

姜黄素介导的光动力疗法通过PI3K/AKT信号通路对 PDGF-BB 诱导的血管平滑肌细胞增殖的影响

王芳 王改兰 朱莹 白定群

重庆医科大学附属第一医院, 重庆医科大学附属第一医院康复医学科, 重庆 400016

通信作者: 白定群, Email: baidingqun2014@163.com

【摘要】 **目的** 观察姜黄素(CUR)介导的光动力疗法(PDT)通过磷酸酰肌醇 3-激酶(PI3k)/丝苏氨酸蛋白激酶(AKT)信号通路对血小板衍生生长因子-BB(PDGF-BB)诱导的血管平滑肌细胞(VSMCs)增殖的影响及其可能的作用机制。**方法** 分别选取大鼠胸主动脉平滑肌细胞系(A7R5)和小鼠主动脉平滑肌细胞系(MOVAS)进行平行实验,选择 20 $\mu\text{g/L}$ 的 PDGF-BB 诱导 VSMCs 增殖。将培养好的 VSMCs 分为对照组、PDGF-BB 组、姜黄素组、光动力组,其中光动力组再根据照射剂量的不同,又分为低剂量光动力组(照射 60 s)、中剂量光动力组(照射 120 s)、高剂量光动力组(照射 180 s),共 3 个亚组。对照组不予任何刺激,PDGF-BB 组饥饿过夜后加入含 20 $\mu\text{g/L}$ 的 PDGF-BB 的新鲜培养基刺激 24 h,姜黄素组先给予与 PDGF-BB 组相同的干预,然后换液加入含 20 $\mu\text{mol/L}$ CUR 的新鲜培养基刺激 6 h,光动力组先给予与姜黄素组相同的干预,再换液后采用 425 nm 激光对光动力组各亚组进行对应时长的激光照射。采用细胞活力检测法(CCK8)检测光动力组中不同激光剂量照射后,VSMCs 的存活率;然后采用 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EDU)阳性标记率法检测 4 组细胞的增殖活性,采用流式细胞术对 4 组细胞进行细胞周期检测,采用 Western blot 法检测 PI3K/AKT 通路相关磷酸化蛋白和细胞增殖核蛋白(PCNA)的表达水平。**结果** 经 CCK8 法检测,本研究选择 120 s 作为激光照射的最佳剂量。干预后,中、高剂量光动力组的细胞存活率与 PDGF-BB 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。光动力组增殖的阳性细胞比例显著低于 PDGF-BB 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。光动力组细胞在 G0/G1 期的比例明显低于对照组($P < 0.01$),而在 G2/M 期的比例则明显高于对照组和 PDGF-BB 组($P < 0.01$)。光动力组增殖细胞核抗原(PCNA)、PI3K/AKT 通路磷酸化蛋白的表达较 PDGF-BB 组显著下降,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** CUR 介导的 PDT 可抑制 PDGF-BB 诱导下的血管平滑肌细胞的增殖,其机制可能与 CUR 介导的 PDT 可下调 PI3K/AKT 通路相关磷酸化蛋白表达水平有关。

【关键词】 姜黄素; 光动力; 血小板衍生生长因子; 血管平滑肌细胞; 增殖

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81871853);重庆市自然科学基金资助项目(cstc2020jcyj-msxmX0484)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2024.05.002

Curcumin-mediated photodynamic therapy inhibits the proliferation of vascular smooth muscle cells induced by PDGF-BB through the PI3K/AKT signal pathway

Wang Fang, Wang Gailan, Zhu Ying, Bai Dingqun

Department of Rehabilitation, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400042, China

Corresponding author: Bai Dingqun, Email: baidingqun2014@163.com

【Abstract】 **Objective** To observe any effect of photodynamic therapy (PDT) mediated by curcumin (CUR) on the proliferation of vascular smooth muscle cells (VSMCs) induced by platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB) through the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3k)/serine threonine protein kinase (AKT) signaling pathway and explore its possible mechanism. **Methods** Twenty $\mu\text{g/L}$ of PDGF-BB was used to induce proliferation of VSMCs in A7R5 rat aortic smooth muscle cells and mouse aortic smooth muscle cells. Well-cultured VSMCs were randomly divided into a normal group, a PDGF-BB group, a curcumin group, and a low-dose PDT group (irradiated for 60s), a medium-dose PDT group (irradiated for 120s), and a high-dose PDT group (irradiated for 180s). The normal group was not given any intervention, and the PDGF-BB group was starved overnight and then

stimulated for 24h by adding fresh medium containing 20 μ g/L of PDGF-BB. The curcumin group was first given the same intervention as the PDGF-BB group, and then placed in a medium containing 20 μ mol/L of curcumin for 6h. The PDT groups were first given the same intervention as the curcumin group, and then irradiated using a 425nm laser after removal of the medium. A CCK8 cell counting kit was used to detect the survival rate of VSMCs in the PDT groups after irradiation with the different laser doses. VSMC proliferation was detected using 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EDU) positive labeling. The cell cycle was observed using flow cytometry, and the expression levels of related phosphorylated proteins of the PI3K/AKT pathway and proliferating cell nuclear antigen were detected using western blotting. **Results** The CCK-8 counts suggested that 120s was the optimum irradiation dose. The cell survival rates in the medium-dose and high-dose PDT groups were significantly different from the PDGF-BB group's average. The proportion of proliferating cells in the PDT groups was significantly lower than in the PDGF-BB group. The proportion of cells in the G0 or G1 phase was significantly lower in the PDT group than in the normal group, while that in the G2 or M phase was significantly higher than in the normal and PDGF-BB groups. The expression of proliferating cell nuclear antigen and the phosphorylated proteins of the PI3K/AKT pathway had decreased significantly in the PDT group compared with the PDGF-BB group. **Conclusion** CUR-mediated PDT inhibits PDGF-BB-induced proliferation of vascular smooth muscle cells, probably by down-regulating the expression of phosphorylated proteins related to the PI3K/AKT pathway.

【Key words】 Curcumin; Photodynamic therapy; Platelet-derived growth factor BB; Vascular smooth muscle cells; Cell proliferation

Funding: China's National Natural Science Foundation (81871853); the Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2020jcyj-msxmX0484)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2024.05.002

心血管疾病是一组以高致残率和高死亡率为特征的疾病,严重威胁着人类健康,现已成为世界范围内主要的死亡原因之一^[1]。随着人口老龄化的加剧,动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)和其他脑血管相关疾病的发病率持续上升,且已经成为心血管疾病的重要因素。AS复杂的病理变化涉及血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)的增殖和迁移^[2]。VSMCs是血管壁的组成成分之一,其增殖在AS和血管再狭窄中起着至关重要的作用。在细胞内外的各种理化刺激下,VSMC会从生理性的收缩表型转换为病理性的合成表型,并迁移到内膜开始增殖,而这一系列的活动可直接导致内膜开始增厚狭窄甚至栓塞,引发多种血管病变^[3]。因此,VSMCs的增殖活动异常活跃是AS、血管再狭窄、血管重构等变化的关键性因素,而维持VSMCs的正常和适度增殖对血管生理功能的调节非常重要,同时也为防治AS和血管再狭窄等血管增殖性病变的提供了新的治疗思路^[3]。

研究发现,当血管响应各种伤害性刺激所引起的血管损伤时,VSMCs的增殖能力会受到多种因素的调节,包括血管紧张素-Ⅱ、白介素-Ⅰ、血小板衍生生长因子-BB(platelet-derived growth factor-BB, PDGF-BB)等^[4]。有研究提出,PDGF-BB是最强力的细胞有丝分裂原之一,可强烈促进血管平滑肌细胞增殖,并参与AS的进展和血管成形术后的再狭窄^[5-6]。在成熟正常的血管中,一般难以或仅可检测到极低水

平的PDGF-BB的表达;相反地,在AS和血管再狭窄的病变中,PDGF-BB的表达会明显高于正常血管^[7],且在动脉粥样硬化斑块中,PDGF-BB的表达水平也会明显增加,而VSMCs的增殖则随之加剧^[8]。上述研究验证了PDGF-BB强烈的促增殖作用与AS和血管再狭窄密切相关的说法^[9]。

基于以上研究,本课题组设想,抑制VSMCs的增殖在某种程度上可能会对AS和血管再狭窄起到一定的保护作用。姜黄素(curcumin, CUR)是一种传统的中药成分,是从姜黄的根茎中提取出来的,不仅具有抗炎、抗氧化和抗肿瘤的药理作用^[10],还具有良好的光敏性,是一种有应用前景的光敏剂^[11]。光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是一种通过氧依赖的光化学活动破坏病变组织的治疗方法,可直接或间接地诱导细胞死亡。有研究表明,PDT治疗对浅表肿瘤有较好的疗效,可延缓动脉粥样硬化斑块的进展和内膜增生的程度^[12-13]。磷酸酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol3-kinase, PI3k)/丝苏氨酸蛋白激酶(AKT)信号通路是广泛存在于细胞中,参与调控细胞生长、增殖的重要信号转导通路^[14]。血管平滑肌细胞的增殖与PI3K/AKT信号通路的调控密切相关^[15-16],提示可能通过调控PI3K/AKT通路影响血管平滑肌细胞的增殖。本研究旨在观察CUR介导的光动力作用通过PI3K/AKT信号通路对PDGF-BB诱导的血管平滑肌细胞增殖的影响,以期对心血管疾病的康复提供新的治疗思路和理论支持。

材料与amp;方法

一、主要实验试剂和仪器

CUR 购自美国 Sigma 公司,将其溶于二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)中,并避光保存于 -20°C 低温环境中。大鼠 PDGF-BB 和小鼠 PDGF-BB 分别购自中国金斯瑞生物科技公司和美国 PeproTech 公司。首先将 PDGF-BB 溶解在无菌水中,然后用海藻糖溶液稀释到特定浓度($20\ \mu\text{g}/\text{ml}$)后,于 -80°C 环境储存备用。常规试剂如 Dulbecco's 高糖培养基(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)、胎牛血清购于美国 Gibco 公司,细胞增殖毒性检测试剂盒(Cell Counting Kit-8, CCK8)购自美国 MCE 公司,5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(5-ethynyl-2'-deoxyuridine, EDU)细胞增殖检测试剂盒购于中国碧云天公司。 β -actin 内参抗体、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)抗体、磷酸化 p-mTOR 抗体购于美国 CST 公司。p-PI3K 抗体、p-Akt 抗体购于北京 BIOSS 生物技术公司。425 nm 激光光源(功率密度为 $40\ \text{mW}/\text{cm}^2$)购于重庆京渝激光技术有限公司。

二、细胞培养和分组方法

大鼠胸主动脉平滑肌细胞系(A7R5)和小鼠主动脉平滑肌细胞系(MOVAS)使用含有 10% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)和 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 培养基培养,然后置于含有 5% CO_2 的湿润恒温(37°C)环境下传代培养。用 0.05% 胰蛋白酶消化并收集对数生长期细胞,并将细胞接种到 6 孔板或 35 mm 的培养皿中,待细胞融合度至 80% 时,采用 $20\ \mu\text{g}/\text{L}$ 的 PDGF-BB 对细胞进行刺激,诱导体外细胞增殖模型。将细胞分为对照组、PDGF-BB 组、姜黄素组、光动力组,光动力组再根据照射剂量的不同,又分为低剂量光动力组(照射 60 s)、中剂量光动力组(照射 120 s)、高剂量光动力组(照射 180 s),共 3 个亚组。

三、干预方法

对照组为正常血管平滑肌细胞,除饥饿过夜外,不予任何刺激,PDGF-BB 组饥饿过夜后加入含 $20\ \mu\text{g}/\text{L}$ 的 PDGF-BB 的新鲜培养基刺激 24 h,姜黄素组先给予与 PDGF-BB 组相同的干预,然后换液加入含 $20\ \mu\text{mol}/\text{L}$ CUR 的新鲜培养基刺激 6 h,光动力组先给予与姜黄素组相同的干预,再换液后采用 425 nm 激光对光动力组各亚组进行对应时长的激光照射。

四、检测方法

1. 各组细胞存活率测定方法:PDGF-BB 和 CUR 实验浓度确定,分别为 $20\ \mu\text{g}/\text{L}$ 、 $20\ \mu\text{mol}/\text{L}$ ^[17]。本研究不同的激光照射时间 60 s、120 s、180 s,分别对

应的能量密度为 $2.4\ \text{J}/\text{cm}^2$ 、 $4.8\ \text{J}/\text{cm}^2$ 、 $7.2\ \text{J}/\text{cm}^2$ 。用 CCK-8 法检测各组细胞的存活率。将 VSMCs 接种到 96 孔板中,每组设置 3~5 个重复的孔。在 37°C 、含 5% CO_2 的培养箱中培养 VSMCs,直到它们粘附在壁上。各组经对应的干预处理后,将所有细胞均采用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)清洗 2 次,然后在每个孔中加入 $100\ \mu\text{L}$ 含 CCK8 的 DMEM 培养基(DMEM : CCK-8 = 9 : 1)。在 37°C 、5% 的 CO_2 环境下,将细胞在黑暗中培养 0.5~4 h,用微板阅读器测量波长为 450 nm 的吸光度,最后,根据细胞增殖情况得出 VSMCs 的存活率,依据该结果选择本研究中光动力组的激光照射剂量。存活率 = (实验组平均 OD 值 - 空白对照组平均 OD 值) / (阴性对照组平均 OD 值 - 空白对照组平均 OD 值) \times 100%。

2. 4 组细胞增殖活性检测方法:将 4 组 VSMCs 与预先制好的 $10\ \mu\text{mol}/\text{L}$ EDU 工作液在 37°C 的环境中孵化 2 h。用 4% 多聚甲醛(paraformaldehyde, PA)固定细胞约 15 min,再用含有 0.5% 曲拉通 X-100(Triton X-100)的 $1\times$ PBS 清洗细胞 5 次,每次清洗 3 min(细胞透化)。将 Triton 清洗液移至适当的废物容器中后,将细胞与 Apollo 染色液混合在黑暗中孵育 30 min。最后,将固定的细胞用赫斯特荧光染料 33342(Hoechst 33342)染色 10 min。在荧光显微镜下观察每组细胞,EDU 将增殖的细胞标记为绿色,Hoechst 33342 将细胞核标记为蓝色。

3. 4 组细胞周期检测方法:将 4 组 VSMCs(1×10^6 /孔)接种到 6 孔板中,在 37°C 、5% CO_2 的潮湿环境中培养 24 h。然后,将细胞在无血清培养基中培养过夜,以实现 G0/G1 期的同步化。PDGF-BB 组、姜黄素组、光动力组经 PDGF-BB 刺激(对照组不用 PDGF-BB 刺激)24 h 后,加入 $20\ \mu\text{mol}/\text{L}$ CUR 的 1% 胎牛血清的新鲜培养基,处理 6 h,采用 PBS 清洗 2 次,光动力组经 425 nm 波长激光照射 120 s。采用 0.25% 胰蛋白酶消化 4 组 VSMCs,离心($1000\ \text{rpm}$, 5 min)并收集,然后用 1 mL 冷 PBS 清洗,并在 4°C 的 75% 冷乙醇中固定 24 h。固定后的细胞用 PBS 清洗 3 次,用碘化丙啶(propidium iodide, PI)和核糖核酸酶(Ribonuclease, RNase) A 染色 30 min。最后,用流式细胞仪分析各组细胞处于各个细胞周期的百分比。从细胞内染色体的倍数角度分类可以将细胞周期分为三期:G0/G1 期(DNA 复制之前,染色体 2N)、S 期(DNA 正在发生复制,染色体 2N-4N)、G2/M 期(DNA 复制完成,染色体 4N)。

4. Western blot 法检测方法:采用 Western blot 法检测 4 组细胞中 PCNA、p-PI3K、p-AKT、p-MTOR 的表

达情况。3 组细胞置于冰上数分钟后用细胞蛋白裂解液提取总蛋白,使用 BCA(Bicin-choninic Acid)蛋白定量法,测量各组的具体浓度。4 组获得的 30 μg 总蛋白经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离,并电转到聚偏氟乙烯(Polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上。然后用 5% 的脱脂牛奶在洗膜缓冲液(Tris buffered saline Tween, TBST)中封闭 2 h,并在 4℃ 环境下用以下蛋白一抗孵育过夜:抗 PCNA(1:1000)、抗 pMTOR(1:1000)、抗 pAKT(1:1000)、抗 pPI3K(1:10000)、抗 β-actin(1:1000)。最后,将膜与辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase, HRP)结合的第二抗体(7074, 1:2000, CST)在室温下孵育 1 h。然后用 TBST 缓冲液在摇床上快速洗膜 3 次,用增强型化学发光试剂(enhanced chemiluminescence, ECL)在凝胶成像仪上评估蛋白质条带。最后,选择 Image J 软件进行进一步的数据分析。

五、统计学方法

使用 GraphPad Prism 8.0 版软件对本研究所得数据进行分析。符合正态分布及方差齐性的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间差异利用单因素方差分析进行分析,组间差异采用两独立样本 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、各组 VSMCs 的存活率比较

图 1A 和图 1B 可见,中、高剂量光动力组血管平滑肌细胞的存活率显著低于 PDGF-BB 组和低剂量

光动力组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。中剂量光动力组血管平滑肌细胞的存活率虽然也低于高剂量光动力组,但 2 组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。低剂量光动力组血管平滑肌细胞的存活率与 PDGF-BB 组比较,组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。基于此,本研究选择中剂量光动力组中的光照时间 120 s 作为最佳光照剂量。

二、4 组 VSMCs 增殖活性比较

图 2 可见,PDGF-BB 组 VSMCs 的增殖活性均显著高于对照组($P < 0.05$),而光动力组 VSMCs 的增殖活性则显著低于 PDGF-BB 组($P < 0.05$),差异均有统计学意义。姜黄素组和光动力组 VSMCs 的细胞增殖活性与对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

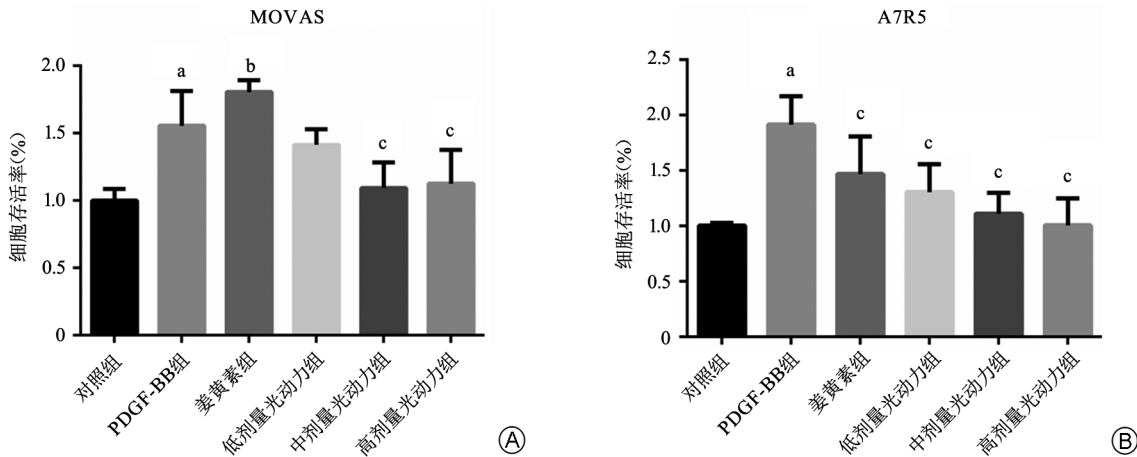
三、4 组 VSMCs 细胞周期检测结果

表 1 可见,在 G0/G1 期,PDGF-BB 组、姜黄素组、光动力组的 VSMCs 比例均显著低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);在 G2/M 期,光动力组的 VSMCs 比例均显著高于对照组和 PDGF-BB 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);在 S 期,PDGF-BB 组的 VSMCs 比例显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 4 组细胞周期检测结果(%, $\bar{x} \pm s$)

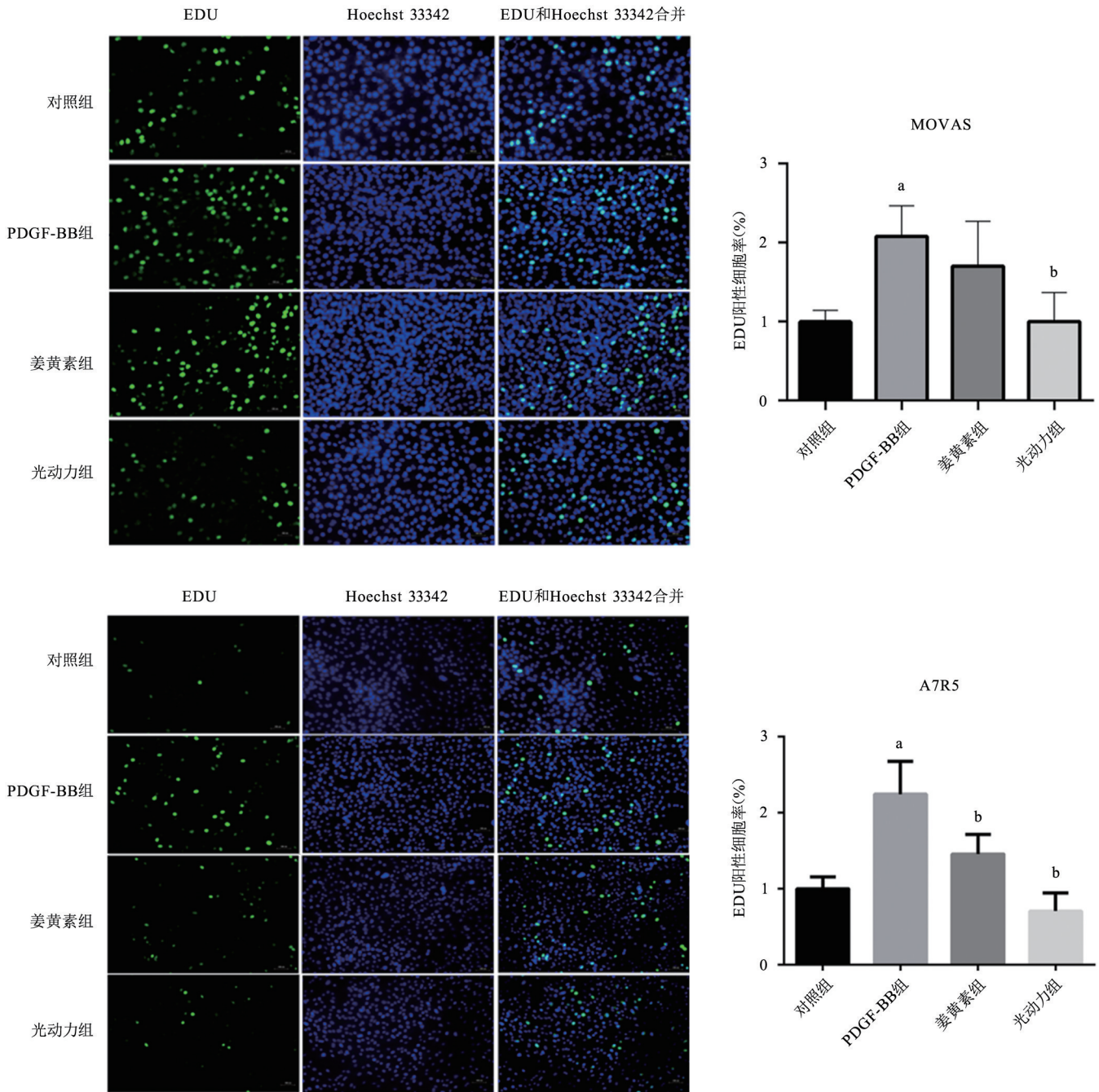
组别	G0/G1 期	G2/M 期	S 期
对照组	71.83±6.06	5.24±2.51	22.92±7.74
PDGF-BB 组	49.59±3.44 ^a	5.83±5.11	44.58±8.52 ^a
姜黄素组	50.68±11.43 ^a	17.91±6.27	31.41±5.27
光动力组	32.67±15.20 ^a	32.68±11.50 ^{ab}	34.65±8.00

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与 PDGF-BB 组相比,^b $P < 0.01$



注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与 PDGF-BB 组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$

图 1 各组 VSMCs 的存活率比较



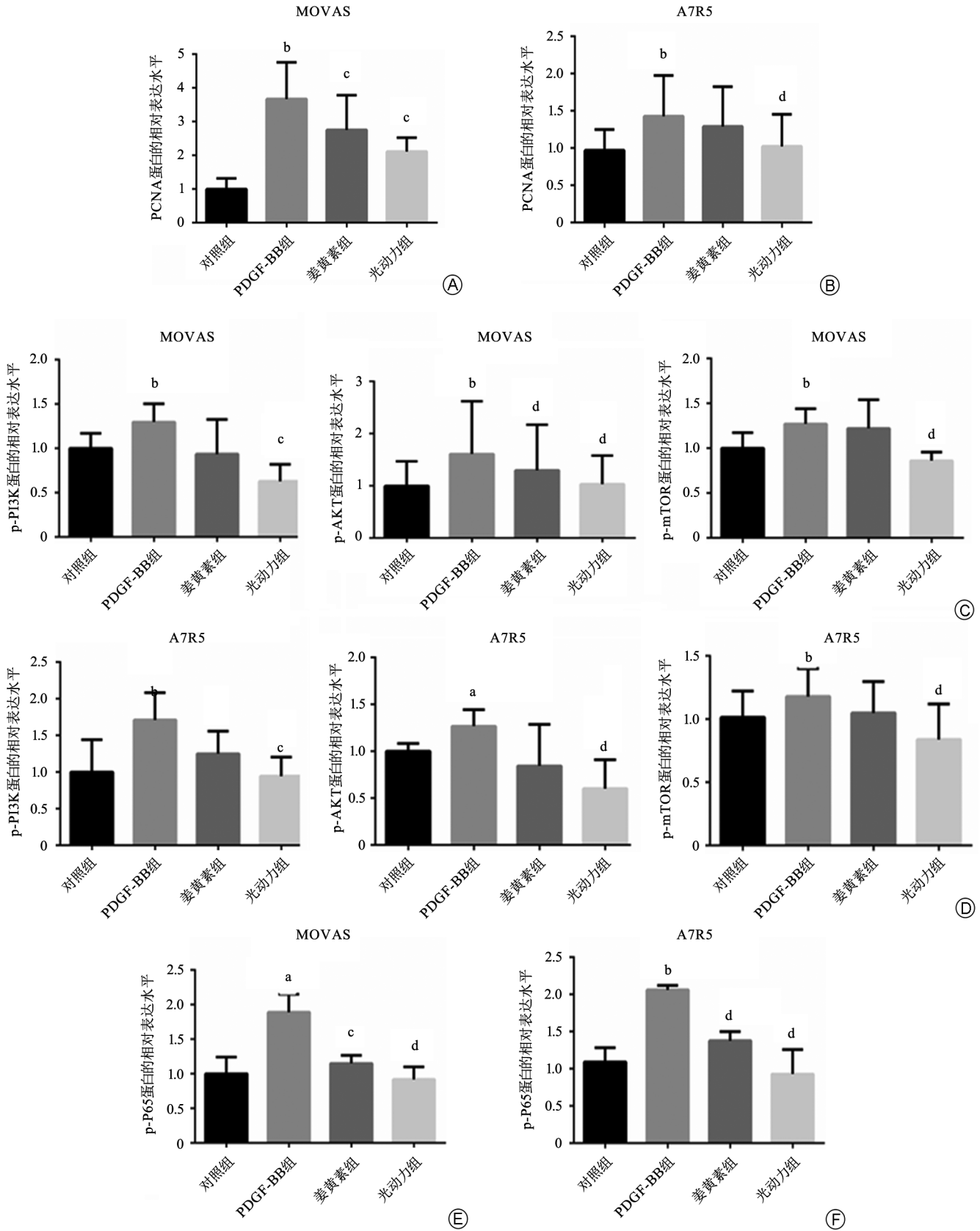
注:与对照组比较,^a $P<0.01$;与 PDGF-BB 组比较,^b $P<0.05$

图 2 4 组 VSMCs 增殖活性比较

四、4 组 VSMCs 的 PCNA 和 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白表达比较

图 3A 和图 3B 可见,PDGF-BB 组 VSMCs 中 PCNA 蛋白表达显著高于对照组($P<0.01$),光动力组 VSMCs 中 PCNA 的表达水平显著低于 PDGF-BB 组($P<0.05$),姜黄素组 VSMCs 中 PCNA 的表达水平虽然低于 PDGF-BB 组,但 2 组间差异无统计学意义($P>0.05$)。图 3C 和图 3D 显示,PDGF-BB 组 VSMCs 磷

酸-mTOR、磷酸-PI3K、磷酸-AKT 的蛋白表达水平显著高于对照组($P<0.01$),光动力组 VSMC 上述磷酸化蛋白表达显著低于 PDGF-BB 组($P<0.01$),姜黄素组 VSMCs 中上述磷酸化蛋白的表达水平与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。图 3E 和图 3F 可见,PDGF-BB 组 VSMCs 中磷酸-P65 蛋白的表达水平,明显高于对照组($P<0.05$)光动力中 VSMCs 中磷酸-P65 蛋白的表达水平明显低于 PDGF-BB 组($P<0.01$)。



注:A、B为PCNA蛋白分别在4组MOVAS和A7R5细胞中的表达水平;C、D为PI3K/AKT信号通路相关磷酸化蛋白分别在4组MOVAS和A7R5细胞中的表达水平;E、F为磷酸-P65分别在4组MOVAS和A7R5细胞中的表达水平;与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与PDGF-BB组相比,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

图3 4组VSMCs的PCNA和PI3K/AKT信号通路相关蛋白的表达

讨 论

本研究结果显示,光动力组增殖的阳性细胞比例显著低于 PDGF-BB 组 ($P < 0.05$),光动力组细胞在 G0/G1 期的比例明显低于对照组 ($P < 0.01$),而在 G2/M 期的比例则明显高于对照组和 PDGF-BB 组 ($P < 0.05$),且光动力组的 PCNA、PI3K/AKT 通路磷酸化蛋白的表达亦显著低于 PDGF-BB 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。上述结果提示,CUR 介导的 PDT 可能通过 PI3k/AKT 信号通路来抑制 PDGF-BB 诱导的 VSMCs 的增殖。

本课题组既往的研究发现,CUR 介导的 PDT 可以抑制 VSMCs 的迁移和表型转化,延缓 AS 的发展,其机制可能与抑制细胞自噬有关^[17]。目前,CUR 介导的 PDT 对 VSMCs 增殖能力的具体影响仍不清楚。VSMCs 的异常增殖是病理性血管重构发生和发展的主要表现,其参与了动脉粥样硬化、血管成形术后再狭窄等心脑血管疾病的形成^[18-19]。CUR 是一种从植物姜黄中提取的小分子量的酸性酚类物质,其不仅具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗动脉粥样硬化、降低血脂血黏度、抑制血小板聚集的药理作用,还具有光敏毒性,是光敏剂家族的一员^[20-21]。有证据表明,PDT 有助于降低 VSMCs 的过度增殖^[22]。从这个角度来看,对 CUR 介导的 PDT 对 VSMCs 增殖影响的研究,有望成为未来治疗增殖性血管疾病的发展方向。

据报道,PDGF-BB 可通过介导细胞内信号通路来启动一系列的生物效应,从而调节 VSMCs 的迁移和增殖^[23]。在这些信号通路中,PI3K/AKT/mTOR 通路是一条与细胞增殖有关的经典信号通路,且在 AS 的进展中,PDGF-BB 对 VSMCs 的刺激作用可以介导 PI3K 的磷酸化和下游蛋白 mTOR 的激活^[24]。研究发现,mTOR 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,是 AKT 的下游效应器,其在调节细胞增殖、代谢中也起着关键作用,是参与调节 PI3K/AKT/mTOR 途径的重要蛋白^[25]。该研究还指出,mTOR 的激活可以导致内皮功能紊乱、泡沫细胞的形成和 VSMC 的增殖,进一步助力 AS 的发生和发展^[25]。相应地,抑制 mTOR 蛋白的表达可以减少 VSMCs 的增殖和迁移,抑制内膜增生和增厚。本研究结果中,在 G2/M 期,光动力组的 VSMCs 比例均显著高于对照组和 PDGF-BB 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),该结果提示,CUR 介导的 PDT 抑制细胞增殖的机制可能与 G2/M 期细胞比例的上调有关,即细胞的增殖与细胞周期的进展有关^[23]。

综上所述,CUR 介导的 PDT 可以通过影响 PI3K/AKT 信号通路来抑制 VSMCs 的增殖,这可能为临床治疗血管平滑肌增生性疾病提供潜在的理论依据。值得

注意的是,本课题组在研究中发现,在 PDGF-BB 的刺激下磷酸化的 P65 蛋白表达显著上调,该结果提示,CUR 介导的 PDT 抑制 VSMCs 增殖的机制可能涉及 NF- κ B 途径,这个猜想还需要进一步的研究来验证。此外,本研究仍存在一些不足之处,如缺乏动物实验结果和临床证据,同时部分实验(如 PCR 实验和加用 PI3K 信号通路激活剂的 Western blot 实验)由于经费、时间、场所等客观因素的限制无法顺利启动和进行,本课题组希望在今后的研究中尽可能地补充,并加以改进和完善。

参 考 文 献

- [1] Rana JS, Khan SS, Sidney S, et al. Changes in mortality in top 10 causes of death from 2011 to 2018 [J]. Gen Intern Med, 2021, 36 (8): 2517-2518. DOI: 10.1007/s11606-020-06070-z.
- [2] Björkegren JLM, Lusis AJ. Atherosclerosis: recent developments [J]. Cell, 2022, 185 (10): 1630-1645. DOI: 10.1016/j.cell.2022.04.004.
- [3] Feng S, Gao L, Zhang D, et al. MiR-93 regulates vascular smooth muscle cell proliferation, and neointimal formation through targeting Mfn2 [J]. Int J Biol Sci, 2019, 15 (12): 2615-2626. DOI: 10.7150/ijbs.36995.
- [4] 柳丽,黄菁菁,李晓庆等.血管平滑肌细胞增殖在动脉粥样硬化中的研究进展 [J].实用老年医学, 2021, 35 (4): 414-418. DOI: 10.3969/j.issn.1003-9198.2021.04.025.
- [5] Hsuan CF, Lu YC, Tsai IT, et al. Glossogyne tenuifolia attenuates proliferation and migration of vascular smooth muscle cells [J]. Molecules, 2020, 25 (24): 5832. DOI: 10.3390/molecules25245832.
- [6] Dong X, Hu H, Fang Z, et al. CTRP6 inhibits PDGF-BB-induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 103 (7): 844-850. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.04.112.
- [7] Huang M, Dong Y, Sun G, et al. Circ-Sirt1 inhibits vascular smooth muscle cells proliferation via the c-Myc/cyclin B1 axis [J]. Cell Biol Int, 2022, 46 (4): 628-636. DOI: 10.1002/cbin.11758.
- [8] 王晋宇,靳春荣,王俊莹,等.脂餐负荷前后 PDGF-BB、TGF- β 1 变化及其与动脉硬化关系的研究 [J].中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15 (18): 2. DOI: 10.3969/j.issn.1672-1349.2017.18.010.
- [9] Zhang M, Li Y, Xie H, et al. Curcumin inhibits proliferation, migration and neointimal formation of vascular smooth muscle via activating miR-22 [J]. Pharm Biol, 2020, 58 (1): 610-619. DOI: 10.1080/13880209.2020.1781904.
- [10] Moballeggh Nasery M, Abadi B, Poormoghadam D, et al. Curcumin delivery mediated by bio-based nanoparticles: a review [J]. Molecules, 2020, 25 (3): 689. DOI: 10.3390/molecules25030689.
- [11] Sala de Oyaguren FJ, Rainey NE, Moustapha A, et al. Highlighting curcumin-induced crosstalk between autophagy and apoptosis as supported by its specific subcellular localization [J]. Cells, 2020, 9 (2): 361. DOI: 10.3390/cells9020361.
- [12] Pellegrini M, Staurengi G, Mambretti M, et al. Double fluence photodynamic therapy for the treatment of circumscribed choroidal hemangioma [J]. Retina, 2022, 42 (4): 767-774. DOI: 10.1097/IAE.0000000000003373.
- [13] Ashkbar A, Rezaei F, Attari F, et al. Treatment of breast cancer in

- vivo by dual photodynamic and photothermal approaches with the aid of curcumin photosensitizer and magnetic nanoparticles[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 21206. DOI: 10.1038/s41598-020-78241-1.
- [14] Hao Q, Gao L, Niu W, et al. POTEe stimulates the proliferation of pancreatic cancer by activating the PI3K/Akt/GSK-3 β / β -catenin signaling[J]. *BioFactors*, 2020, 46(4). DOI:10.1002/biof.1640.
- [15] 石岩刚. miR-106b 通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对 Hcy 诱导的 VSMCs 细胞增殖和迁移的影响[J]. *中国现代医药杂志*, 2020, 22(7): 4. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9463.2020.07.002.
- [16] 李敏静, 郭莉, 陈晔, 等. 血府逐瘀汤含药血清对低氧诱导的大鼠肺动脉平滑肌细胞增殖及 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2020, 40(7): 6. DOI: 10.7661/j.cjim.20200420.228.
- [17] Wang G, Zhu Y, Li K, et al. Curcumin-mediated photodynamic therapy inhibits the phenotypic transformation, migration, and foaming of oxidized low-density lipoprotein-treated vascular smooth muscle cells by promoting autophagy[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2021, 78(2): 308-318. DOI: 10.1097/FJC.0000000000001069.
- [18] Li L, Li Y, Tang C. The role of microRNAs in the involvement of vascular smooth muscle cells in the development of atherosclerosis[J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(10): 1102-1112. DOI: 10.1002/cbin.11164.
- [19] Pignatelli, Pasquale et al. Oxidative stress and cardiovascular disease: new insights[J]. *Kardiol Pol*, 2018, 76(4): 713-722. DOI: 10.5603/KP.a2018.0071.
- [20] 陈晓, 陈长曦, 高瞻, 等. 姜黄素通过激活 NRF2-DDAH-ADMA-NO 途径抑制内皮间质化改善心脏纤维化[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(03): 745-752. DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20211019.701.
- [21] 靳维维, 吕丹亚, 樊陈莉, 等. 光动力疗法中光敏剂的研究进展[J]. *广东化工*, 2022, 49(18): 76-77. DOI: 1007-1865(2022)18-0076-02.
- [22] Lin JS, Wang CJ, Li WT. Inhibitory effect of photodynamic therapy with indocyanine green on rat smooth muscle cells[J]. *Acta Cardiol Sin*, 2019, 35(1): 65-74. DOI: 10.6515/ACS.201901_35(1).20180731A.
- [23] Kim JY, Kim KH, Lee WR, et al. Apamin inhibits PDGF-BB-induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration through suppressions of activated Akt and Erk signaling pathway[J]. *Vascul Pharmacol*, 2015, 70(7): 8-14. DOI: 10.1016/j.vph.2014.12.004.
- [24] Yan H, Ma Y, Li Y, et al. Insulin inhibits inflammation and promotes atherosclerotic plaque stability via PI3K-Akt pathway activation[J]. *Immunol Lett*, 2016, 170: 7-14. DOI: 10.1016/j.imlet.2015.12.003.
- [25] Zhou M, Ren P, Zhang Y, et al. Shen-Yuan-Dan Capsule attenuates atherosclerosis and foam cell formation by enhancing autophagy and inhibiting the PI3K/Akt/mTORC1 signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 603. DOI: 10.3389/fphar.2019.00603.

(修回日期: 2024-04-12)

(本文编辑: 阮仕衡)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

中华医学会期刊管理部关于一稿两投和重复发表问题的处理原则

一稿两投(一稿多投)是指同样的文稿或实质性内容相同的文稿投寄给两个或两个以上的媒体。重复发表是指同样的文稿或实质性内容相同的文稿在两个或两个以上的媒体发表,无论是印刷版媒体还是电子媒体。

中华医学会系列期刊作为我国重要的医学信息源期刊,原则上不接受一稿两投或重复发表的论文,读者在这些期刊上所阅读的论文基本上都是原始的、首发的,除非声明是按作者和编辑的意图重新发表的。这一立场符合中国和国际版权法、道德规范及资源使用的成本效益原则。但这一政策并不妨碍下列论文向中华医学会系列期刊投稿:(1)已经被其他刊物退稿的论文;(2)发表初步报告后再发表完整的论文,如已在其他刊物或专业学术会议的论文汇编上发表过摘要;(3)在专业学术会议上宣读,但并未在其他刊物或会议汇编上全文发表或准备全文发表。因此,作者在向中华医学会系列期刊投稿时,必须就以前是否投寄过或发表过同样或类似的文稿向编辑部作充分的说明,以免造成一稿两投或重复发表。如果文稿中部分内容已经发表,作者应在新的文稿中明确指出有关内容并列出相应的参考文献,同时将以前发表的文稿寄给编辑部,以便编辑部决定如何处理新的文稿。

如果出现一稿两投现象,且作者在投稿时没有作这方面的说明,编辑部将立即退稿;如果编辑部在发表前没有了解一稿两投的情况而造成重复发表,编辑部将在本刊发表有关该文稿系重复发表的声明。对于一稿两投或重复发表的情况,编辑部将向作者所在单位和该领域的其他科技期刊进行通报,同时,中华医学会系列期刊两年内将拒绝接受该论文第一作者所撰写的其他文稿。

作者向中华医学会系列期刊投稿并收到编辑部回执后 3 个月未接到退稿,则表明该稿件仍在处理中,如果作者欲投寄其他刊物,应事先与编辑部联系并征得编辑部的同意。作者向大众媒体、政府机构或生产厂商初步报告已被中华医学会系列期刊录用但尚未发表的论文的科学内容,是违反中华医学会系列期刊政策的,除非该论文报道的内容涉及到治疗方面的重大突破或对大众健康的严重危害,如药物、疫苗、其他生物制品、医疗器械等的严重副作用。在上述情况下提前透露文稿的内容,不影响该论文的发表,但应事先与编辑部讨论并征得同意。