

## 姜黄素对甲醛致 A549 细胞氧化损伤拮抗作用\*

陈鑫<sup>1</sup> 江中发<sup>2</sup> 李宁<sup>2</sup> 石玉琴<sup>2</sup> 隋妍<sup>1</sup> 张本延<sup>1</sup>

**摘要:**目的 探讨姜黄素对甲醛致细胞氧化损伤的拮抗效应。方法 采用 A549 细胞株作为实验材料,实验设对照组、0.1 mmol/L 甲醛染毒组、姜黄素组(0.1 mmol/L 甲醛+2.5~20.0 mg/L 姜黄素),检测 A549 细胞中一氧化氮合酶(NOS)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。结果 甲醛染毒组 A549 细胞 SOD、NOS 和 GSH-Px 活性分别为(21.79±1.13)、(1.88±0.16)与(27.83±0.2) U/mgprot,与对照组比较,SOD、NOS 和 GSH-Px 活性明显下降( $P<0.05$ ),MDA 含量[(3.87±0.153.87) nmol/mgprot]明显升高( $P<0.05$ )。与甲醛染毒组比较,各姜黄素组 GSH-Px 活性上升、MDA 含量下降( $P<0.05$ ),与对照组比较,40 mg/L 姜黄素组 GSH-Px 活性、MDA 含量差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 姜黄素可提高 A549 细胞抗氧化酶活性,并存在剂量效应关系。

**关键词:** 甲醛;姜黄素;氧化损伤;拮抗作用

中图分类号: R 114

文献标志码: A

文章编号: 1001-0580(2012)04-0491-02

**Antagonistic effect of curcumin on formaldehyde-induced oxidative damage in A549 cell** CHEN Xin, JIANG Zhong-fa, LI Ning et al. Department of Preventive Medicine, Medical College, Wuhan Science and Technology University (Wuhan 430065, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the antagonistic effect of curcumin on formaldehyde-induced oxidative damage in cells. **Methods** A549 cells were used as experimental material and divided into normal control group, formaldehyde exposure group (0.1 mmol/L), and curcumin-antagonized formaldehyde group. Nitric oxide synthase (NOS), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels were detected. **Results** For formaldehyde exposure group, SOD, NOS, and GSH-Px activity in A549 cells were 21.79±1.13, 1.88±0.16, and 27.83±0.2 U/mgprot, respectively, and significantly decreased ( $P<0.05$ ) compared to those of the control group. Compared with that of the control group, MDA increased significantly ( $P<0.05$ ). Compared with the formaldehyde exposure group, GSH-Px activity increased ( $P<0.05$ ), MDA content decreased in curcumin group ( $P<0.05$ ). Compared with those of the control group, GSH-Px activity and MDA content showed no significant difference in 40 mg/L curcumin group ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Curcumin can enhance antioxidant enzyme activity in A549 cells in a dose-effect relationship.

**Key words:** formaldehyde; curcumin; oxidative damage; antagonism

姜黄素(curcumin)是从中草药姜黄(*Curcuma aromatica*)中提取的一种酚性食用色素。可溶于甲醇、乙醇、碱、醋酸、丙酮和氯仿等有机溶剂。姜黄素具有抗炎、抗氧化、调脂、抗感染、抗肿瘤等广泛药理活性,且毒性低、不良反应小<sup>[1-2]</sup>。姜黄素分子中酚羟基使其具有较强抗氧化作用,姜黄素是含有许多功能基团的独特抗氧化剂。近年来国内外科学家以姜黄素为先导,设计、合成和表征了大量姜黄素结构衍生物和类似物<sup>[3]</sup>。甲醛是确认的人类致癌物,是室内主要空气污染物之一,并可引起细胞氧化损伤,免疫毒性,致敏作用等<sup>[4]</sup>。姜黄素对甲醛毒性是否具有拮抗作用,目前尚不清楚。本研究以 A549 细胞(人类肺肿瘤细胞)作为实验材料,探讨姜黄素对甲醛致细胞氧化损伤拮抗效应。

## 1 材料与方

1.1 主要试剂与仪器 A549 细胞株(人类肺肿瘤细胞)(中国科学院上海细胞库)。姜黄素(美国 Sigma 公司),以少量二甲亚砜(DMSO)溶解,配置成 1g/mL 溶液,置于-4℃保存。临用时,以完全细胞培养液稀释到所需浓度,DMSO 终浓度<0.1%。甲醛溶液(美国 Sigma 公司),改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified eagle media, DMEM)细胞培养液、青链霉素双抗、胰酶(美国 Gibco 公司),胎牛血清(杭州

四季青公司),超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。MCO-15AC 型二氧化碳培养箱(日本 SANYO 公司),CKX31 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 细胞与培养 将 A549 细胞置于含 10% 胎牛血清、100 U 双抗 DMEM 培养液中,于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养,每 2~3 d 传代 1 次。在细胞生长至对数生长期时进行实验。分别于培养 12、24、48 h,采用噻唑蓝(thiazolyl blue tetrazolium bromide, MTT)比色法测定 A549 细胞生长存活率。姜黄素对 A549 细胞生长抑制实验设对照组、姜黄素 2.5、5.0、10、20 mg/L 组;姜黄素拮抗甲醛损伤作用实验设对照组、甲醛染毒组(0.1 mmol/L)及 5 个剂量姜黄素组(甲醛 0.1 mmol/L + 姜黄素 2.5、5.0、10、20、40 mg/L)。

1.3 指标与检测 将 A549 细胞接种至 6 孔培养板,每孔 2 mL,在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养至 80% 融合,弃去培养液,用 D-Hanks 液洗 2 遍,姜黄素各组分别加入相应浓度姜黄素,对照组和甲醛染毒组加入 DMEM 培养液,均置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养 12 h,姜黄素各组及甲醛染毒组分别加入 0.1 mmol/L 甲醛,置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养 4h。每组设 3 个复孔,同一实验重复 3 次。终止培养后,根据试剂盒说明书进行 SOD、NOS 和 GSH-Px 活性与 MDA 含量测定。

1.4 统计分析 实验数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 11.0 统计分析软件进行数据处理,组间比较采用 *t* 检验,检验水准  $\alpha=0.05$ 。

\* 基金项目: 国家科技支撑计划项目(2006BA119B05-2)

作者单位: 1. 武汉科技大学医学院预防医学系,湖北 武汉 430065;  
2. 湖北省疾病预防控制中心

作者简介: 陈鑫(1984-),女,河南安阳人,硕士在读,研究方向: 环境与健康危险评价。

通讯作者: 张本延, E-mail: zbyan1000@163.com

## 2 结果

2.1 姜黄素对 A549 细胞生长抑制作用(表 1) 姜黄素超过一定剂量后也能明显抑制细胞生长。正常 A549 细胞生长活跃,经 2.5、5、10、20 mg/L 姜黄素处理 12~48 h 后,细胞生长受到不同程度抑制,呈时间-剂量关系。

表 1 姜黄素对 A549 细胞生长抑制作用(%)

剂量(mg/L)	12 h	24 h	48 h
对照组	0.00	0.00	0.00
姜黄素			
2.5	3.78	5.16	11.54
5.0	7.03	9.64	17.73
10.0	13.60	18.32	25.02
20.0	18.95	27.50	33.45

表 2 姜黄素对甲醛致 A549 细胞损伤拮抗作用( $\bar{x} \pm s$   $n=3$ )

组别	剂量 mmol/L + mg/L	MDA (nmol/mgprot)	SOD (U/mgprot)	NOS (U/mgprot)	GSH-Px (U/mgprot)
对照组		1.67 ± 0.25	37.26 ± 1.91	3.82 ± 0.14	35.29 ± 0.99
甲醛染毒组	0.1	3.87 ± 0.15 <sup>a</sup>	21.79 ± 1.13 <sup>a</sup>	1.88 ± 0.16 <sup>a</sup>	27.83 ± 0.21 <sup>a</sup>
姜黄素组	0.1 + 2.5	3.06 ± 0.10 <sup>ab</sup>	24.50 ± 0.75 <sup>ab</sup>	2.24 ± 0.14 <sup>ab</sup>	28.44 ± 0.61 <sup>a</sup>
	0.1 + 5.0	2.76 ± 0.14 <sup>ab</sup>	27.66 ± 0.73 <sup>ab</sup>	2.40 ± 0.35 <sup>ab</sup>	30.45 ± 0.76 <sup>ab</sup>
	0.1 + 10.0	2.39 ± 0.10 <sup>ab</sup>	29.60 ± 0.55 <sup>ab</sup>	2.87 ± 0.18 <sup>ab</sup>	32.59 ± 0.40 <sup>b</sup>
	0.1 + 20.0	2.12 ± 0.13 <sup>ab</sup>	33.49 ± 1.08 <sup>ab</sup>	3.71 ± 0.04 <sup>b</sup>	34.11 ± 0.17 <sup>b</sup>
	0.1 + 40.0	1.72 ± 0.10 <sup>b</sup>	36.09 ± 0.40 <sup>b</sup>	—	—

注:与对照组比较 <sup>a</sup>  $P < 0.05$ ; 与甲醛染毒组比较 <sup>b</sup>  $P < 0.05$ ; —: 表示未检测。

## 3 讨论

甲醛是一种有毒物质,国际癌症研究中心已将其列为确认人类致癌物质<sup>(5)</sup>。甲醛也是一种氧化剂,进入机体后产生大量氧自由基,MDA 是细胞膜脂质过氧化最终分解产物,SOD 和 GSH-Px 是体内广泛存在的 2 种抗氧化酶,因此常用作组织脂质过氧化损伤程度参考指标<sup>(6)</sup>。姜黄素分子中酚羟基具有较强抗氧化作用。Miriayala<sup>(7)</sup> 认为姜黄素抗氧化活性归因于酚基团和甲氧基团与 1,3-二酮结合的双烯系统连接。还可明显降低由尼古丁引起的脂质过氧化伤害,对预防因吸烟引起的各种疾病有一定作用<sup>(8)</sup>。本研究结果显示,经 0.1 mmol/L 甲醛染毒 4 h,细胞膜有皱缩现象,表明甲醛可以直接损伤 A549 细胞,与已往研究一致<sup>(9)</sup>。

本研究结果表明姜黄素可拮抗甲醛致 A549 细胞脂质过氧化毒性作用,使 MDA 含量下降,SOD、NOS、GSH-Px 活性上升,提示姜黄素能够降低甲醛对 A549 细胞毒性。姜黄素通过减少氧化,增强抗氧化物的活力,从而抑制甲醛对细胞的氧化损伤作用。研究发现<sup>(10-12)</sup> 姜黄素 20  $\mu\text{mol/L}$  能够有效提高细胞 SOD 和 GSH-Px 活性,姜黄素可拮抗鱼藤酮致 PC12 细胞氧化损伤,可以拮抗水华微囊藻毒素致动物肝氧化损伤。与本研究结果一致。但其拮抗作用机制目前仍不十分清楚,有待进一步研究。

## 参考文献

- 余美荣,蒋福升,丁志山.姜黄素的研究进展[J].中草药,2009,40(5):828-831.
- 谌辉,张景辉,刘文琪.姜黄素抗血吸虫病肝纤维化及其机制的

2.2 姜黄素与甲醛对 A549 细胞生长状态影响 对照组细胞呈不规则状,细胞膜完整,细胞核明显,核膜清晰。甲醛染毒组细胞膜表面不规则,有皱缩,细胞膜有损伤,核周间隙增大。10 mg/L 姜黄素组细胞损伤减轻,核仁明显,20 mg/L 姜黄素组细胞膜皱缩轻微,细胞膜基本完整,核周间隙不大。

2.3 姜黄素对甲醛致 A549 细胞损伤拮抗效应(表 2) 甲醛染毒组 MDA 含量高于对照组( $t = -13.236$ ,  $P < 0.05$ ),与甲醛染毒组比较,姜黄素各组 MDA 含量明显下降( $t = 7.996 \sim 21.278$ ,  $P < 0.05$ )。40.0 mg/L 姜黄素组 MDA 含量与对照组无明显差异。甲醛染毒组 SOD、NOS、GSH-Px 活性低于对照组( $t = 12.103, 16.283, 12.805$ ,  $P < 0.05$ ),与甲醛染毒组比较,姜黄素各组 SOD( $t = -3.462 \sim -20.731$ ,  $P < 0.05$ )、NOS( $t = -2.938 \sim -19.8$ ,  $P < 0.05$ ) 活性明显升高。

实验研究[J].中草药,2009,40(8):1274-1277.

- Hanai H, Sugimoto K. Curcumin has bright prospects for the treatment of inflammatory bowel disease [J]. *Curr Pharm Design*, 2009, 15(18):2087-2094.
- 张艺滨,吴传楠,杨慧敏,等.甲醛毒性作用的研究进展[J].吉林医药学院学报,2008,29(4):232-235.
- Salonen H, Pasanen AL, Lappalainen S, et al. Volatile organic compounds and formaldehyde as explaining factors for sensory irritation in office environments [J]. *J Occup Environ Hyg*, 2009, 6(4):239-247.
- Zararsiz I, Sonmez MF. Effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced nephropathy in rats [J]. *Toxicology and Industrial Health*, 2006, 22:223-229.
- Miriayala S, Panchatcharam M, Rengarajulu P. Cardioprotective effects of curcumin [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2007, 595:359-377.
- Kalpna C, Sudheer AR, Rajasekharan KN, et al. Comparative effects of curcumin and its synthetic analogue on tissue lipid peroxidation and antioxidant status during nicotine-induced toxicity [J]. *Singapore Med J*, 2007, 48(2):124-130.
- 何重香,江中发,张本延,等.液态甲醛致 A549 细胞氧化损伤效应分析[J].公共卫生与预防医学,2009,20(3):9-11.
- 杨开艳,顾建兰,殷冬梅,等.姜黄素对脂多糖激活的小胶质细胞 iNOS 表达的抑制及抗氧化作用[J].中国生物化学与分子生物学报,2007,23(11):938-945.
- 崔群力,孙圣刚.姜黄素通过抗氧化作用拮抗鱼藤酮致 PC12 细胞损伤的研究[J].华中科技大学学报,2010,39(1):37-46.
- 陈铁晖,薛常锦,汪家梨,等.姜黄素拮抗水华微囊藻毒素致动物肝氧化损伤[J].中国公共卫生,2006,22(11):1402-1403.

收稿日期:2011-09-27

(解学魁编辑 李贵福校对)