

【实验研究】

中药提取物姜黄素对人视网膜神经胶质瘤细胞的放射增敏作用

谢兵 李中文 周远忠

XIE Bing, LI Zhong-Wen, ZHOU Yuan-Zhong

on human retinal glioma WERI-Rb-1 cells. **Methods** Cell activity detection kit (CCK-8) was used to detect the cell viability induced by curcumin ($0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), irradiation (0 Gy , 1 Gy , 4 Gy , 8 Gy) and curcumin combined with irradiation, flow cytometry was used to test the cell cycle, and mitochondrial membrane potential and Hoechst33258 staining was used to detect the cell apoptosis induced by curcumin, irradiation and curcumin combined with irradiation. **Results** Curcumin ($0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and irradiation (0 Gy , 1 Gy , 4 Gy , 8 Gy) could decrease cell viability with dose and time dependence. Curcumin ($0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) combined with 2 Gy irradiation could more significant decrease cell viability than curcumin alone. In addition, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ curcumin combined with 2 Gy irradiation could arrest cell cycle at G2/M stage, the arrest rate was $(79.6 \pm 2.1)\%$, induce cell apoptosis and mitochondrial membrane potential decrease to $(48.3 \pm 4.3)\%$. **Conclusion** Curcumin combined with irradiation have significant radiosensitization effects on WERI-Rb-1 cells, and induce cell apoptosis and mitochondrial membrane potential decrease. These results may provide theoretical foundation for clinical application of curcumin.

【摘要】 目的 研究中药提取物姜黄素对人视网膜神经胶质瘤 WERI-Rb-1 细胞的放射增敏作用。方法 采用 X 射线辐照仪辐照人视网膜神经胶质瘤 WERI-Rb-1 细胞。CCK-8 细胞活性检测试剂盒检测 $0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素, 0 Gy 、 1 Gy 、 2 Gy 、 4 Gy 、 8 Gy 射线以及姜黄素联合射线作用细胞不同时间对细胞活性的影响;流式细胞仪检测单独姜黄素、射线、姜黄素联合射线引起的细胞周期阻滞以及线粒体膜电位的变化情况;Hochest33258 细胞核染色观察单独姜黄素的影响。结果 $0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素联合 2 Gy 射线随剂量和时间增加均能引起细胞活性的下降; 2 Gy 射线联合 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 相比单独的姜黄素联合 2 Gy 射线能够将细胞周期明显阻滞在 G2/M 期,阻滞率为 $(79.6 \pm 4.3) \%$ 。结论 姜黄素联合射线对人视网膜神经胶质瘤 WERI-Rb-1 细胞凋亡和线粒体膜电位下降,为姜黄素的临床应用提供一定理论依据。

姜黄素 (Curcumin) 是从姜科姜黄属植物的根中提取的一种多酚类化合物, 研究发现其药理作用广泛, 主要有抗炎、抗肿瘤等作用^[1]。有研究表明姜黄素对人类 Burkitt 淋巴瘤、乳腺癌等多种癌症具有潜在的治疗作用^[2-3]。有报道姜黄素除对多种肿瘤具有抑制作用外, 还能够提高多种肿瘤对放射治疗的敏感性^[4]。目前常用的放射增敏剂有 5-氟尿嘧啶和顺铂, 但是其在杀死肿瘤细胞的同时也对正常的组织细胞产生了毒副作用^[5-6]。李刚等^[7]报道, 姜黄素对人肾

癌 ACHN 细胞具有放射增敏作用,其作用机制可能与其抑制 ACHN 细胞 NF- κ B 表达、下调 Bcl-2/Bax 比例、抑制 DNA 损伤修复、改变 ACHN 细胞周期分布有关。

姜黄素能防止半乳糖、茶诱导的大鼠白内障形成。另外,姜黄素还可以降低牛眼晶状体上皮细胞(lens epithelial cells, LEC)增殖细胞核抗原表达,从而有效抑制 LEC 增殖,并且可通过细胞核及细胞质两种途径诱导 LEC 凋亡,有可能达到防治后发性白内障的目的^[8]。本研究利用姜黄素作为放射增敏药

物,研究姜黄素联合射线对人视网膜神经胶质瘤 WERI-Rb-1 细胞增殖的影响,初步探讨其作用机理。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 姜黄素 (CAS: 458-37-7, HPLC98%, 南京泽朗医药公司); CCK-8 细胞毒性检测试剂盒 (日本同仁化学试剂公司); 流式细胞仪细胞周期检测试剂盒 (威斯腾生物技术服务公司); Hoechst33258 染色试剂盒 (南京凯基生物科技发展有限公司)。人视网膜神经胶质瘤 WERI-Rb-1 细胞 (中国科学院上海细胞库)。流式细胞仪 (NovoCyte, ACEA, 美国北京遍吉科技有限公司); 共聚焦显微镜 (FV1200, Olympus, 新发现科技有限公司); 酶标仪 (Synergy H4, 美国伯腾仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将人视网膜神经胶质瘤 WERI-Rb-1 细胞接种在 RPMI-1640 (GIBCO, 美国) 培养基 (含体积分数 10% 胎牛血清和 $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 双抗—青霉素和链霉素) 中, 置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% CO_2 恒温培养箱中培养, 细胞生长良好, 呈单层贴壁生长。显微镜下观察细胞融合至整个培养皿的 80% ~ 90% 后, 倒出旧培养液, 用 PBS 洗两次, 每次 3 min; 加入含 EDTA 的 $2.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 胰蛋白酶, 置于培养箱中 1 ~ 2 min 后, 加入含血清的 RPMI-1640 培养液终止消化。然后反复吹打细胞悬液并传至培养瓶内, 于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% CO_2 培养箱中进行传代培养。

1.2.2 细胞照射 除空白对照组和单独姜黄素处理组外, 其他组的细胞在加药处理前采用 X 射线照射仪 (RS2000-PRO, Rad Source Technologies) 在室温下进行细胞辐照, 根据不同的辐照剂量, 照射不同时间^[9], 辐照源皮距为 100 cm, 照射野面积为 $15\text{ cm} \times 15\text{ cm}$, 剂量率为 $1.5\text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

1.2.3 细胞活性检测 CCK-8 试剂盒检测姜黄素对细胞活性的影响^[10]。取对数生长期细胞, $2.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 胰蛋白酶消化后, 用培养液重悬制成 $1 \times 10^5\text{ mL}^{-1}$ 的细胞悬浮液, 并接种于 96 孔板中, 每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$, 置于培养箱内 ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% CO_2) 培养。培养 24 h 后, 分别加入 $0\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $20\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $30\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素 (姜黄素组), 或者用 0 Gy 、 1 Gy 、 2 Gy 、 4 Gy 、 8 Gy 的射线照射 ($1.5\text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$, 射线组), 或者用 $0\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $20\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $30\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素分别加 2 Gy 射线 (射线 + 姜黄素组) 作用 24 h 和 48 h 后, 然后去掉旧培养液, 每孔加入体积分数 10% CCK-8 培养液, 继续培养 0.5 h, 于酶标仪上 450 nm 处测 OD 值, OD 值越高, 细胞活性越大。空白对照组不作任何处理。

1.2.4 流式细胞仪检测细胞周期 取对数生长期细胞, 经 $2.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 胰蛋白酶消化, 接种于 6 孔板中, 分为空白对照组、实验组 ($10\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素

组、 2 Gy 射线组、 2 Gy 射线 + $10\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素组, 射线照射 $1.5\text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$)。24 h 后, 收集细胞, 弃去培养液, PBS 洗 3 次, 每次 3 min, 加入冰预冷的体积分数 70% 乙醇 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 固定 1 h, 然后离心弃去固定液, PBS 重悬后用 200 目的筛网过滤后用碘化丙啶 (PI) 染色, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光 30 min, 最后置于流式细胞仪中检测细胞中 PI 的荧光^[11]。激发光波长为 488 nm, 检测细胞中 PI 的荧光。

1.2.5 细胞凋亡检测 取对数生长期细胞, 接种于直径为 20 mm 的共聚焦培养皿中, 分组同 1.2.4。24 h 后, 去掉旧培养液, PBS 洗 3 次, 每次 3 min; 然后加入 $10\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 Hoechst33258 染料与细胞共孵育 3 ~ 6 min; 然后用 PBS 洗 3 遍, 每次 1 min, 再加入适量 PBS。共聚焦显微镜下观察细胞中 Hoechst33258 的荧光^[11]。

1.2.6 细胞线粒体膜电位检测 分组同 1.2.4。24 h 后, 收集细胞, 并用 PBS 洗 3 次, 每次 1 min; 然后用 200 目筛子过滤后, 用 Rhodamine123 ($5\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 避光染色 30 min, 然后置于流式细胞仪中检测细胞中 Rhodamine123 的荧光, 通过探针荧光量来间接表示细胞线粒体膜电位的量^[12]。并统计分析细胞线粒体膜电位下降比率, 线粒体膜电位下降比率 (%) = (实验组线粒体膜电位 - 空白对照组线粒体膜电位) \div 空白对照组线粒体膜电位 $\times 100\%$ 。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计软件处理数据, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 整体比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞活性检测 姜黄素对细胞活性的影响如图 1, $0\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $20\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $30\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素处理细胞 24 和 48 h, 随着浓度和时间的增加, 细胞活性随之下降, 具有浓度和时间依赖性; 处理 24 h 时, 与空白对照组 ($0\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 相比, $> 1\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的细胞活性抑制率差异均具有统计学意义 (均为 $P < 0.05$); 处理 48 h 时, 与空白对照组相比, 细胞活性抑制率差异均有统计学意义 (均为 $P < 0.05$)。图 2 表示了 0 Gy 、 1 Gy 、 2 Gy 、 4 Gy 、 8 Gy 射线对细胞活性的影响, 随着射线剂量的增加, 细胞活性也逐渐降低。与空白对照组 (0 Gy) 相比, 细胞活性抑制率差异均有统计学意义 (均为 $P < 0.05$)。我们选用 2 Gy 的低剂量射线来联合不同浓度的姜黄素去处理细胞, $0\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $20\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $30\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素联合 2 Gy 射线引起的细胞活性分别为 ($92.5 \pm 2.6\%$)、($78.4 \pm 3.1\%$)、($62.6 \pm 1.9\%$)、($40.1 \pm 3.2\%$)、($27.9 \pm 4.1\%$)、($21.2 \pm 2.2\%$), 姜黄素组的抑制率分别为 ($100.0 \pm 3.4\%$)、($98.6 \pm 3.8\%$)、

(94.9 ± 2.9)%、(78.9 ± 4.1)%、(59.6 ± 3.5)%、(46.5 ± 2.3)%，相同浓度的姜黄素组(0 Gy)与姜黄素 + 2 Gy 射线组比较，差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。

2.2 细胞周期检测 采用 CCK-8 试剂盒在流式细胞仪上检测姜黄素联合射线对细胞周期的影响(图

3)，相比空白对照组，单独的姜黄素和 2 Gy 射线均能使 G2/M 期细胞增多，分别为(26.6 ± 3.4)%和(51.6 ± 2.8)% ($P < 0.05$)，G0/G1 和 S 期细胞减少 ($P < 0.05$)，而姜黄素 + 2 Gy 射线可以引起更多的细胞(79.6 ± 2.1)% 进入并停留在 G2/M 期，姜黄素 + 2 Gy 射线处理组分别与空白对照组、姜黄素组、2 Gy 射线组比较差异均有显著统计学意义(均为 $P < 0.01$)，说明姜黄素和射线可以互相增强细胞 G2/M 期的阻滞作用。姜黄素 + 2 Gy 射线组，G0/G1 和 S 期细胞和空白对照组比较差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。

2.3 细胞凋亡检测 本实验采用细胞核染色观察细胞核型的变化来判断细胞凋亡情况(图 4)，空白对照组细胞核质均匀完整，2 Gy 射线处理的细胞与空白对照组相似，而姜黄素处理的细胞的细胞核出现固缩，并且有凋亡小体形成，联合 2 Gy 射线后，细胞出现大量核固缩现象和凋亡小体，说明 2 Gy 可以显著增强姜黄素引起的细胞凋亡。

图1 不同浓度的姜黄素处理细胞不同时间对细胞活性的影响

图2 不同剂量的射线对细胞活性的影响

图3 流式细胞仪检测细胞周期

图4 细胞核染色图片。红色箭头所示为凋亡小体。A:空白对照组;B:2 Gy 射线组;C:姜黄素组;D:姜黄素 + 2 Gy 射线组

2.4 细胞线粒体膜电位检测 2 Gy 射线组几乎没有引起线粒体膜电位的下降(2.4 ± 3.5)%，姜黄素组引起的线粒体膜电位下降为(16.4 ± 3.6)%，而 2 Gy + 姜黄素组显著引起线粒体膜电位的下降，为(48.3 ± 4.3)%，说明射线明显增强了姜黄素凋亡通路中的线粒体膜电位下降。 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素 + 2 Gy 组引起的线粒体膜电位与单独的 2 Gy 和 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素引起的线粒体膜电位差异均有显

著统计学意义(均为 $P < 0.01$)。

3 讨论

人视网膜神经胶质瘤是一种最具侵袭性的原发性肿瘤。目前，放射疗法仍为临床上治疗肿瘤的最有效和首选的手段。为了提高胶质瘤的治愈率，科学家们致力于研发一种同时具有高度增敏性和低毒性的放射治疗增敏剂^[12-13]。放射治疗增敏剂是指可

以提高肿瘤细胞对射线敏感性的一类活性物质,它们通常在对正常组织无毒性或低毒性的情况下便可以发挥增敏效果,因此,适合用于对射线敏感的眼部。目前将放射增敏剂分为:细胞内巯基化合物及其他内源性辐射防护物质抑制剂、生物还原剂、辐射损伤细胞修复抑制剂、DNA 前体碱基类似物、类氧物如亲电子化合物。而姜黄素是从姜科植物的根茎中提取的一种植物多酚,是一种天然的抗癌药物^[14],姜黄素具有很好的放射增敏作用,低剂量的姜黄素加上低剂量的辐射可以有效抑制癌细胞的活性,本研究发现 $30\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素加上 2 Gy 射线的细胞活性 $(21.2 \pm 2.2)\%$,而单独的 $30\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素的细胞活性 $(46.5 \pm 2.3)\%$,差异具有统计学意义 $(P < 0.05)$ 。这正好符合放射增敏剂的低剂量高抑制率的特性^[15]。

细胞处于不同细胞周期,对于电离辐射的反应也不尽相同。其中 G1/S 边界期和 G2/M 期敏感性最高,而敏感性最低的是 S 期尤其是晚期。因此,促使肿瘤 G1/S 期细胞进入并停留在 G2/M 期,是提高肿瘤放射敏感性的一个重要手段^[16]。本研究发现,单独的姜黄素和 2 Gy 均能使 G2/M 期细胞增多,分别为 $(26.6 \pm 3.4)\%$ 和 $(51.6 \pm 2.8)\%$,G0/G1 和 S 期细胞减少,而姜黄素联合 2 Gy 可以引起更多的细胞 $(79.6 \pm 2.1)\%$ 进入并停留在 G2/M 期。这一结果充分说明了姜黄素和射线通过互相增强 G2/M 期的敏感性来提高放射治疗的效果。李刚等^[7]发现人肾腺癌细胞经放射线联合姜黄素处理后,G2/M 期细胞比例明显高于单独药物组和放射组,证明了姜黄素对人肾腺癌细胞的放射增敏作用与其影响细胞周期分布、导致细胞周期阻滞有关^[11]。

细胞线粒体是细胞正常生长与代谢的重要细胞器。细胞线粒体膜电位的变化是判断线粒体途径是否参加细胞凋亡通路的一个重要标志。而细胞线粒体跨膜电位的稳定有利于维持细胞的正常生理功能。有研究表明,线粒体跨膜电位的降低是细胞凋亡早期的不可逆事件^[17-18]。本实验中,我们通过形态学观察的方式观察细胞的凋亡变化,发现姜黄素联合 2 Gy 射线后,细胞出现大量核固缩现象和凋亡小体,说明 2 Gy 可以显著增强姜黄素引起的细胞凋亡。通过流式细胞仪进一步检测发现,2 Gy 联合姜黄素显著引起线粒体膜电位下降为 $(48.3 \pm 4.3)\%$,姜黄素联合射线引起了凋亡通路中的线粒体膜电位下降,进而促使细胞凋亡。有研究发现姜黄素对胶质瘤 U87 细胞具有较好的放射治疗增敏效果,认为细胞在 G2/M 期阻滞是增强放射治疗敏感性的主要机制^[13]。本研究在此基础上发现,姜黄素对细胞放

射增敏作用导致的细胞死亡方式主要是凋亡。

综上所述,本研究发现低剂量的射线对人视网膜神经胶质瘤细胞周期、凋亡和线粒体膜电位均没有明显影响,但是可以显著增强姜黄素引起的细胞 G2/M 期阻滞,诱导线粒体途径参与的凋亡作用。本研究初步证明了姜黄素联合射线诱导的人视网膜神经胶质瘤细胞死亡方式和机理,为临床研究提供了理论依据。

参考文献

- [1] 武海军,陆晓和,钟彦彦,白浪. 姜黄素对兔角膜新生血管模型中多形核白细胞计数和 VEGF 表达的影响[J]. 眼科新进展, 2008, 28(10): 734-736.
- [2] 李婧,邢怡桥,贺涛,赵晓辉,江黎. 姜黄素对氧诱导的视网膜新生血管形成的影响[J]. 中华眼底病杂志, 2010, 26(3): 227-230.
- [3] LIN JK, LIN-SHIAU SY. Mechanisms of cancer chemoprevention by curcumin[J]. *Proc Natl Sci Counc Repub China B*, 2001, 25(2): 59-66.
- [4] 范吴宁,佟丽,范钦. 姜黄素对肿瘤的抑制和放射增敏作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 333-335.
- [5] JAGETIA GC. Radioprotection and radiosensitization by curcumin[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2007, 595(1): 301-320.
- [6] 李强,曹明溶,刘志龙,蒋建伟. 去氢骆驼蓬碱诱导 HepG2 细胞凋亡并增强其对 5-氟尿嘧啶和顺铂的敏感性[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(2): 284-289.
- [7] 李刚,王子明,种铁. 姜黄素对人肾癌 ACHN 细胞放射的增敏作用及其机制[J]. 西安交通大学学报:医学版, 2011, 3(3): 299-302.
- [8] 安建斌,马景学. 姜黄素的药理作用及其在眼科的应用研究进展[J]. 中国中医眼科杂志, 2009, 18(6): 360-362.
- [9] 曹璋,崔敏,孙宁. 姜黄素对人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞的放射增敏作用及其作用机制[J]. 现代肿瘤医学, 2007, 15(9): 1232-1234.
- [10] 安建斌,马景学,翟英,刘丹岩,任进民,刘丽娅,等. 姜黄素在兔眼玻璃体腔内的药代动力学研究[J]. 眼科研究, 2009, 27(2): 132-136.
- [11] 黄姣娥,蒋君男,车冠华,覃江克,戴支凯. 咕吨酮并吡啶衍生物 XP-16 抗人胃癌 MGC-803 细胞作用[J]. 中国药理学杂志, 2014, 49(15): 1315-1320.
- [12] 朱惠平,张全安,苏沐. 姜黄素对人前列腺癌细胞放疗增敏作用的实验研究[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(18): 27-30.
- [13] 马建芬. 姜黄素对胶质瘤细胞系 U87 的放疗增敏作用及其机制研究[D]. 苏州大学, 2013.
- [14] 安建斌,马景学,刘丹岩,赵晓辉,江黎. 姜黄素防治兔眼增生性玻璃体视网膜病变的实验研究[J]. 中华实验眼科杂志, 2011, 29(2): 125-129.
- [15] 刘娟,游志鹏. 姜黄素对糖尿病大鼠视网膜中巨噬细胞游走抑制因子表达的影响[J]. 眼科研究, 2010, 28(12): 1139-1143.
- [16] 杜颖华. 姜黄素和维甲酸抵制人视网膜色素上皮细胞移行和重塑人视网膜色素上皮细胞外基质的研究[D]. 河北医科大学, 2013.
- [17] SANDERSON TH, REYNOLDS CA, KUMAR R, PRZYKLENK K, HÜTTEMANN M. Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain: pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive oxygen species generation[J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 47(1): 9-23.
- [18] MONTES DE OCA BALDERAS P, AGUILERA P. A metabotropic-Like flux-independent NMDA receptor regulates Ca^{2+} exit from endoplasmic reticulum and mitochondrial membrane potential in cultured astrocytes[J]. *PLoS One*, 2014, 10(5): e0126314.