGF- β /Smad 信号通路抑制成纤维细胞向肌纤维母细胞分化,从而抑制肺纤维化形成。但尚未见姜黄素是否可通过 PPAR- γ /PDGF- β 信号通路发挥抗肺纤维化作用的相

关报道。本实验旨在探讨姜黄素对 TGF- β_2 刺激下小鼠肺成纤维细胞 PPAR- γ /PDGF- β 信号通路的影响,为进一步研究及临床治疗肺纤维化提供有效的靶点。

材料与方法

1 细胞 C57BL/6 小鼠肺成纤维细胞 (CRL-6013TM) 购于美国 American Type Culture Collection (ATCC) 公司,实验中所用细胞均为第 3~4 代。

2 药物 姜黄素购于美国 Sigma Aldrich 公司,10 mg/瓶,姜黄素纯度 > 99.5%,分子式: $[\text{HOC}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CH}=\text{CHCO}]_2\text{CH}_2$,分子量: 368.38。姜黄素使用二甲基亚砷溶解,最后加入培养体系中的终浓度为 5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ 。

3 试剂与材料 PPAR- γ 兔抗小鼠 (美国,Cell signal 公司), TGF- β_2 (美国 R&D Systems 公司), Alexa Fluor 488 标记山羊抗小鼠 (中国 碧云天公司), 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗兔 IgG (中国 碧云天公司), Trizol 试剂 (美国 Invitrogen 公司), PCR 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司), PCR 引物合成 (中国 生工公司), PVDF 膜 (德国 Roche 公司), DMEM (美国 HyClone 公司), ELISA 试剂盒 (美国 R&D Systems 公

司),琼脂糖(美国 Cambrex 公司)。

4 方法

4.1 细胞培养 C57BL/6 小鼠肺成纤维细胞用 DMEM 进行培养,置于 5% CO₂、饱和湿度、37 ℃ 培养箱中,每 2~3 天传代 1 次。实验时取对数生长期细胞。相同密度的细胞分别接种于 10 cm² 培养皿中,备用。

4.2 细胞生长计数检测 细胞分为空白对照组、姜黄素组、TGF-β₂ 组及 TGF-β₂ 加姜黄素组,姜黄素组分别给予姜黄素 5、25、50 μmol/L 干预; TGF-β₂ 组给予 TGF-β₂ 10 ng/mL 干预, TGF-β₂ 加姜黄素组给予 TGF-β₂ 10 ng/mL 加姜黄素 5、25、50 μmol/L 干预。各组细胞培养 24、48、72 h 后用细胞计数板进行计数,绘制生长曲线。分别比较空白对照组与姜黄素组、TGF-β₂ 组与 TGF-β₂ 加姜黄素组生长曲线。

4.3 PPAR-γ、FGFR1 及 PDGFR-β mRNA 表达检测 将细胞分为空白组、TGF-β₂ 组(10 ng/mL 干预)及 TGF-β₂ 加姜黄素组(TGF-β₂ 10 ng/mL 加姜黄素 5、25、50 μmol/L 干预)。药物干预 48 h 后采用逆转录 PCR 法检测。使用 Trizol 试剂参照说明书提取总 RNA,测定 A₂₆₀/A₂₈₀ 吸光度判断纯度和浓度后取 2 μL 总 RNA 使用 cDNA 反转录试剂盒进行反转录 DNA。引物序列见表 1。PCR 反应过程:反应体系 25 μL,94 ℃ 预变性 3 min,94 ℃ 变性 30 s,52 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 1 min,共 30 个 PCR 循环,最后 72 ℃ 总延伸 10 min。

表 1 PCR 基因引物序列

基因名称	序列	引物大小 (bp)
PPAR-γ	上游: 5'-GCCCTTTACACAGTTGATTTTC-3'	252
	下游: 5'-GATGCTTTATCCCCACAGACTC-3'	
FGFR1	上游: 5'-GGAGGAGAGAGTGAGAGGATGA-3'	333
	下游: 5'-TGAGTGGTGTGGGTTTGAATAA-3'	
PDGFR-β	上游: 5'-GTGGTCCTTACCGTCATCTCTC-3'	312
	下游: 5'-CTTCTCGCTACTCTGGCTGTG-3'	
β-actin	上游: 5'-ATATCGCTGCGCTGGTCGTC-3'	500
	下游: 5'-AGGATGGCGTGAGGGAGAGC-3'	

4.4 PPAR-γ 蛋白表达检测 将细胞分为空白组、TGF-β₂ 组(10 ng/mL 干预)及 TGF-β₂ 加姜黄素 50 μmol/L 组(TGF-β₂ 10 ng/mL 加姜黄素 50 μmol/L 干预)。药物干预 48 h 后采用 Western blot 法检测。预冷 PBS 洗 3 次,RAPI 加 PMSF 冰上裂解 30 min 提取总蛋白,14 000 r/min 离心 10 min 4 ℃ 收集上清液,BCA 法测定蛋白浓度。取 40 μg 蛋白与 5 × 上样缓冲

液混合煮沸 5 min,冷却上样。置于 SDS-PAGE 凝胶(5% 积层胶 80 V × 15 min,12% 分离胶 120 V × 40 min)电泳,电转移 25 V × 35 min 至 PVDF 膜,含 5% 的脱脂奶粉溶液封闭 1 h,TBST 洗涤后,加入 PPAR-γ 抗体(稀释度 1:1 000),4 ℃ 摇床过夜。TBST 洗膜 3 次后加入二抗(稀释度 1:10 000)避光孵育 1 h,TBST 洗涤后曝光,放射自显影后凝胶成像仪内扫描,图像分析软件(Quantity One 4.1)进行分析,以 PPAR-γ 的吸光度比值进行相对定量。

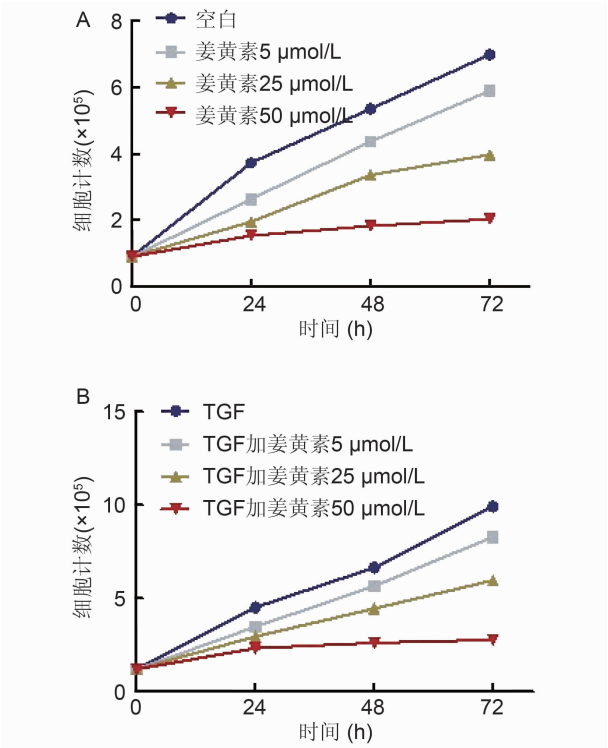
4.5 胶原蛋白-1 的检测 分组及干预方法同 4.4,细胞培养 24 h 后收集培养基,离心提取上清后作为待测样品。采用 ELISA 法检测。按说明书将标准品进行稀释,分别设空白孔、标准孔、待测样品孔。在酶标包被板上标准品加样 50 μL,待测样品孔先加样品稀释液 40 μL,然后再加待测样品 10 μL,用封板膜封板后置 37 ℃ 温育 30 min。洗涤、拍干重复 5 次后每孔加入酶标试剂 50 μL(空白孔除外),用封板膜封板后置 37 ℃ 温育 30 min。洗涤、拍干重复 5 次后每孔先加入显色剂 A 50 μL,再加入显色剂 B 50 μL,轻轻震荡混匀,37 ℃ 避光显色 10 min,每孔加终止液 50 μL 终止反应,以空白孔调零,450 nm 波长依序测量各孔的吸光度(OD 值)。

4.6 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计学软件分析数据。所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数的比较采用单因素方差分析,组间两两比较先用单因素方差分析显示组间均数差别有统计学意义,然后再用组间 *t* 检验比较,方差具有齐性时用 *SNK* 及 *LSD* 检验,方差不齐用 *Tamhane's t* 检验进行各组间比较。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组细胞生长计数曲线比较(图 1) 与空白组比较,姜黄素组 50 μmol/L 时在 48、72 h 时对细胞增殖抑制最明显(图 1A)。与 TGF-β₂ 组比较,TGF-β₂ 加姜黄素 50 μmol/L 组同样在 48、72 h 时对细胞增殖抑制最明显(图 1B)。此外,可以看出在姜黄素组 50 μmol/L、TGF-β₂ 加姜黄素组 50 μmol/L 作用 72 h 时细胞已无明显增殖。

2 PPAR-γ、PDGF-β 及 FGFR1 mRNA 表达水平比较(表 2、图 2) 与空白组比较, TGF-β₂ 组 PPAR-γ、PDGF-β mRNA 表达水平明显升高(*P* < 0.05),FGFR1 mRNA 表达升高,但差异无统计学意义(*P* > 0.05)。与 TGF-β₂ 组比较,TGF-β₂ 加姜黄素组 25、50 μmol/L 时 PPAR-γ mRNA 表达水平明显升



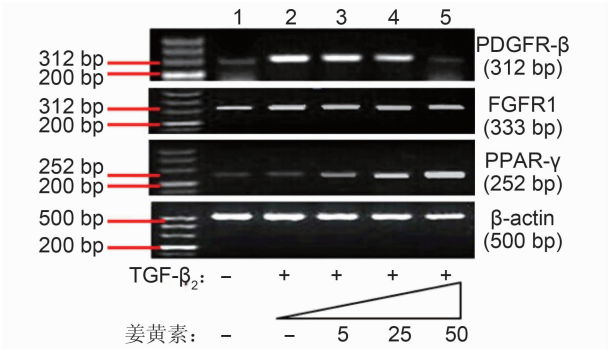
注:A 为空白对照组及姜黄素组细胞生长计数曲线;B 为 TGF-β₂ 组及 TGF-β₂ 加姜黄素组细胞生长计数曲线

图 1 各组细胞生长计数曲线

高,且高于 TGF-β₂ 加姜黄素组 5 μmol/L 时($P < 0.05$);与 TGF-β₂ 加姜黄素组 25 μmol/L 时比较,TGF-β₂ 加姜黄素组 50 μmol/L 时 PPAR-γ mRNA 表达水平亦升高($P < 0.05$)。TGF-β₂ 加姜黄素组各浓度 PDGF-β mRNA 表达低于 TGF-β₂ 组($P < 0.05$),且 TGF-β₂ 加姜黄素组 50 μmol/L 时 PDGF-β mRNA 表达低于 TGF-β₂ 加姜黄素组 5.25 μmol/L 时($P < 0.05$)。TGF-β₂ 组及 TGF-β₂ 加姜黄素组各浓度 FGFR1 mRNA 表达水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

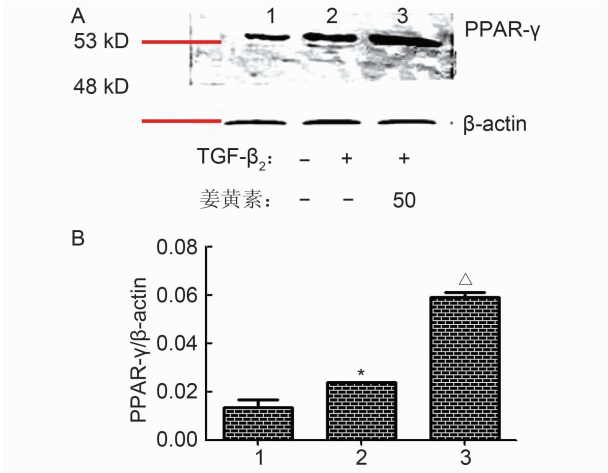
3 各组 PPAR-γ 蛋白表达水平结果比较(图 3)

与空白组比较,TGF-β₂ 组 PPAR-γ 蛋白表达水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 TGF-β₂ 组比较,TGF-β₂ 加姜黄素 50 μmol/L 组 PPAR-γ 蛋白表达水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



注:1 为空白组;2 为 TGF-β₂ 组;3 为 TGF-β₂ 加姜黄素 5 μmol/L 组;4 为 TGF-β₂ 加姜黄素 25 μmol/L 组;5 为 TGF-β₂ 加姜黄素 50 μmol/L 组

图 2 PPAR-γmRNA/PDGF-βmRNA/FGFR1 mRNA 在姜黄素不同浓度刺激下表达



注:1 为空白组;2 为 TGF-β₂ 组;3 为 TGF-β₂ 加姜黄素 50 μmol/L 组;A 为各组 PPAR-γ 蛋白电泳图;B 为各组 PPAR-γ 蛋白表达比较;与空白组比较,* $P < 0.05$;与 TGF-β₂ 组比较, $\Delta P < 0.05$

图 3 各组在姜黄素刺激下 PPAR-γ 蛋白表达

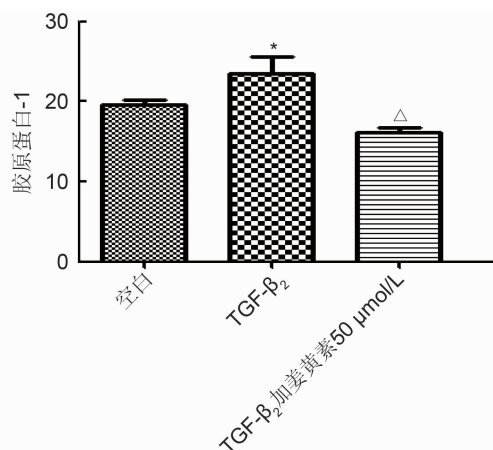
4 各组胶原蛋白-1 表达水平结果比较(图 4)

与空白组比较,TGF-β₂ 组胶原蛋白-1 表达增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 TGF-β₂ 组比较,TGF-β₂ 加姜黄素 50 μmol/L 组胶原蛋白-1 表达明显降低,差异亦有统计学意义($P < 0.01$)。

表 2 各组 PPAR-γ、PDGFR-β、FGFR1 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PPAR-γ	PDGF-β	FGFR1
空白	4	0.46 ± 0.01	0.56 ± 0.01	0.56 ± 0.01
TGF-β ₂	4	0.51 ± 0.01 *	0.84 ± 0.02 *	0.67 ± 0.02
TGF-β ₂ 加姜黄素 5 μmol/L	4	0.56 ± 0.02	0.72 ± 0.02 Δ	0.65 ± 0.01
TGF-β ₂ 加姜黄素 25 μmol/L	4	0.71 ± 0.02 Δ $\blacktriangle$	0.68 ± 0.01 Δ	0.67 ± 0.02
TGF-β ₂ 加姜黄素 50 μmol/L	4	1.04 ± 0.04 Δ $\blacktriangle$ $\circ$	0.46 ± 0.03 Δ $\blacktriangle$ $\circ$	0.66 ± 0.00

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与 TGF-β₂ 组比较, $\Delta P < 0.05$;与 TGF-β₂ 加姜黄素组 5 μmol/L 比较, $\blacktriangle P < 0.05$;与 TGF-β₂ 加姜黄素组 25 μmol/L 比较, $\circ P < 0.05$



注:与空白组比较, * $P < 0.05$;与 TGF-β₂ 组比较,

$\Delta P < 0.01$

图4 各组胶原蛋白-1 表达水平比较

讨 论

IPF 为现代医学病名,在中医古文献中无此病名记载。但根据其临床表现,现多将其归属为“咳嗽”、“肺胀”、“喘证”、“肺痿”、“肺痹”等范畴。本病发病原因种类繁多,病理演变错综复杂,病理性质虚实并见。该病的病位:在肺与脾肾关系的密切。该病病机属本虚标实,肺肾气阴两虚为本虚,外邪、痰浊、瘀血为标实,两者互相影响,互为因果,上盛(痰瘀阻肺)下虚(肾精肾气虚损)为多见。作为肺系疾病之一进行分型,证型分为燥热伤肺证、痰浊阻肺证、气滞血瘀证、肺阴亏损证、肺气虚寒证、肺肾两虚、阴阳俱损证 6 型。目前,现代医学对肺纤维化尚无有效治疗措施,从近些年中医药治疗肺纤维化的研究文献中可以看到,应用中医药治疗 IPF,可以减轻咳嗽、咳痰、呼吸困难等症状;增加动脉血氧分压、缩短病程、改善生活质量等^[14]。但总体而言,本病研究尚处于起步阶段。因此利用中医学寻求有效地治疗方法对 IPF 诊治具有深远的意义。

姜黄素是从姜科、天南星科中的一些植物的根茎中提取的一种化学成分,其中,姜黄约含 3% ~ 6%,是植物界很稀少的具有二酮的色素,也是中药姜黄发挥药理作用的主要成分。姜黄素能够在分子水平诱导细胞凋亡,同时也影响细胞生长、增殖、胶原沉积和凋亡周期进程^[13,15,16]。高蔚等^[17]研究表明姜黄素可诱导肺纤维化大鼠肺成纤维细胞的细胞凋亡,其机制可能与激活 Caspase-3、Caspase-8 和 Caspase-9 蛋白有关。姜黄素除了促进肺成纤维细胞的凋亡,还对人肺成纤维细胞的增殖具有抑制作用。郝小惠等^[18]研究表明姜黄

素可以使细胞周期产生 G₂/M 期阻滞和 S 期细胞的减少,从而抑制成纤维细胞的增殖。Smith MR 等^[13]研究表明姜黄素可通过抑制 TGF-β/Smad 信号通路抑制成纤维细胞向肌纤维母细胞分化,从而抑制肺纤维化发生和发展。Hu Y 等^[19]研究表明姜黄素作为一种激活蛋白-1 抑制剂,可以下调 TGF-β 1 诱导的激活蛋白-1 介导的肺成纤维细胞 α-SMA 表达,从而阻止成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化,抑制肺纤维化的发生和发展。此外,姜黄素还是一类很好的抗氧化物质,在体内外可以直接清除自由基。周刚等^[20]研究发现姜黄素可以提高大鼠体内的谷胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶水平,降低诱导型一氧化氮合酶水平,减少脂质过氧化的产物丙二醛的生成,进而减轻自由基对肺组织结构的氧化损伤,对肺纤维具有很好的防止作用。Lee JC 等^[21]研究发现姜黄素可以增加肺的抗氧化防御系统,改善辐射引起的肺纤维化。另外,Avasara S 等^[22]研究还发现姜黄素在病毒引起的急性呼吸窘迫综合征小鼠模型中也可以抑制肺纤维化形成。

姜黄素是一种天然药物,具有广泛的药理活性,多项研究证明姜黄素可以通过抗氧化、减少胶原沉积、抑制成纤维细胞向肌纤维母细胞分化、诱导细胞凋亡等防止和治疗肺纤维化,虽然研究取得了一系列的进展,但是这些研究仍比较局限,甚至还有许多原因未明。本研究发现 TGF-β 诱导 C57BL/6 小鼠肺成纤维细胞转化过程中发现,姜黄素不仅可以刺激 PPAR-γ 表达增加,还可以使 PDGF-β 表达下调。Kulkarni AA 等^[7]学者证实 PPAR-γ 表达增加不仅会抑制细胞增殖及活力,还可以使胶原蛋白-1 及 α-SMA 表达减少,从而导致肺纤维化形成受阻,其主要是通过抑制 FAK 下游的 PI3K/AKT 信号通路转导来阻止肺纤维化发生。此外,Lin J 等^[15]学者证实 PPAR-γ 促使 PDGF-β 表达下调后可进一步导致细胞周期阻滞及凋亡增加、细胞增殖及活力受到抑制,同样可以阻碍肺纤维化形成。结合本实验结果,笔者推测在 TGF-β 诱导 C57BL/6 小鼠肺成纤维细胞转化过程中,姜黄素刺激 PPAR-γ 表达增加后促使 PDGF-β 表达下调,从而导致 PDGF-β 下游的 PI3K/AKT、ERK 及 JNK 信号通路转导受抑制,肺成纤维细胞增殖和活力受抑制,胶原蛋白-1 合成减少,肺纤维化形成受影响。但是,为验证这一机制是否合理,还需要利用姜黄素通过动物实验进一步验证。

综上所述,姜黄素有抗肺纤维化的作用,刺激 PPAR-γ 表达增加从而抑制 PDGF-β 下游信号通路的转导可能是阻止肺纤维化发生发展的关键。

参 考 文 献

- [1] Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(6): 788–824.
- [2] Sakai N, Tager AM. Fibrosis of two: epithelial cell-fibroblast interactions in pulmonary fibrosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(7): 911–921.
- [3] Nathan SD, Shlobin OA, Weir N, et al. Long-term course and prognosis of idiopathic pulmonary fibrosis in the New Millennium [J]. *Chest*, 2011, 140(1): 221–229.
- [4] Raghu G, Anstrom KJ, King Jr TE, et al. Prednisone, azathioprine, and N-acetylcysteine for pulmonary fibrosis [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(21): 1968–1977.
- [5] Olson AL, Swigris JJ. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and epidemiology [J]. *Clin Chest Med*, 2012, 33(1): 41–50.
- [6] Vancheri C, du Bois RM. A progression-free endpoint for idiopathic pulmonary fibrosis trials: lessons from cancer [J]. *Eur Respir J*, 2013, 41(2): 262–269.
- [7] Kulkarni AA, Thatcher TH, Olsen KC, et al. PPAR- γ ligands repress TGF β -induced myofibroblast differentiation by targeting the PI3K/Akt pathway: implications for therapy of fibrosis [J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e15909.
- [8] Seo BR, Min K, Cho IJ, et al. Curcumin significantly enhances dual PI3K/Akt and mTOR inhibitor NVP-BEZ235-induced apoptosis in human renal carcinoma Caki cells through down-regulation of p53-dependent Bcl-2 expression and inhibition of Mcl-1 protein stability [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95588.
- [9] Nakagawa K, Zingg JM, Kim SH, et al. Differential cellular uptake and metabolism of curcuminoids in monocytes/macrophages: regulatory effects on lipid accumulation [J]. *Br J Nutr*, 2014, 112(1): 1–7.
- [10] Zhang Y, Zhao C, He W, et al. Discovery and evaluation of asymmetrical monocarbonyl analogs of curcumin as anti-inflammatory agents [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 8: 373–382.
- [11] Hwang BM, Noh EM, Kim JS, et al. Curcumin inhibits UVB-induced matrix metalloproteinase-13 expression by suppressing the MAPK-p38/JNK pathways in human dermal fibroblasts [J]. *Exp Dermatol*, 2013, 22(5): 371–374.
- [12] Prasad S, Tyagi AK, Aggarwal BB. Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin: the Golden Pigment from Golden Spice [J]. *Cancer Res Treat*, 2014, 46(1): 2–18.
- [13] Smith MR, Gangireddy SR, Narala VR, et al. Curcumin inhibits fibrosis-related effects in IPF fibroblasts and in mice following bleomycin-induced lung injury [J]. *Am J Physiol Cell Mol Physiol*, 2010, 298(5): L616–625.
- [14] 王海峰, 李建生. 特发性肺纤维化中医临床研究若干问题的思考 [J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(6): 1356–1358.
- [15] Lin J, Chen A. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ by curcumin blocks the signaling pathways for PDGF and EGF in hepatic stellate cells [J]. *Lab Invest*, 2008, 88(5): 529–540.
- [16] Wu SH, Hang LJ, Chen HY, et al. Curcumin induces apoptosis in human non-small cell lung cancer NCI-H460 cells through ER stress and caspase cascade and mitochondria-dependent pathways [J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(6): 2125–2133.
- [17] 高蔚, 张德平, 陈碧. 姜黄素对肺纤维化大鼠肺成纤维细胞凋亡的诱导作用 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2009, 32(1): 37–41.
- [18] 郝小惠, 郭志义, 张银红. 姜黄素对人肺成纤维细胞凋亡及细胞周期的影响 [J]. *中国工业医学杂志*, 2011, 6(24): 411–413.
- [19] Hu Y, Peng J, Feng D, et al. Role of extracellular signal-regulated kinase, p38 kinase, and activator protein-1 in transforming growth factor- β_1 -induced α smooth muscle actin expression in human fetal lung fibroblasts *in vitro* [J]. *Lung*, 2006, 184(1): 33–42.
- [20] 周刚, 牛建昭, 王继峰, 等. 姜黄素抗肺纤维化大鼠自由基损伤作用的实验研究 [J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(8): 669–672.
- [21] Lee JC, Kinniry PA, Evguenia A, et al. Dietary curcumin increases antioxidant defenses in lung, ameliorates radiation-induced pulmonary fibrosis, and improves survival in mice [J]. *Radiat Res*, 2010, 173(5): 590–601.
- [22] Avasarala S, Zhang F, Liu G, et al. Curcumin modulates the inflammatory response and inhibits subsequent fibrosis in a mouse model of viral-induced acute respiratory distress syndrome [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): 396.
- [23] Lin J, Chen A. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ by curcumin blocks the signaling pathways for PDGF and EGF in hepatic stellate cells [J]. *Lab Invest*, 2008, 88(5): 529–540.

(收稿:2014-11-02 修回:2015-07-10)