

# 姜黄素对邻苯二甲酸二丁酯致幼鼠学习记忆下降的改善作用

陈艳丽<sup>1</sup>, 张霖<sup>2</sup>, 晏彪<sup>2</sup>

1. 三峡大学附属仁和医院药学部, 湖北 宜昌 443001

2. 湖北科技学院基础医学研究中心, 湖北 咸宁 437100

## 摘要:

**[背景]** 邻苯二甲酸二丁酯 (DBP) 是一类典型的邻苯二甲酸酯类污染物, 流行病学研究与动物实验表明, DBP 可引起受试动物的神经行为学改变, 其机制可能与细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 在海马神经元中的表达相关。此外, 姜黄素 (Cur) 最近因其在治疗各种中枢神经系统疾病中的积极作用而受到广泛关注, 但其对 DBP 致幼鼠学习记忆下降的影响及作用机制尚不清楚。

**[目的]** 通过检测 Cur 对 DBP 暴露昆明种幼鼠海马组织氧化应激水平、ERK 通路相关蛋白表达量的影响, 探讨其对 DBP 致幼鼠学习记忆下降的作用及机制。

**[方法]** 雄性昆明种幼鼠 32 只, 随机分成 4 组: 生理盐水组、50 mg/(kg·d) DBP 组、2.5 mg/(kg·d) Cur 组、DBP+Cur 组, 染毒周期 28 d, 进行 Morris 水迷宫实验检测各组幼鼠的逃避潜伏期, 取海马组织检测活性氧 (ROS)、丙二醛 (MDA)、总抗氧化能力 (T-AOC) 水平, 以及 ERK 通路相关蛋白、磷酸化 ERK (p-ERK)、脑损伤早期神经细胞蛋白 (c-Fos、c-Jun) 的水平, 并分析海马 CA1 区病理学变化。

**[结果]** 与对照组比较, DBP 组幼鼠潜伏期延长为 (46.96±4.37) s ( $P=0.007$ ), 海马组织 ROS、MDA 水平分别上升为 (6387.00±84.80) U/孔、(1.65±0.10)  $\mu\text{mol/g}$  (以蛋白计, 后同) ( $P=0.006$ ,  $P=0.015$ ), T-AOC 水平下降为 (0.55±0.05) U/mg ( $P=0.016$ ), p-ERK、c-Fos 及 c-Jun 表达水平上调 ( $P=0.002$ ,  $P=0.001$ ,  $P=0.003$ ), 且海马组织 HE 切片显示, CA1 区出现一定程度的病理学改变; 加入 Cur 处理后, 与 DBP 组比较, DBP+Cur 组幼鼠潜伏期降低为 (37.79±5.72) s ( $P=0.048$ ), 海马组织 ROS、MDA 水平分别下降为 (5934.80±38.07)、(1.10±0.08)  $\mu\text{mol/g}$  ( $P=0.032$ ,  $P=0.014$ ), p-ERK、c-Fos 及 c-Jun 表达水平下调 ( $P=0.040$ ,  $P=0.009$ ,  $P=0.008$ ), 且海马 CA1 有病理学改变的细胞数量减少。

**[结论]** Cur 在一定程度上可改善 DBP 引起的学习记忆下降, 且作用机制可能与其降低氧化应激水平、ERK 通路相关蛋白的表达有关。

**关键词:** 邻苯二甲酸二丁酯; 姜黄素; 细胞外调节蛋白激酶; c-Fos; c-Jun

**Ameliorating effect of curcumin on decreased learning and memory induced by dibutyl phthalate in young mice** CHEN Yan-li<sup>1</sup>, ZHANG Lin<sup>2</sup>, YAN Biao<sup>2</sup> (1. Department of Pharmacy, Affiliated Renhe Hospital of China Three Gorges University, Yichang, Hubei 443001, China; 2. Research Center of Basic Medical Sciences, Hubei University of Science and Technology, Xianning, Hubei 437100, China)

## Abstract:

**[Background]** Dibutyl phthalate (DBP) is a class of typical phthalate ester pollutants. Epidemiological studies and animal experiments have shown that DBP can cause neurobehavioral changes in animals, and the mechanism may be related to the expression of extracellular regulated protein kinase (ERK) in hippocampal neurons. In addition, curcumin (Cur) has attracted much attention recently because of its active role in the potential treatment of various central nervous diseases, but its effect on learning and memory impairment induced by DBP remains unclear.

**[Objective]** This experiment detects the effects of Cur on the oxidative stress levels and expressions of ERK pathway related proteins in hippocampus of KM young mice exposed to DBP, and explores

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2019.19345

## 基金项目

湖北省教育厅科学技术研究项目 (B2018172); 湖北科技学院校级科研项目 (2019-20X017)

## 作者简介

陈艳丽 (1982—), 女, 硕士, 主管药师; E-mail: 46284834@qq.com

## 通信作者

晏彪, E-mail: e21yanbiao@sina.cn

伦理审批 已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2019-05-20

录用日期 2019-09-27

文章编号 2095-9982(2019)11-1049-06

中图分类号 R114

文献标志码 A

## 引用

陈艳丽, 张霖, 晏彪. 姜黄素对邻苯二甲酸二丁酯致幼鼠学习记忆下降的改善作用 [J]. 环境与职业医学, 2019, 36 (11): 1049-1054.

## 本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2019.19345

## Funding

This study was funded.

## Correspondence to

YAN Biao, E-mail: e21yanbiao@sina.cn

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2019-05-20

Accepted 2019-09-27

## To cite

CHEN Yan-li, ZHANG Lin, YAN Biao. Ameliorating effect of curcumin on decreased learning and memory induced by dibutyl phthalate in young mice [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2019, 36(11): 1049-1054.

## Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2019.19345

the effects of Cur on decreased learning and memory induced by DBP and the underlying mechanism.

**[Methods]** Thirty-two young male KM mice were randomly divided into four groups: saline group, 50 mg/(kg·d) DBP group, 2.5 mg/(kg·d) Cur group, and DBP+Cur group. After 28 consecutive days of exposure, the escape latencies of the experimental groups were tested by Morris water maze; reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), and total antioxidant capacity (T-AOC) in hippocampus were determined; the levels of ERK pathway related protein, phosphorylated-ERK (p-ERK), and early brain injury neurofilament proteins (c-Fos and c-Jun) were detected by Western blotting; the pathological alterations in the CA1 area of hippocampus were observed after HE staining.

**[Results]** Compared with the control group, the escape latency of young mice in the DBP group was prolonged to (46.96±4.37)s ( $P=0.007$ ); the levels of ROS and MDA in brain was increased to (6 387.00±84.80) U/well and (1.65±0.10) μmol/g (in protein) ( $P=0.006$ ,  $P=0.015$ ), respectively; the level of T-AOC was decreased to (0.55±0.05) U/mg ( $P=0.016$ ); the expression levels of p-ERK, c-Fos, and c-Jun in the hippocampus were increased significantly ( $P=0.002$ ,  $P=0.001$ ,  $P=0.003$ ); the HE stained specimens of hippocampal tissues showed identifiable pathological changes in CA1. After the Cur treatment, compared with the DBP group, the escape latency of the DBP+Cur group was decreased to (37.79±5.72)s ( $P=0.048$ ); the levels of ROS and MDA were decreased to (5 934.80±38.07) and (1.10±0.08) μmol/g (in protein) ( $P=0.032$ ,  $P=0.014$ ), respectively; the expression levels of p-ERK, c-Fos, and c-Jun were decreased ( $P=0.040$ ,  $P=0.009$ ,  $P=0.008$ ); less cells with pathological changes were observed in hippocampal CA1.

**[Conclusion]** Cur can ameliorate the effects of decreased learning and memory induced by DBP, and the mechanism may be related to the down-regulated oxidative stress and ERK pathway related protein expression levels.

**Keywords:** dibutyl phthalate; curcumin; extracellular regulated protein kinase; c-Fos; c-Jun

邻苯二甲酸酯 (phthalates, PAEs) 是我国最常使用的一类塑化剂, 普遍应用于医疗制品中, 被我国列为优先控制污染物<sup>[1]</sup>。PAEs 作为一类环境内分泌干扰物, 除生殖毒性外, 对神经系统的发育与分化也存在不良影响<sup>[2]</sup>。邻苯二甲酸二丁酯 (dibutyl phthalate, DBP) 是 PAEs 中最典型的代表, 对婴幼儿学习记忆能力的不良影响已被广泛报道<sup>[3]</sup>。国外流行病学研究表明<sup>[4]</sup>, 胚胎期、哺乳期的 DBP 暴露可引起出生后 6 月龄的婴儿和 3 岁幼儿神经行为改变。国内人群调查结果显示<sup>[5]</sup>, DBP 暴露程度与儿童智力下降程度之间呈正相关性。动物实验结果也表明<sup>[6]</sup>, DBP 可引起受试动物及其子代神经行为学的改变, 降低小鼠的学习和记忆能力。

研究证实, DBP 诱导的学习、记忆功能障碍与海马神经元有关, 而脑损伤早期神经蛋白 (c-Fos, c-Jun) 可能在该生物学过程中发挥着重要作用<sup>[7]</sup>。细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 作为丝裂原活化蛋白激酶家族成员, 其参与神经行为反应的作用已经得到了广泛的关注, 特别是 ERK 在与学习和记忆相关的特定脑区的神经元中广泛表达, 能通过氧化应激等通路将信号从细胞表面传导至细胞核, 进而参与调控细胞损伤、细胞凋亡等多种生物学反应<sup>[8]</sup>。Qin 等<sup>[9]</sup>研究表明, PAEs 可通过氧化应激途径激活 p38 MAPK 通路; Yan 等<sup>[10]</sup>报道, 联合使用维生素 E 和尼莫地平可通过抑制 ERK1/2 途径改善 DBP 诱导的小鼠记忆障碍。

姜黄素 (curcumin, Cur) 是从姜科植物中提取的一种小分子多酚类物质, 最近因其在治疗各种中枢神经系统疾病中的积极作用而受到广泛关注, 已成为国内外研究的热点<sup>[11]</sup>。目前, 虽然研究报道姜黄素具有抗氧化、抗炎及抗癌等多方面药理作用<sup>[12]</sup>, 但其神经保护作用机制尚不完全清楚。本实验拟通过检测姜黄素预先给药对 DBP 诱导昆明种幼鼠海马马组织氧化应激水平、ERK 通路相关蛋白表达的影响, 探讨其在 DBP 致幼鼠学习记忆下降中的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与分组

3 周龄 SPF 级雄性昆明种小鼠幼鼠, 体重 (13±1) g, 购自湖北省实验动物研究中心 (质量合格证号: NO.42000600023923)。动物房温度 (25±2) °C, 湿度 45%, 昼夜交替 12 h, 动物自由饮食进水。32 只昆明幼鼠随机分成 4 组: 生理盐水组 (对照)、50 mg/ (kg·d) DBP 组、2.5 mg/ (kg·d) Cur 组、50 mg/ (kg·d) DBP+2.5 mg/ (kg·d) Cur 组 (DBP+Cur)。

### 1.2 主要试剂与仪器

DBP、Cur (Sigma, 美国), SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、RIPA 总蛋白裂解液 (ASPEN, 南非), 丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, T-AOC) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 中国), 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白质浓度测定试剂盒、化学发光

(electrochemiluminescence, ECL) 检测试剂盒 (ASPEN, 南非), 蛋白标记 (Marker) (Thermo, 美国), 一抗: 均为兔抗小鼠,  $\beta$ -Actin (Abcam, 英国, 5% 脱脂牛奶, 1:10000), p-ERK (CST, 美国, 5% BSA, 1:1000), ERK (CST, 美国, 5% BSA, 1:2000), c-Fos (Abcam, 英国, 5% 脱脂牛奶, 1:2000), c-Jun (Abcam, 英国, 5% 脱脂牛奶, 1:500); 二抗 (ASPEN, 南非, 5% 脱脂牛奶, 1:10000)。实验动物神经行为记录仪 (EthoVision XT Version 12.0, Noldus, 荷兰), 蛋白电泳及转膜系统 (Bio-Rad, 美国), 凝胶成像及分析系统 (Syngene, 英国), RM2245 切片机 (LEICA, 德国), 显微镜 BX53 (Olympus, 日本)。

### 1.3 给药及实验模型

先用 Tween-80 助溶 DBP, 再用生理盐水稀释至给药浓度, DBP 的暴露剂量参照 Yan 等<sup>[10]</sup> 设置为 50 mg/kg, 暴露途径为灌胃。先用 Tween-80 助溶 Cur, 再用生理盐水配制, Cur 剂量 (2.5 mg/kg) 及腹腔给药途径参考 Alcântara 等<sup>[13]</sup>。DBP+Cur 组中先给药 Cur, 2 h 后再灌胃给药 DBP, 其他组正常灌胃给药; 实验鼠灌胃体积为 10 mL/kg, 连续给药 28 d。值得说明的是, 给药及实验模型建立过程中, 各组实验鼠的体重变化没有出现统计学差异。

### 1.4 Morris 水迷宫实验

Morris 水迷宫实验选用通用小鼠型直径 100 cm 圆桶形水箱, 水深 20 cm, 水温控制范围 (23±1) °C, 逃逸平台位于目标象限的正中央, 距离水面 0.5 cm。小鼠的游泳轨迹等数据由水池正上方的摄像机记录, 影像数据记录传入计算机, 通过实验动物神经行为记录仪软件分析数据。幼鼠于第 22~26 天进行水迷宫定向航行训练, 第 27 天为遗忘期, 第 28 天撤掉平台后, 进行空间探索实验, 检测逃避潜伏期<sup>[14]</sup>。

### 1.5 脑海马组织 CA1 区切片的制备及观察

每组随机取 1 只小鼠的脑海马组织 CA1 区, 用 4% 多聚甲醛固定, 常规脱水, 石蜡包埋切片, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 显微镜下观察脑海马 CA1 区的病理变化。

### 1.6 脑海马组织氧化应激水平的测定

颈椎脱臼处死小鼠后, 取约 0.5 g 的脑海马组织加预冷的 PBS 制成质量分数为 10% 的匀浆液, 4 °C, 9981×g 离心 10 min 后取上清, 二氯二氢荧光素-乙酰乙酸酯荧光定量分析海马组织匀浆中活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平, 硫代巴比妥酸法测定海马

组织匀浆中 MDA 含量, 试剂盒测定海马组织匀浆中 T-AOC 水平。

### 1.7 Western blotting 实验

将 -80 °C 冰冻的小鼠脑海马组织加 RIPA 裂解液裂解后, 提取总蛋白, BCA 法测定样品中蛋白浓度。上样量 10  $\mu$ g, 10% SDS-PAGE 电泳胶分离蛋白, 然后转膜至 0.45  $\mu$ m 聚偏二氟乙烯膜上, 加一抗封闭缓冲液室温震荡 1 h, 再分别加入  $\beta$ -Actin、p-ERK、ERK、c-Fos 及 c-Jun 抗体, 4 °C 封闭过夜。TBST 洗膜, 加羊抗兔二抗室温孵育 1 h, ECL 显影。采集  $\beta$ -Actin、p-ERK、ERK、c-Fos 及 c-Jun 条带灰度值,  $\beta$ -Actin 作内参, 分别得到各样本 p-ERK、ERK、c-Fos 及 c-Jun 与  $\beta$ -Actin 的灰度比值。

### 1.8 统计学分析

计量资料用  $\bar{x}\pm s$  表示, 采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计分析。单因素方差分析显示组间有统计学差异后, 两两比较采用 SNK-*q* 检验, 检验水准  $\alpha=0.05$ 。

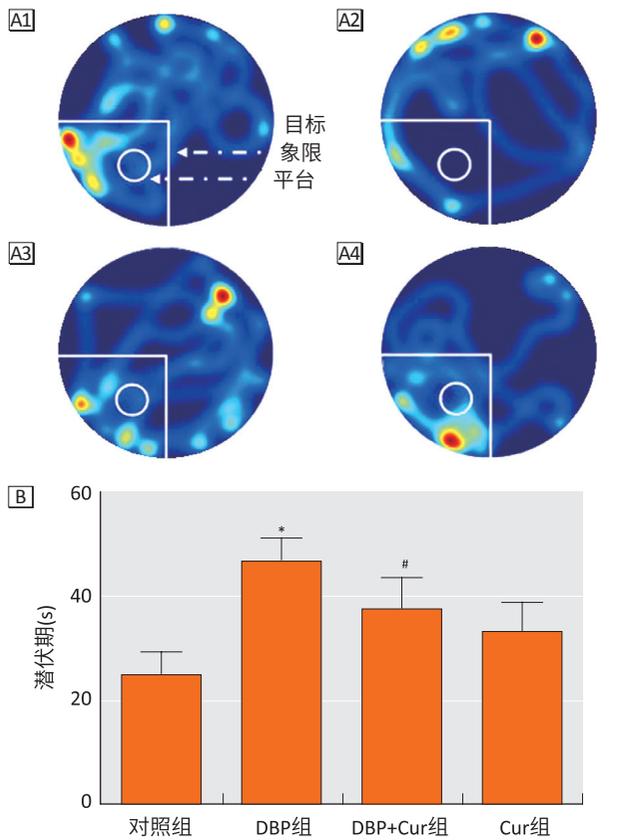
## 2 结果

### 2.1 幼鼠的学习记忆能力

幼鼠运动 60 s 内寻找平台的轨迹热点见图 1A, 红色、黄色、蓝色轨迹分别表示幼鼠的运动时间, 其中红色表示幼鼠在该区域运动占整个运动的时间比例最长, 其次为黄色、蓝色, 无轨迹表示幼鼠未运动到该区域。结果显示, DBP 组幼鼠的轨迹较少出现在目标象限, 反映该组幼鼠将会花费更多的时间才能找到平台, 学习记忆能力降低; 而 DBP+Cur 组幼鼠在目标象限的轨迹明显增加, 提示 Cur 改善 DBP 对幼鼠的学习记忆能力的影响。如图 1B 所示, 与对照组的潜伏期 [(25.26±4.14) s] 比较, DBP 组幼鼠在寻找目标象限中逃避平台的潜伏期延长为 (46.96±4.37) s, 差异有统计学意义 ( $P=0.007$ ); 与 DBP 组比较, DBP+Cur 组幼鼠的潜伏期下降为 (37.79±5.72) s, 差异有统计学意义 ( $P=0.048$ )。

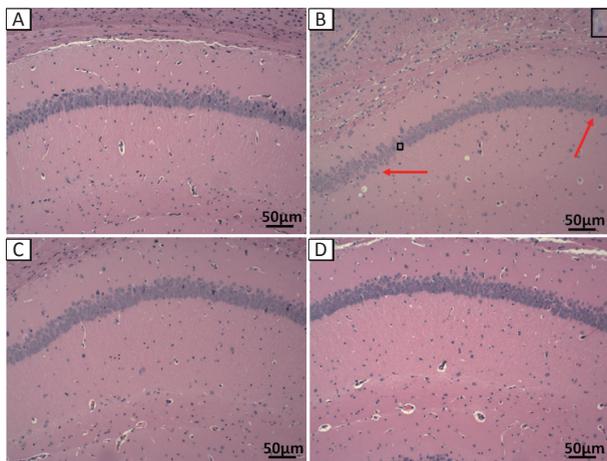
### 2.2 幼鼠海马组织 CA1 区的病理学改变

HE 染色结果见图 2, 对照组幼鼠脑海马 CA1 区的锥体细胞正常, 排列规律; DBP 组幼鼠脑海马呈现病理学改变, 锥体细胞肿胀, 排列疏松; 加入 Cur 预处理后, DBP+Cur 组幼鼠脑海马锥体细胞虽仍表现出一定程度的病理学特征, 但排列不规律、肿胀变形等有病理学改变的细胞数量明显减少。



[注] A: 不同处理组幼鼠的轨迹热点图, 1: 对照组, 2: DBP组, 3: DBP+Cur组, 4: Cur组。红色、黄色和蓝色的轨迹可反映整个区域内小鼠的运动停留时间。红色的轨迹表示在运动中花费的时间最长, 其次是黄色, 然后是蓝色, 没有痕迹表示小鼠没有运动到该区域; B: 不同处理组幼鼠的平均逃避潜伏期 (s)。\*: 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; #: 与 DBP组比较,  $P < 0.05$ 。

图1 不同处理组幼鼠水迷宫实验结果



[注] A: 对照组, B: DBP组, C: DBP+Cur组, D: Cur组。红色箭头表示相应区域锥体细胞排列松散且无序。

图2 不同处理组幼鼠脑海马CA1区的HE结果

### 2.3 幼鼠脑海马组织 ROS、MDA 及 T-AOC 的水平

由表1可见, 与对照比较, DBP组小鼠脑组织 ROS、MDA 含量增加 ( $P=0.006$ ,  $P=0.015$ ), T-AOC 水平下降 ( $P=0.016$ ); 与 DBP组比较, DBP+Cur组小鼠脑组织 ROS、

MDA 含量均下降 ( $P=0.032$ ,  $P=0.014$ )。

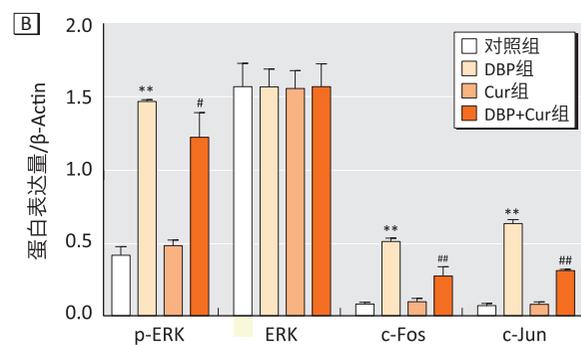
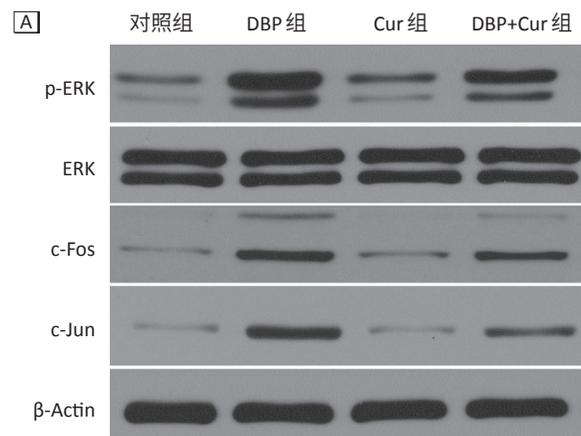
表1 各组幼鼠脑海马组织 ROS 荧光强度、MDA 含量及 T-AOC 水平 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=7$ )

组别	ROS (U/孔)	MDA ( $\mu\text{mol/g}$ , 以蛋白计)	T-AOC (U/mg)
对照组	5916.60 $\pm$ 101.70	1.31 $\pm$ 0.27	0.71 $\pm$ 0.02
DBP组	6387.00 $\pm$ 84.80**	1.65 $\pm$ 0.10*	0.55 $\pm$ 0.05*
Cur组	6058.30 $\pm$ 71.22	0.95 $\pm$ 0.18	0.68 $\pm$ 0.02
DBP+Cur组	5934.80 $\pm$ 38.07#	1.10 $\pm$ 0.08#	0.64 $\pm$ 0.03

[注] 与对照组比较, \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ 。与 DBP组比较, #:  $P < 0.05$ 。

### 2.4 幼鼠海马组织 p-ERK、c-Fos 及 c-Jun 表达

与对照组比较, DBP组幼鼠海马 p-ERK、c-Fos 及 c-Jun 表达水平上调 ( $P=0.002$ ,  $P=0.001$ ,  $P=0.003$ ); 加入 Cur 预处理后, DBP+Cur组幼鼠海马 p-ERK、c-Fos 及 c-Jun 表达水平下调 ( $P=0.040$ ,  $P=0.009$ ,  $P=0.008$ ); ERK 表达未见明显变化。见图3。



[注] A: Western blotting 蛋白条带; B: 不同处理组靶蛋白灰度值与  $\beta$ -Actin 灰度值的比值柱形图。与对照组比较, \*\*:  $P < 0.01$ 。与 DBP组比较, #:  $P < 0.05$ ; ##:  $P < 0.01$ 。

图3 不同处理组幼鼠脑海马组织 p-ERK、ERK、c-Fos 及 c-Jun 的表达

### 3 讨论

本实验结果表明, DBP可引起昆明幼鼠脑海马的 ROS、MDA 水平上升, TOC 水平下降, 并上调 ERK 通路蛋白 p-ERK、c-Fos 及 c-Jun 的表达; 进一步发现, 经

Cur 预先给药处理后, DBP 暴露的昆明幼鼠脑组织的氧化应激水平及 ERK 通路相关蛋白的表达下降, 提示 Cur 在一定程度上通过调节氧化应激和 ERK 通路改善 DBP 诱导的昆明幼鼠的学习记忆下降。

海马头部主要是由 CA1 区折叠而成, 而 CA1 区对缺氧等损伤最为敏感, 也是最易发生病变的部位<sup>[15]</sup>。DBP 可通过胎盘和血脑屏障作用于大脑海马<sup>[7]</sup>, 引起海马 CA1 区神经细胞出现病理学改变<sup>[16]</sup>, 继而导致学习记忆障碍的发生。本研究结果进一步表明, DBP 暴露可能激活氧化应激、ERK 通路, 导致幼鼠脑海马组织神经细胞的损伤, 而给予 Cur 预处理后, DBP+Cur 组幼鼠脑海马组织神经细胞的损伤程度得到改善。

研究表明, 氧化应激在环境污染物所致学习记忆障碍的发病机制中起着重要作用<sup>[17]</sup>。异常高水平的自由基和抗氧化水平的下降, 可增加机体的脂质过氧化, 并最终导致组织的病理学改变或器官功能障碍。本研究显示, Cur 可以显著降低 DBP 暴露组幼鼠脑海马的 ROS、MDA 水平, 同时提高 TOC 水平, 提示 Cur 可降低 DBP 导致的海马组织氧化应激水平。

氧化应激过程中产生的 ROS 作为上游信号分子可参与 ERK 信号转导途径<sup>[8]</sup>, 作为 MAPK 关键家族成员, ERK 通路和中枢神经系统的海马组织有重要关联, p-ERK 是 ERK 通路活化的主要形式, 其通过影响神经突触可塑性过程中的相关转录因子、蛋白质翻译等对海马 CA1 区功能起着调节作用<sup>[18]</sup>。ERK 通路活化后可将胞外信号进一步传递至核内, 并激活转录因子激活蛋白 1 (activator protein, AP-1)<sup>[8]</sup>。AP-1 主要是由 c-Fos 和 c-Jun 家族组成的异二聚体, AP-1 功能严重依赖于促成 AP-1 二聚体的特定 Fos 和 Jun 亚基<sup>[19]</sup>。胞外刺激可激活 Jun 蛋白 N 端激酶, 导致 Jun 蛋白的磷酸化, 并增强 AP-1 依赖性基因的转录活性<sup>[19]</sup>。AP-1 转录活性的调节对于细胞功能至关重要, 已有研究<sup>[20]</sup>报道, 在细胞发生凋亡的情况下, Jun 和 JNK 活性水平增加; c-Jun 失活的细胞表现正常, 而 c-Jun 活化的细胞则表现为凋亡。此外, 其他研究<sup>[21]</sup>指出, c-Fos 在刺激过程中介导促细胞凋亡信号, 当中枢神经系统神经元受到刺激时, fos 基因的表达产物 Fos 表达增加, 而 c-Fos 的高表达可视为神经元接受伤害性刺激后激活的标志。本研究显示, Cur 可以显著下调 DBP 暴露组幼鼠脑海马的 p-ERK、c-Fos 及 c-Jun 表达水平, 提示 Cur 改善 DBP 导致的学习记忆能力下降可能与 ERK 通路的抑制有关。

Cur 具有多种药理功效, 可缓解或改善啮齿类动物的记忆障碍, 对记忆损伤具有预防和治疗作用<sup>[22-23]</sup>。Cur 作为一种抗氧化剂, 通过增加超氧化物歧化酶活性, 抵制谷胱甘肽的衰竭, 抑制 ROS 和线粒体细胞凋亡途径发挥作用<sup>[24]</sup>。另一方面, Cur 通过抑制 AP-1 和 NF- $\kappa$ B 信号通路, 降低人脑胶质瘤细胞系 (T98G、U87MG 和 T67) 和大鼠胶质瘤细胞系 (C6) 的存活率, 还对临床常用化疗药物 (顺铂、依托泊苷、喜树碱和阿霉素) 治疗胶质瘤细胞具有增敏作用<sup>[25]</sup>。针对 40 名患有轻度记忆衰退的中老年人开展的研究<sup>[26]</sup>结果显示, 相较对照组, 每天接受两次 90 mg Cur 的中老年人, 其记忆力在 18 个月内提高了 28%。以上结果与本研究发现 Cur 可改善 DBP 诱导幼鼠的学习记忆下降相一致。

尽管在实际应用中 Cur 还存在一些干扰特性<sup>[27]</sup>, 如溶解度不高、生理条件下不稳定、吸收率低, 但 Cur 的临床药理作用仍有研究价值。本实验结果表明, Cur 在一定程度上可改善 DBP 引起的学习记忆下降, 且作用机制或与其可降低氧化应激水平、ERK 通路相关蛋白的表达有关。

## 参考文献

- [1] WANG Z, LIU S, XU W, et al. The microbiome and functions of black soils are altered by dibutyl phthalate contamination [J]. Appl Soil Ecol, 2016, 99: 51-61.
- [2] 周钰涵, 张蕴晖. 邻苯二甲酸酯暴露与人群健康: 流行病学和机制研究新证据 [J]. 环境与职业医学, 2019, 36 (4): 295-299.
- [3] MODOVNIK A, EDWARDS A, BELLINGER D C, et al. Developmental neurotoxicity of *ortho*-phthalate diesters: Review of human and experimental evidence [J]. NeuroToxicology, 2014, 41: 112-122.
- [4] 罗婷, 陈济安. 邻苯二甲酸酯母体暴露对子代影响的研究进展 [J]. 环境与健康杂志, 2016, 33 (4): 364-367.
- [5] 邱竞逸, 吴昊, 毛斌, 等. 上海某社区婴儿邻苯二甲酸酯暴露与神经行为发育的关系 [J]. 环境与职业医学, 2019, 36 (4): 300-305.
- [6] LI X, JIANG L, CHENG L, et al. Dibutyl phthalate-induced neurotoxicity in the brain of immature and mature rat offspring [J]. Brain Dev, 2014, 36 (8): 653-660.
- [7] WOJTCOWICZ A K, SZYCHOWSKI K A, WNUK A, et al. Dibutyl Phthalate (DBP)-induced apoptosis and neurotoxicity are mediated via the Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) but

- not by Estrogen Receptor Alpha (ER $\alpha$ ), Estrogen Receptor Beta (ER $\beta$ ), or Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR $\gamma$ ) in mouse cortical neurons [J]. *Neurotox Res*, 2017, 31 (1) : 77-89.
- [8] CHANG L, KARIN M. Mammalian MAP kinase signalling cascades [J]. *Nature*, 2001, 410 (6824) : 37-40.
- [9] QIN W, DENG T, CUI H, et al. Exposure to diisodecyl phthalate exacerbated Th2 and Th17-mediated asthma through aggravating oxidative stress and the activation of p38 MAPK [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 114 : 78-87.
- [10] YAN B, SUN Y, ZENG J, et al. Combined use of vitamin E and nimodipine ameliorates dibutyl phthalate-induced memory deficit and apoptosis in mice by inhibiting the ERK 1/2 pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019, 368 : 1-17.
- [11] KULKARNI S K, DHIR A. An overview of curcumin in neurological disorders [J]. *Indian J Pharm Sci*, 2010, 72 (2) : 149-154.
- [12] 狄建彬, 顾振纶, 赵笑东, 等. 姜黄素的抗氧化和抗炎作用研究进展 [J]. *中草药*, 2010, 41 (5) : 854-857.
- [13] DE ALCÂNTARA G F, SIMÕES-NETO E, DA CRUZ G M, et al. Curcumin reverses neurochemical, histological and immuno-histochemical alterations in the model of global brain ischemia [J]. *J Tradit Complement Med*, 2017, 7 (1) : 14-23.
- [14] BROMLEY-BRITS K, DENG Y, SONG W. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice [J]. *J Vis Exp*, 2011 (53) : 2920.
- [15] CRESCENZI R, DEBROSSE C, NANGA R P, et al. Longitudinal imaging reveals subhippocampal dynamics in glutamate levels associated with histopathologic events in a mouse model of tauopathy and healthy mice [J]. *Hippocampus*, 2017, 27 (3) : 285-302.
- [16] YAN B, GUO J, LIU X, et al. Oxidative stress mediates dibutyl phthalate induced anxiety-like behavior in Kunming mice [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2016, 45 : 45-51.
- [17] SALMINEN L E, PAUL R H. Oxidative stress and genetic markers of suboptimal antioxidant defense in the aging brain : a theoretical review [J]. *Rev Neurosci*, 2014, 25 (6) : 805-819.
- [18] YU X, LIU Y, BO S, et al. Effects of sevoflurane on learning, memory, and expression of pERK1/2 in hippocampus in neonatal rats [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2015, 59 (1) : 78-84.
- [19] 韩畅畅, 万福生. AP-1的研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2017, 39 (10) : 1357-1362.
- [20] BOSSY-WETZEL E, BAKIRI L, YANIV M. Induction of apoptosis by the transcription factor c-Jun [J]. *EMBO J*, 1997, 16 (7) : 1695-1709.
- [21] JOO J Y, SCHAUKOWITCH K, FARBIAK L, et al. Stimulus-specific combinatorial functionality of neuronal *c-fos* enhancers [J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19 (1) : 75-83.
- [22] RAUF A, IMRAN M, ORHAN I E, et al. Health perspectives of a bioactive compound curcumin : A review [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2018, 74 : 33-45.
- [23] SANEI M, SABERI-DEMNEH A. Effect of curcumin on memory impairment : A systematic review [J]. *Phytomedicine*, 2019, 52 : 98-106.
- [24] SEVASTRE-BERGHIAN A C, FĂGĂRĂȘAN V, TOMA V A, et al. Curcumin reverses the diazepam-induced cognitive impairment by modulation of oxidative stress and ERK 1/2/NF- $\kappa$ B pathway in brain [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017 : 3037876.
- [25] DHANDAPANI K M, MAHESH V B, BRANN D W. Curcumin suppresses growth and chemoresistance of human glioblastoma cells via AP-1 and NF- $\kappa$ B transcription factors [J]. *J Neurochem*, 2007, 102 (2) : 522-538.
- [26] SMALL G W, SIDDARTH P, LI Z, et al. Memory and brain amyloid and Tau effects of a bioavailable form of curcumin in non-demented adults : A double-blind, placebo-controlled 18-month trial [J]. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2018, 26 (3) : 266-277.
- [27] BAKER M. Deceptive curcumin offers cautionary tale for chemists [J]. *Nature*, 2017, 541 (7636) : 144-145.

(英文编辑：汪源；编辑：韩凤婵，汪源；校对：陈姣)