

· 基础研究 ·

姜黄素对 Nrf2 基因干扰下 PC12 细胞抗 A β 氧化损伤的影响

周颖 陈娟 舒孔亮 李维 陆微微

摘要 **目的** 探讨核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 通路在姜黄素对阿尔茨海默病模型细胞氧化损伤保护中的作用。**方法** 将 Nrf2 小干扰 RNA (siRNA) 转染入 PC12 细胞, 并 A β_{1-42} 处理干预, 分为 5 组: 正常对照组、模型组、模型 + 姜黄素组、siNrf2 模型组和 siNrf2 模型 + 姜黄素组。透射电镜观察各组细胞线粒体形态结构, 采用细胞增殖毒性检测法 (CCK-8) 检测细胞存活率, 利用细胞凋亡试剂盒和活性氧试剂盒流式测定细胞凋亡率和活性氧 (ROS) 水平, Western Blot 法检测细胞中 Nrf2、血红素氧合酶 1 (HO1) 和 NAD (P) H: 醌氧化还原酶 1 (NQO1) 表达。**结果** 透射电镜下正常对照组细胞线粒体丰富, 结构完整, 线粒体嵴排列整齐, 双层膜完整。与正常对照组比较, 模型组和 siNrf2 模型组线粒体肿胀和空泡化明显, 线粒体结构破坏, 变形、消失。模型 + 姜黄素组和 siNrf2 模型 + 姜黄素组两组细胞较模型组两组细胞的线粒体稍丰富, 部分线粒体空泡化, 结构较完整。与正常对照组比较, 模型组和 siNrf2 模型组细胞存活率降低, 细胞凋亡率和 ROS 水平升高 ($P < 0.05$), 模型组和 siNrf2 模型组 Nrf2 和 HO1 表达均降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 模型 + 姜黄素组和 siNrf2 模型 + 姜黄素组细胞存活率升高 ($P < 0.05$) 以及细胞凋亡率和 ROS 水平降低 ($P < 0.05$), 模型 + 姜黄素组 Nrf2 表达升高 ($P < 0.01$), 模型 + 姜黄素组和 siNrf2 模型 + 姜黄素组 HO1 和 NQO1 表达升高 ($P < 0.05$); 与 siNrf2 模型组比较, siNrf2 模型 + 姜黄素组细胞存活率升高 ($P < 0.05$), 细胞凋亡率和 ROS 水平均降低 ($P < 0.05$), siNrf2 模型 + 姜黄素组 Nrf2、HO1 和 NQO1 表达升高 ($P < 0.05$)。**结论** Nrf2 基因干扰后的细胞对 A β_{1-42} 氧化损伤的抗氧化能力显著降低, 进一步加速细胞凋亡和坏死。姜黄素可能通过增加 Nrf2 表达, 上调抗氧化蛋白 HO1 和 NQO1 的表达, 维持细胞线粒体结构完整性, 加强细胞线粒体抗氧化能力, 从而抑制 A β_{1-42} 对细胞的损伤。

关键词 阿尔茨海默病; 基因干扰; 活性氧; 线粒体; 核因子 E2 相关因子 2; 姜黄素

Effect of Curcumin on Antioxidant Damage of PC12 Cells Interfered with Nrf2 Gene ZHOU Ying, CHEN Juan, SHU Kong-liang, LI Wei, and LU Wei-wei *Department of Neurology, The First Hospital of Changsha, Changsha (410005)*

ABSTRACT Objective To investigate the protective effect of curcumin on oxidative damage in Alzheimer's disease (AD) model cell in Nrf2 pathway. **Methods** Nrf2 gene specific small interfering RNA (siRNA) was transfected into PC12 cells. PC 12 cells were cultured with A β_{1-42} , which were divided into five groups: normal control group, model group, model+curcumin group, siRNA Nrf2 transfection group, siRNA Nrf2 transfection+curcumin group. The morphology of mitochondria was observed by transmission electron microscope (TEM). Cell viability was assayed by CCK8. Cell apoptosis and ROS level were measured by flow cytometry. The expression levels of Nrf2, HO1, and NQO1 were measured by Western Blot. **Results** Under the TEM, the mitochondria of the normal control group cells were abundant, the structure was intact, the mitochondrial cristae were arranged regularly, and the bilayer membrane was intact. Compared with the normal group, the swelling

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目 (No. 2018JJ6082)

作者单位: 长沙市第一医院神经内科 (长沙 410005)

通讯作者: 周颖, Tel: 0731-84667659, E-mail: 1007866422@qq.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20210205.168

and vacuolization of mitochondria were obvious, the structure of mitochondria was destroyed and the deformation disappeared in the model group and siRNA Nrf2 transfection group. The mitochondria of cells were slightly rich, and some of the mitochondria were empty and the structure was relatively complete in model+curcumin group and siRNA Nrf2 transfection group+curcumin group. Compared with the normal control group, the cell viability level decreased, cell apoptosis rate and ROS levels increased in the model group and siRNA Nrf2 transfection group ($P<0.05$). The expression levels of Nrf2 and HO1 decreased in the model group and siRNA Nrf2 transfection group ($P<0.001$). Compared with the model group, the cell viability level increased, and the cell apoptosis and ROS levels decreased in model +curcumin group and siRNA Nrf2 transfection +curcumin group ($P<0.05$). Nrf2 expression increased in model group+curcumin and siRNA Nrf2 transfection group+curcumin group ($P<0.001$). The expression levels of HO1 and NQO1 increased in model+curcumin group and siRNA Nrf2 transfection+curcumin group ($P<0.05$). Compared with siRNA Nrf2 transfection group, the cell viability level increased, the cell apoptosis rate and ROS levels decreased ($P<0.05$), the expression levels of Nrf2, HO1, and NQO1 increased in siRNA Nrf2 transfection +curcumin group in siRNA Nrf2 transfection+curcumin group ($P<0.05$). **Conclusions** The antioxidative ability against oxidative damage of $A\beta_{1-42}$ interfered by Nrf2 significantly decreased, further accelerating apoptosis and necrosis. Curcumin inhibited cell injury induced by $A\beta_{1-42}$ possibly by increasing the expression of Nrf2, up-regulating the expression levels of HO1 and NQO1, maintaining the structural integrity of the cell mitochondria, and strengthening the antioxidant capacity of the cell mitochondria.

KEYWORDS Alzheimer's disease; gene interference; reactive oxygen species; mitochondria; Nrf2; curcumin

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以 β 淀粉样蛋白沉积和神经元纤维缠结形成为主要病理特点神经变性疾病。其发病机制复杂而不十分清楚, 目前仍广泛应用“ $A\beta$ 级联假说”进行诊断和药物开发研究。近年来, 线粒体氧化应激损伤在 AD 发病机制中的作用受到研究者的关注^[1,2]。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor-E₂ related factor 2, Nrf2) 是细胞内抗氧化应激反应的关键因子^[3,4]。姜黄素是姜黄中提取的一种植物多酚, 也是姜黄发挥药理作用最重要的活性成分, 姜黄素具有抗炎、抗氧化、清除氧自由基的药理作用^[5]。PC12 细胞属神经嵴源细胞, 经诱导后可转化为具有神经元特性的神经细胞, 常用于神经系统疾病的体外研究^[6]。因此本研究以 $A\beta_{1-42}$ 诱导的 PC12 细胞为 AD 模型, 采用 RNA 干扰细胞中的 Nrf2 基因表达, 研究 Nrf2 基因干扰后的 PC12 细胞损伤情况以及姜黄素对其的影响。

材料与方法

- 1 细胞 PC12 细胞 (北纳生物, BNCC337644)。
- 2 药物 姜黄素 (Sigma, 批号: C7727), 称取姜黄素粉末 27.97 mg, 加入 3.8 mL 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 溶解成终浓度为 20 $\mu\text{mol/mL}$ 。
- 3 试剂 $A\beta_{1-42}$ (Aladdin, 11721038, 将 20 mg $A\beta_{1-42}$ 中加入 880 μL DMSO 溶解至 5 $\mu\text{mol/mL}$ 的

母液), Annexin V-FITC/PI Apoptosis Kit (联科生物, AP101-100-kit, MULTI SCIENCES), 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 试剂盒 (凯基生物, KGT010-1 100 assays), 超纯 RNA 提取试剂盒 (康为世纪 CWBIO), Mouse Monoclonal Anti-GAPDH (中杉金桥, TA-08, 1/2 000), Rabbit Anti Nrf2 (Abcam, ab137550, 1/1 000), Rabbit Anti HO-1 (Affinity, AF5393, 1/1 000), Rabbit Anti Keap1 (Affinity, DF6637, 1/1 000), Mouse Anti NQO1 (Abcam, ab28947, 1/1 000)。

4 仪器 CO_2 培养箱 (上海一恒科学仪器有限公司, BPN-80CW), 多功能酶标仪 (TECAN, 02L3006), 倒置荧光显微镜 (广州市明美光电有限公司, MF53), NovoCyte 流式细胞仪 (艾森生物杭州有限公司, NovoCyte 2060R), 荧光 PCR 仪 (伯乐生命医学产品上海有限公司, CFX Connect)。

5 细胞模型制备与分组 参照参考文献^[7]制备 AD 细胞模型, PC12 细胞进行传代、铺孔、转染 siRNA Nrf2, 然后加入稀释后的 $A\beta_{1-42}$ (70 $\mu\text{mol/mL}$) 处理 48 h, 再加入稀释后的姜黄素 (10 $\mu\text{mol/mL}$) 继续处理 48 h 后进行细胞存活率检测。分为 5 组: 正常对照组、模型组 ($A\beta_{1-42}$ 处理)、模型+姜黄素组、siNrf2 模型组和 siNrf2 模型 (siRNA+ $A\beta_{1-42}$ 处理)+姜黄素组。

6 细胞增殖毒性检测法 (CCK-8) 检测细胞存

活率 将待测的 96 孔板细胞换成相同的培养基, 每孔 100 μL; 每孔加入 10 μL CCK8 试剂, 置于培养箱中孵育 1.5 h; 酶标仪在 450 nm 波长处检测每孔的吸光值。

7 细胞凋亡和 ROS 测定 按照细胞凋亡试剂盒说明书进行流式分析检测细胞凋亡。按照活性氧试剂盒说明书进行 ROS 流式分析。

8 透射电镜观察线粒体形态 细胞经 3% 戊二醛预固定, 1% 四氧化锇再固定, 逐级脱水, 渗透与包埋, 然后采用超薄切片机制备约 50 nm 厚的超薄切片, 切片双染色后透射电镜观察。

9 Western Blot 检测 Nrf2、血红素氧合酶 1 (heme oxygenase, HO1)、NAD (P) H: 醌氧化还原酶 1 [NAD (P) H: quinone oxidoreductase 1, NQO1] 表达 收集各实验组细胞, 加入 200 μL 的细胞裂解液, 冰上裂解 30 min, 提取各组细胞总蛋白。BAC 法测定蛋白质浓度。取等量总蛋白加入缓冲液煮沸 5 min, 上样。蛋白样品进行 10% 的 SDS-PAGE 胶电泳 2 h 分离蛋白, 电泳恒电压为 80 V。SDS-PAGE 蛋白胶湿转至 PVDF 膜; 1×TBST 配置 3% 的脱脂牛奶封闭液封闭 1 h, 加入一抗 (1:1 000), 室温下孵育 1 h, 4 ℃ 过夜; 洗膜后, 分别加入二抗 (1:2 000), 室温下孵育 1 h; 洗膜后加入 ECL 发光液显色, 放置于超高灵敏度化学发光成像系统运行程序显影成像, 分析条带的灰度值。

10 统计学方法 采用 SPSS 17.0 进行统计分析。计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 组间两两比较, 采用 LSD 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组 PC12 细胞存活率及凋亡率比较 (表 1) 与正常对照组比较, 模型组和 siNrf2 模型组细胞存活率均降低 (P<0.05); 与 siNrf2 模型组比较, 模型组、模型 + 姜黄素组及 siNrf2 模型 + 姜黄素组细胞存活率升高 (P<0.05)。与正常组比较, 模型组和 siNrf2 模型组细胞凋亡率均升高 (P<0.05); 与 siNrf2 模型组比较, 模型组和 siNrf2 模型 + 姜黄素组细胞凋亡率均降低 (P<0.05); 模型 + 姜黄素组与 siNrf2 模型组凋亡率比较差异无统计学意义 (P>0.05)。

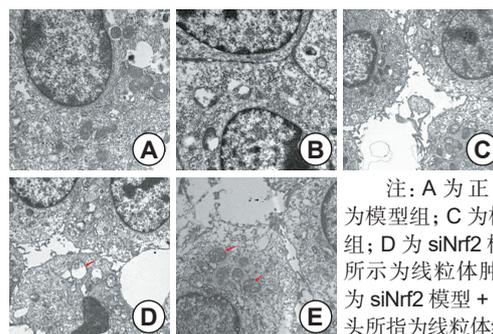
2 各组 PC12 细胞线粒体形态 (图 1) 透射电镜下正常对照组细胞线粒体丰富, 结构完整, 线粒体嵴排列整齐, 双层膜完整。与正常对照组比较, 模型组和 siNrf2 模型组线粒体肿胀和空泡化明显, 线粒体

结构破坏, 变形、消失。模型 + 姜黄素组和 siNrf2 模型 + 姜黄素组两组细胞较模型组两组细胞的线粒体稍丰富, 部分线粒体空泡化, 结构较完整。

表 1 各组 PC12 细胞存活率及凋亡率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	细胞存活率	凋亡率
正常对照	5	100.00 ± 2.67	4.92 ± 0.24
模型	5	79.49 ± 3.38* [△]	18.56 ± 0.25* [△]
模型 + 姜黄素	5	90.36 ± 5.15 [△]	13.89 ± 0.31
siNrf2 模型	5	69.93 ± 3.16*	21.12 ± 0.13*
siNrf2 模型 + 姜黄素	5	87.15 ± 5.38 [△]	13.59 ± 0.48 [△]

注: 与正常对照组比较, *P<0.05; 与 siNrf2 模型组比较, [△]P<0.05



注: A 为正常对照组; B 为模型组; C 为模型 + 姜黄素组; D 为 siNrf2 模型组, 箭头所示为线粒体肿胀空泡化; E 为 siNrf2 模型 + 姜黄素组, 箭头所指为线粒体结构较完整

图 1 各组 PC12 细胞线粒体形态 (透射电镜, x 10 000)

3 各组 PC12 细胞 ROS 水平比较 (图 2) 5 组之间两两比较, 差异均有统计学意义 (P<0.01)。其中 siNrf2 模型组 ROS 水平高于模型组 (P<0.01), 两姜黄素干预组 ROS 水平均低于模型组和 siNrf2 组 (P<0.01)。

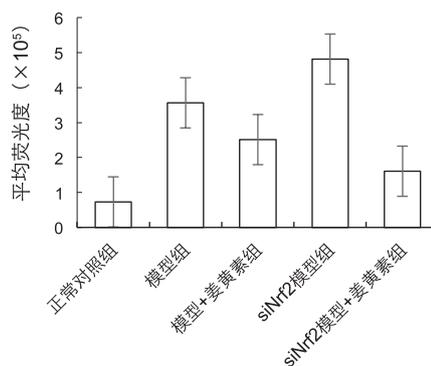


图 2 各组 PC12 细胞 ROS 水平比较

4 各组 PC12 细胞中 Nrf2、HO-1 及 NQO-1 表达比较 (表 2, 图 3) 与正常对照组比较, 模型组和 siNrf2 模型组 Nrf2 表达均降低 (P<0.01); 与模型组比较, 模型 + 姜黄素组 Nrf2 表达升高 (P<0.01), siNrf2 模型 + 姜黄素组 Nrf2 表达与模型组比较差异无统计学意义 (P>0.05); 与 siNrf2 模型组比较, siNrf2 模型 + 姜黄素组 Nrf2 表达升高 (P<0.05)。

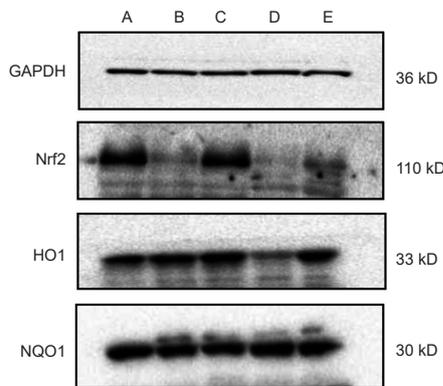
与正常对照组比较, 模型组和 siNrf2 模型组 HO1 表达均降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 模型 + 姜黄素组和 siNrf2 模型 + 姜黄素组中 HO1 表达均升高 ($P<0.05$), siNrf2 模型组 HO1 表达降低 ($P<0.01$); 与 siNrf2 模型组比较, siNrf2 模型 + 姜黄素组 HO1 表达升高 ($P<0.05$)。

与正常对照组比较, 模型组和 siNrf2 模型组 NQO1 表达差异无统计学意义 ($P>0.05$); 与模型组比较, 模型组 + 姜黄素干预组和 siNrf2 模型组 + 姜黄素组 NQO1 表达均升高 ($P<0.01$); 与 siNrf2 模型组比较, siNrf2 模型 + 姜黄素组 NQO1 表达升高 ($P<0.05$)。

表 2 各组 PC 细胞中 Nrf2、HO1 及 NQO1 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Nrf2	HO1	NQO1
正常对照	5	1.59 ± 0.08	1.25 ± 0.05	0.63 ± 0.04
模型	5	0.13 ± 0.00*	1.08 ± 0.04*	0.57 ± 0.01
模型 + 姜黄素	5	1.06 ± 0.03 [△]	1.23 ± 0.06 [△]	1.27 ± 0.08 [△]
siNrf2 模型	5	0.09 ± 0.00*	0.16 ± 0.01*	0.54 ± 0.01
siNrf2 模型 + 姜黄素	5	0.20 ± 0.00 [▲]	1.39 ± 0.02 [▲]	1.28 ± 0.08 [▲]

注: 与正常对照组比较, * $P<0.01$; 与模型组比较, [△] $P<0.01$; 与 siNrf2 模型组比较, [▲] $P<0.05$



注: A 为正常对照组; B 为模型组; C 为模型 + 姜黄素组; D 为 siNrf2 模型组; E 为 siNrf2 模型 + 姜黄素组

图 3 各组细胞中 Nrf2、HO1 和 NQO1 表达电泳图

讨论

AD 的发病机制十分复杂, 其中 β 淀粉样蛋白瀑布假说认为 $A\beta$ 的生成与清除失衡是导致神经元变性和痴呆发生的起始事件。研究发现, 在 AD 患者神经元线粒体内存在着大量 $A\beta$, $A\beta$ 会与线粒体内 ABAD、CypD 等多靶点结合, 引起线粒体氧化损伤^[8]。线粒体是细胞能量的加工厂, 是体内氧代谢

和 ROS 产生的主要场所。由于脑组织耗氧量大, 神经元几乎无能量储备, 主要依靠线粒体内氧化磷酸化产生的 ATP, 来维持神经元正常生理功能。所以, 线粒体功能缺陷和氧化应激的增加会促进 AD 的病理生理变化。Nrf2 是调控细胞氧化应激反应的重要转录因子, 其主要通过被活化诱导后调控一系列抗氧化蛋白 (HO1、NQO1、谷胱甘肽等) 的表达, 来减轻活性氧和亲电体引起的细胞损伤, 改善机体氧化应激状态, 使细胞处于稳定状态, 有利于促进细胞存活以及维持细胞的氧化还原稳态^[9,10]。

本研究发现, siNrf2 模型组的细胞存活率显著下降 ($P<0.05$), 其细胞凋亡率和 ROS 水平也显著增高 ($P<0.01$)。siNrf2 模型组线粒体结构破坏较其他组明显, siNrf2 模型组 Nrf2 表达量及 HO1 表达量低于正常对照组 ($P<0.01$)。提示 Nrf2 基因干扰后导致细胞内的 Nrf2 表达下降及其下游抗氧化蛋白水平降低, 从而发生氧化 / 抗氧化失衡, 导致大量 ROS 产生, 进而发生细胞凋亡现象增加, 细胞存活能力严重受损。有研究发现 Nrf2 缺失的 APP/PS1 小鼠细胞内的炎症反应增加, 细胞自噬功能失调, 促进细胞凋亡^[11]。另有学者用 $A\beta_{1-42}$ 诱导小鼠 AD 模型, 结果发现分离出的海马组织内 Nrf2、HO-1、谷胱甘肽表达均下降, 使海马神经元细胞增殖受到抑制^[12]。Nrf2 在保护细胞和线粒体免受 $A\beta$ 氧化损伤方面起着十分重要的作用。

基于姜黄素具有抗炎抗氧化作用, 本研究进一步用姜黄素进行干预, 结果发现模型 + 姜黄素组和 siNrf2 模型 + 姜黄素组线粒体稍丰富, 部分空泡化, 结构较完整; 两组细胞存活率均高于 siNrf2 模型组 ($P<0.05$); 两组细胞凋亡率和 ROS 水平均低于模型组 ($P<0.05$), 且 siNrf2 模型 + 姜黄素组细胞凋亡率和 ROS 水平均低于 siNrf2 模型组 ($P<0.05$)。模型 + 姜黄素组 Nrf2 表达高于模型组, siNrf2 模型 + 姜黄素组 Nrf2 表达高于 siNrf2 模型组 ($P<0.05$); 模型 + 姜黄素组和 siNrf2 模型 + 姜黄素组 HO1 和 NQO1 表达均高于模型组, siNrf2 模型 + 姜黄素组 HO1 和 NQO1 表达高于 siNrf2 模型组 ($P<0.05$)。提示姜黄素可能通过上调 Nrf2 表达及其下游抗氧化蛋白表达, 提高细胞抗氧化损伤能力, 抑制氧化应激损害, 降低细胞凋亡率和提高细胞存活率。HO-1 和 NQO1 是重要的抗氧化酶, 在清除 ROS 抵御氧自由基损伤和保护内源性抗氧化剂中起重要作用^[13,14]。有研究发现, 在人神经母细胞瘤细胞中, 姜黄素通过 Nrf2/HO-1 途径降低 H_2O_2 诱导的氧化应激, 并且通

过转录因子 EB 自噬 / 溶酶体途径诱导淀粉样蛋白降解^[15]。近年来有研究者使用一种新型的姜黄素 - 富马酸二乙酯杂化物通过抑制 GSK-3 β 和诱导 Nrf2 活化的双重作用来治疗帕金森病^[16]。因此, 本研究结果进一步奠定了 Nrf2 信号通路在 AD 发病中的重要作用以及姜黄素对其的影响, 为姜黄素的运用提供理论依据。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Tonnie E, Truchina E. Oxidative stress, synaptic dysfunction and Alzheimer's disease[J]. J Alzheimer's Dis, 2017, 57 (4): 1105-1121.
- [2] Tobore TO. On the central role of mitochondria dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease[J]. Neurol Sci, 2019, 40 (8): 1527-1540.
- [3] Ana IR, Marta P, Patricia R, et al. Nrf2 deficiency replicates transcriptomic changes in Alzheimer's patients and worsens APP and Tau pathology[J]. Redox Biol, 2017, 13: 444-451.
- [4] Tonelli C, Chil IIC, Tuveson DA. Transcriptional regulation by Nrf2[J]. Antioxid Redox Signal, 2018, 29 (17): 1727-1745.
- [5] Abrahams S, Haylett WL, Johnson G, et al. Antioxidant effects of curcumin in models of neurodegeneration, aging, oxidative and nitrosative stress: a review[J]. Neuroscience, 2019, 406: 1-21.
- [6] 商华, 任宪辉, 杨红欣, 等. 姜黄素对 A β 25-35 诱导的 PC12 细胞 Caspase-3、Caspase-8 和 Caspase-9 表达的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34 (1): 168-172, 182.
- [7] Zhu YX, Sun X, Gong T, et al. Antioxidant and antiapoptotic effects of 1,1-(biphenyl-4,4-diyl)-bis(3-(dimethylamino)-propan-1-one) on protecting PC12 cells from A β -induced injury[J]. Mol Pharm, 2014, 11 (2): 428-435.
- [8] Muirhead KEA, Borger E, Aitken L, et al. The consequences of mitochondrial amyloid beta-peptide in Alzheimer's disease[J]. Biochem J, 2010, 426 (3): 255-270.
- [9] Liu J, Jiang Y, Zhang G, et al. Protective effect of edaravone on blood-brain barrier by affecting NRF-2/HO-1 signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2019, 18 (4): 2437-2442.
- [10] Li X, Zhan J, Hou Y, et al. Coenzyme Q10 regulation of apoptosis and oxidative stress in H₂O₂ induced BMSC death by modulating the Nrf-2/NQO-1 signaling pathway and its application in a model of spinal cord injury[J]. Oxid Med Cell Longev, 2019: 6493081. doi: 10.1155/2019/6493081.
- [11] Gururaj J, Kok AG, Delinda A, et al. Increased AD-like pathology in the APP/PS1 Δ E9 mouse model lacking Nrf2 through modulation of autophagy[J]. Neurobiol Aging, 2015, 36 (2): 664-679.
- [12] Qiang D, Erwang S. microRNA-25 aggravates A β 1-42-induced hippocampal neuron injury in Alzheimer's disease by downregulating KLF2 via the Nrf2 signaling pathway in a mouse model[J]. J Cell Biochem, 2019, 120 (9): 15891-15905.
- [13] Jung KA, Kwak MK. The Nrf2 system as a potential target for the development of indirect antioxidants [J]. Molecules, 2010, 15 (10): 7266-7291.
- [14] Gonzalezburgos E, Carretero ME, Gomez-serranillos MP. Diterpenoids isolated from *Sideritis* species protect astrocytes against oxidative stress via Nrf2[J]. J Nat Prod, 2012, 75 (10): 1750-1758.
- [15] Song HC, Chen YB, Chen YQ, et al. GSK-3 β inhibition by curcumin mitigates amyloidogenesis via TFEB activation and anti-oxidative activity in human neuroblastoma cells[J]. Free Radic Res, 2020, 7 (28): 1-13.
- [16] Martino RMCD, Pruccoli L, Bisi A, et al. A novel curcumin-diethyl fumarate hybrid as dualistic GSK-3 β inhibitor/Nrf2 inducer for the treatment of Parkinson's disease[J]. ACS Chem Neurosci, 2020, 7 (14): doi: 10.1021/acschemneuro.0c00363.

(收稿: 2020-09-25 在线: 2021-06-22)

责任编辑: 李焕蒙
英文责编: 张晶晶