

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250328004

引用格式: 李梦洁, 劳凤学, 王靖, 等. 玉米黄素对衣霉素诱导的内质网应激抑制作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(14): 222–229.

LI MJ, LAO FX, WANG J, *et al.* Study on the inhibitory effect of zeaxanthin on endoplasmic reticulum stress induced by tunicamycin [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(14): 222–229. (in Chinese with English abstract).

玉米黄素对衣霉素诱导的内质网应激抑制作用研究

李梦洁^{1,2}, 劳凤学², 王靖¹, 冯朵¹, 商迎辉^{2*}

(1. 农业农村部食物与营养发展研究所, 北京 100081; 2. 北京市生物活性物质和功能食品重点实验室, 北京联合大学功能因子与脑科学研究院, 北京 100191)

摘要: **目的** 探讨玉米黄素(zeaxanthin, Zea)对衣霉素(tunicamycin, TM)诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡、氧化应激、线粒体功能障碍及 Akt/GSK3 β 通路的影响。**方法** 分别设置空白对照组、TM 损伤组(5 μ g/mL TM)、Zea 组(5 μ mol/L Zea)和损伤加保护组(5 μ mol/L Zea 预处理+5 μ g/mL TM 进一步共处理), 采用流式细胞术检测胞内活性氧水平; 采用 Seahorse XF 细胞能量代谢仪分析线粒体功能障碍; 通过 Western Blot 法测定凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax, 氧化应激相关蛋白核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2-related factor, Nrf2)以及 Akt、p-Akt、GSK3 β 、p-GSK3 β 的表达量。**结果** Zea (5 μ mol/L)能对细胞凋亡发挥保护作用, 提高了抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达, 并降低了促凋亡蛋白 Bax/Bcl-2 比值; 缓解细胞氧化应激, 降低了 TM 诱导的细胞内活性氧水平, 上调了抗氧化蛋白 Nrf2 的表达; 提高了受损细胞的耗氧率, 增强了质子渗漏能力和备用呼吸能力。内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)使 Akt 活性降低, 同时下调其 Ser473 位点磷酸化水平, 进而削弱下游 GSK3 β Ser9 位点磷酸化水平, 导致 GSK3 β 活性增加, Zea 对 TM 引起的该通路变化具有缓解作用。**结论** Zea 通过多种机制显著缓解了 TM 诱导的内质网应激损伤, 具有预防和治疗阿尔茨海默病早期病理过程中的潜在应用价值。

关键词: 玉米黄素; 细胞凋亡; 氧化应激; Akt/GSK3 β 通路; 线粒体功能

Study on the inhibitory effect of zeaxanthin on endoplasmic reticulum stress induced by tunicamycin

LI Meng-Jie^{1,2}, LAO Feng-Xue², WANG Jing¹, FENG Duo¹, SHANG Ying-Hui^{2*}

(1. Institute of Food and Nutrition Development, Ministry of Agriculture and Rural Development, Beijing 100081, China;
2. Beijing Key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Foods, Institute of Functional Factors and Brain Science, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of zeaxanthin (Zea) on apoptosis, oxidative stress, mitochondrial dysfunction and Akt/GSK3 β pathway of SH-SY5Y cells induced by tunicamycin (TM). **Methods** The cells were

收稿日期: 2025-03-28

第一作者: 李梦洁(1997—), 女, 博士研究生, 主要研究方向为生物活性物质作用及疾病机制研究。E-mail: limj0804@126.com

*通信作者: 商迎辉(1967—), 女, 高级实验师, 主要研究方向为生物活性物质作用及疾病机制研究。E-mail: yinghui@bnu.edu.cn

divided into 4 groups: The control, TM-induced injury (5 $\mu\text{g/mL}$ TM), Zea (5 $\mu\text{mol/L}$ Zea) and injury plus protection group (5 $\mu\text{mol/L}$ Zea pretreatment+5 $\mu\text{g/mL}$ TM co-treatment). The intracellular reactive oxygen species level was detected by flow cytometry. Mitochondrial dysfunction was analyzed by Seahorse XF cell energy metabolism instrument. The expressions of apoptosis-related proteins Bcl-2 and Bax, oxidative stress-related proteins Nrf2, Akt, p-Akt, GSK3 β and p-GSK3 β were determined by Western Blot. **Results** Zea (5 $\mu\text{mol/L}$) exerted a protective effect against apoptosis, increased the expression of the anti-apoptotic protein Bcl-2 and decreased the pro-apoptotic protein Bax/Bcl-2 ratio; alleviated cellular oxidative stress, decreased TM-induced intracellular reactive oxygen species levels, and up-regulated the expression of the antioxidant protein nuclear factor E2-related factor (Nrf2); and increased the rate of oxygen consumption of the damaged cells, enhanced proton leakage capacity and spare respiratory capacity. Endoplasmic reticulum stress (ERS) decreased Akt activity, while down-regulating the phosphorylation level of its Ser473 site, which in turn weakened the phosphorylation level of the downstream GSK3 β Ser9 site, leading to an increase in GSK3 β activity, and Zea exerted a mitigating effect on TM-induced changes in this pathway. **Conclusion** Zea significantly alleviated TM-induced endoplasmic reticulum stress injury through multiple mechanisms, with potential applications in the prevention and treatment of Alzheimer's disease in the early pathological process.

KEY WORDS: zeaxanthin; apoptosis; oxidative stress; Akt/GSK3 β pathway; mitochondrial function

0 引言

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种慢性中枢神经系统退行性疾病,是痴呆症的类型之一,也是一种多因素脑部疾病,在症状出现前有 20 年或更长时间的潜伏期,症状出现后的 1~6 年内大脑的变化对人的影响是不明显的^[1-3]。《World Alzheimer Report》报告提到,全球每 3 s 就有一位痴呆症患者产生,目前至少 5000 万痴呆患者,预计 2050 年将达到 1.52 亿,其中 60%~70%是 AD 患者,在中国,预计 2050 年将超过 4000 万人,大多数 AD 患者在 65 岁之后发病^[1,4-5]。中国在步入老龄化的阶段后,AD 的患病率逐年升高,90 岁以上的老年人中约三分之一的老人患有 AD。这不但使 AD 患者深受其害,更给照顾者、家庭和公共卫生部门造成巨大负担^[5]。近年来针对 AD 治疗的新药研发旨在减轻症状、减缓疾病进程,临床试验中的药物仍然无法完全治愈本病,包括已在国内完成 3 期临床试验的 GV971^[6]与美国食品和药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的多奈哌齐等。AD 现已在全世界逐渐演变成成为非常棘手的医疗卫生问题,迫切需要研究开发针对 AD 患者的新疗法和新靶点。

多项研究表明,内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)作为 AD 的早期事件,与神经元内 A β 的产生密切相关^[7-8]。氧化应激也是 AD 发展的关键因素^[9-10],主要表现为产生的过量活性氧(reactive oxygen species, ROS),进一步导致机体线粒体损伤和功能障碍,从而加速神经元坏死。且研究人员发现,移植人牙髓干细胞能通过 Akt/GSK3 β /核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2-related factor, Nrf2) 通路缓解 AD 微环境中氧化应激和受损神经元^[11]。因此,研究 ERS 与氧化应激在 AD 发展中的作用具有重大意义。

玉米黄素是一种具有强抗氧化活性的类胡萝卜素,以中药枸杞子中含量最多^[12-15]。也多存在于万寿菊、玉米种子和绿色蔬菜等植物组织和一些光致性菌的光合膜中^[16]。其分子中的 11 个共轭双键与尾端基团的羟基,使得它们具有较强的抗氧化能力,从而保护器官免受氧化应激、细胞凋亡、线粒体功能障碍和炎症的影响,且存在 β 环,可能会防止 A β 形成或破坏 A β 的聚集,因此玉米黄素等类胡萝卜素可能具有预防和治疗 AD 的巨大潜力^[17-18](分子结构见图 1)。本研究通过探究玉米黄素对 SH-SY5Y 细胞的凋亡、氧化应激、线粒体功能及相关蛋白表达水平的影响,探讨玉米黄素对 AD 早期 ERS 的作用机制,为玉米黄素成为 AD 早期的有效治疗成分提供理论基础。

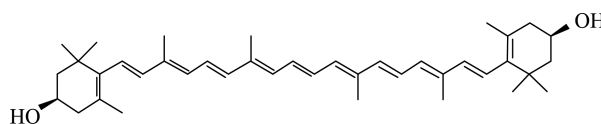


图 1 (3R,3'R)型玉米黄素的化学结构

Fig.1 Chemical structure of (3R,3'R)-type zeaxanthin

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

SH-SY5Y 细胞源自中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心。

衣霉素(tunicamycin, TM)(北京华越洋生物有限公司); 玉米黄素(纯度 85.7%, 上海源叶生物科技有限公司); RPMI 1640 培养液、胎牛血清(美国 Gibco 公司); 青霉素链霉素混合液(武汉赛维尔生物科技有限公司); Cell Mito Stress Test Kit(美国安捷伦科技有限公司); 二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量测定试剂盒、ROS 检测

试剂盒、ECL 化学发光检测试剂盒、辣根过氧化物酶山羊抗兔 IgG (H+L)(北京鼎国昌盛生物技术有限公司); 辣根过氧化物酶山羊抗鼠 IgG (H+L)(北京中杉金桥生物技术有限公司); Anti-GAPDH (14C10)(美国 Cell Signaling Technology 公司); Anti- β -actin(美国 Sigma 公司); Anti-Bcl2、Anti-phospho-Akt (Ser473)、Anti-GSK3 β (phospho Ser9)(美国 Abcam 公司); Anti-Akt(碧云天公司); Anti-Bax、Anti-Nrf2(北京博奥森生物技术有限公司)。

1.2 仪器与设备

CO₂培养箱(美国 Forma3110 系列); TE2000 型倒置显微镜(日本 Nikon 公司); 凝胶成像分析仪(日本 Image Quant RTECL 公司); FASCailbur 流式细胞仪(美国 BD 公司); Seahorse XF 能量代谢分析仪(美国 Agilent 公司); EN027015 电泳装置、043BR57802 转膜装置(美国 BIO-RAD 公司)。

1.3 方法

1.3.1 SH-SY5Y 细胞培养

将复苏后的 SH-SY5Y 细胞置于 1640 培养液(含 10% 胎牛血清, 1%青霉素-链霉素)中, 于 37 °C、5% CO₂ 的条件下培养。传代 2~3 次后, 待细胞状态良好且稳定, 即可用于后续实验。

1.3.2 建立损伤模型

选择生长状态良好的细胞, 经磷酸盐缓冲液(phosphate buffer, PBS)清洗后再用胰蛋白酶进行消化, 将细胞重悬混匀后计数, 根据实验需求将细胞接种于培养皿中, 使其在 37 °C、5% CO₂ 的条件下过夜培养后细胞密度能达到 70%~80%。再用 5 μ g/mL 的 TM 处理该细胞, 在 5% CO₂、37 °C 的条件下下孵育 24 h 诱导 ERS 模型。

1.3.3 细胞实验分组

实验分组设置为空白对照组、TM 损伤组、玉米黄素保护组、玉米黄素加 TM 组, 其中空白对照组不做任何处理; TM 损伤组用 5 μ g/mL 的 TM 处理 24 h; 玉米黄素保护组用 5 μ mol/L 玉米黄素预处理 6 h, 再培养 24 h; 玉米黄素加 TM 组为 5 μ mol/L 玉米黄素预处理 6 h 后, 再加入 5 μ g/mL TM 共处理 24 h。

1.3.4 ROS 检测

选择生长状态良好的细胞, 将其按 10⁶~2 \times 10⁷ mL 接种于 6 孔板中, 置于细胞恒温培养箱中过夜培养。次日, 按 1.3.3 所示实验分组加药处理, 并培养相应时间。按照 ROS 检测试剂盒说明书对样品进行处理, 取得样品后在流式细胞仪上检测细胞内 ROS 的水平。收集数据并于 FlowJo 10 软件进行分析。

1.3.5 线粒体功能检测

选择生长状态良好的细胞, 按 2 \times 10⁵ mL 接种在 XF24 孔培养板, 每孔 100 μ L, 待细胞贴壁后, 按 1.3.3 所示实验分组加药处理。上机检测前 1 d 需打开 Seahorse XF 能量代

谢分析仪, 预热整夜, 按照 Cell Mito Stress Test Kit 说明书制备分析培养基, 并用 Seahorse XF 校准液水化传感器探针板。检测当天按照 Cell Mito Stress Test Kit 说明书处理样品^[19], 运行仪器, 约 15~30 min 校准完成后, 将孵育好的 XF24 孔板放置其中, 开始检测。收集数据并于 wave 2.6.4 软件进行分析。

1.3.6 蛋白质免疫印迹

选择生长状态良好的细胞, 使其经过 1.3.3 所示实验分组处理培养后, 每组细胞能达到 10⁶ 个以上。用预冷的 PBS 清洗细胞 2 次, 再加入含有 1%磷酸化酶抑制剂的 RIPA 裂解液 60~100 μ L, 置于冰上 10 min, 使用细胞刮将其充分裂解, 收集至 1.5 mL EP 管, 继续冰上裂解 30 min, 期间多次振荡。裂解后的细胞 4 °C、12000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 用 BCA 法完成细胞蛋白的定量, 剩余蛋白样品按 4:1 的比例添加 5 \times SDS Loading Buffer, 沸水煮沸 5 min 使其变性, 取出放到室温, 置于-20 °C 储存备用。

将样品进行 SDS-PAGE 电泳, 电泳条件为浓缩胶 80 V, 分离胶 100 V。电泳完成后, 再将目标蛋白转移到聚偏氟乙烯膜上, 转膜条件为恒流条件 0.3 A 45~60 min。用 5%牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)封闭 2 h, 加入一抗, 4 °C 条件下摇晃过夜。次日, 用 TBST 缓冲液洗涤 3 次, 每次室温摇晃 10 min, 加入二抗, 室温摇晃 2 h, 再用 TBST 缓冲液洗涤 3 次。用 ECL 化学发光试剂盒处理聚偏氟乙烯膜, 在凝胶成像仪中拍摄。以 β -actin 和 GAPDH 为内参, 使用 Image J 1.51 软件进行分析。

1.4 数据处理

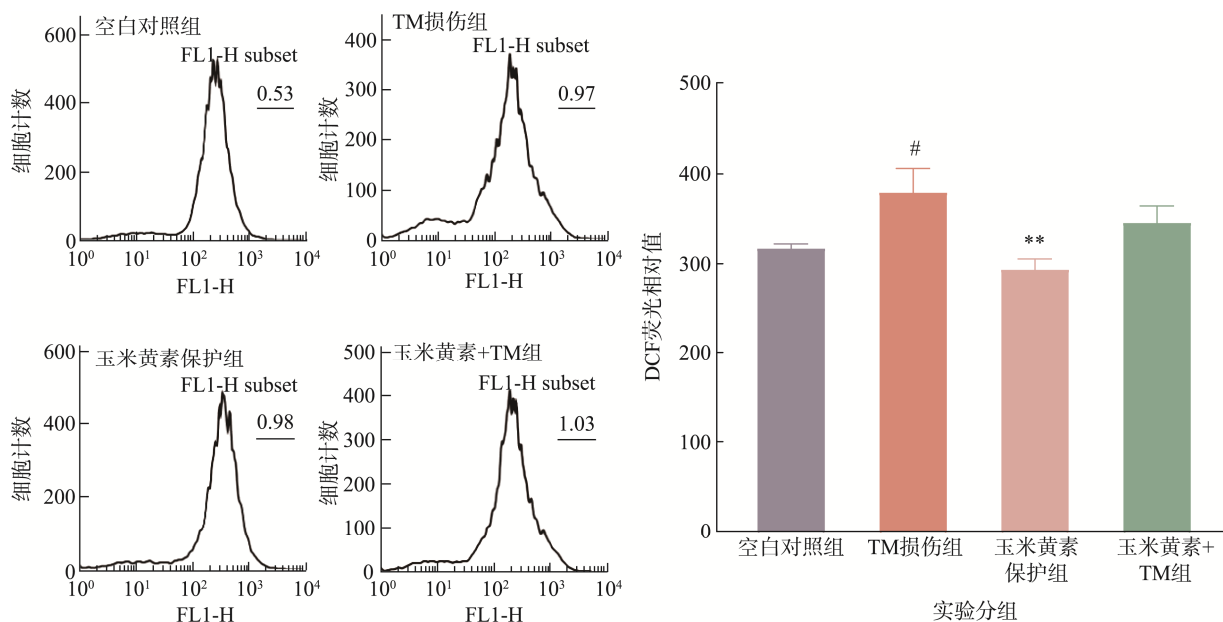
实验所得的所有结果均以平均值 \pm 标准偏差进行数据计算, 各分组进行 3 组及以上平行实验, 采用 SPSS .25 分析数据显著性, GraphPad Prism 8 软件制作图和表。实验结果用单因素方差分析, 多重比较完成分析, 差异显著表示为 $P<0.05$, 差异极显著表示为 $P<0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 玉米黄素对 TM 诱导的氧化应激的影响

2.1.1 玉米黄素降低 TM 诱导下 SH-SY5Y 细胞的 ROS 水平

ROS 的产生和内质网蛋白折叠机制是相互关联的。氧化还原稳态对于内质网中二硫键的产生和蛋白质的折叠至关重要。内质网通路的改变会导致稳态失衡并增加 ROS 的产生^[20]。采用流式细胞术检测 TM 诱导 SH-SY5Y 细胞发生 ERS 后, 细胞内 ROS 水平的变化。由图 2 可知, 与空白对照组相比, TM 处理后的细胞内 ROS 水平显著升高($P<0.05$), 与 TM 损伤组相比, 玉米黄素保护组的细胞 ROS 水平下降, 具有极显著差异($P<0.01$), 玉米黄素+TM 组的细胞 ROS 水平有下降, 但不具备显著性差异($P>0.05$)。因此可知, 玉米黄素可以降低 TM 引起的 ERS 条件下细胞内 ROS 水平。



注: #代表与对照组相比有显著性差异: #. ($P<0.05$); ##. ($P<0.01$); ###. ($P<0.005$). *代表与损伤组相比有差异: *. ($P<0.05$); **. ($P<0.01$); ***. ($P<0.005$), 下同。

图 2 玉米黄素对 SH-SY5Y 细胞 ROS 水平的影响
Fig.2 Effects of zeaxanthin on ROS levels in SH-SY5Y cells

2.1.2 玉米黄素上调 Nrf2 的表达

Nrf2 是内源性抗氧化反应的主要调节因子^[21]。研究表明, 氧化应激损伤参与 AD 的发病过程, 通过减少氧化应激可以降低 AD 模型小鼠脑内 Tau 蛋白磷酸化水平, 进而对神经元发挥保护作用^[22]。结果如图 3 所示, 与空白对照组相比, TM 损伤组 Nrf2 水平下降($P<0.01$), 与 TM 损伤组相比, 玉米黄素保护组的 Nrf2 水平显著上调($P<0.01$), 玉米黄素+TM 组有所恢复但不具备显著性。结果再次说明, 玉米黄素能够缓解 TM 引起的细胞氧化应激。

2.2 玉米黄素缓解 TM 诱导的细胞凋亡

Bcl-2 是抑制细胞凋亡的基因, Bax 是能够促进细胞凋

亡的基因^[23]。Bcl-2 基因编码的 Bcl-2 蛋白是细胞凋亡蛋白的一种, 主要定位于线粒体外膜、内质网膜和核膜上。且在内质网中能与 Beclin-1 相互结合从而抑制其免于被切割, 以此实现促进细胞自噬的功能^[24]。Bcl-2 和 Bax 基因通过线粒体参与细胞凋亡的内源性信号通路, 在细胞凋亡过程中起着相互拮抗的作用。当细胞发生损伤时, Bax 蛋白会被激活并转移到线粒体膜上, Bax/Bcl2 的比值呈增加的趋势, 因此 Bax 与 Bcl 的关联在调节细胞凋亡中起重要作用。为探究 ERS 期间, 两种凋亡蛋白表达的变化, 在此通过 Western Blot 检测 Bcl-2 与 Bax 的表达情况, 并对 Bax/Bcl-2 比值作出分析。结果如图 4 所示, 与空白对照组相比, TM 组 Bcl-2 的表达量显著下降($P<0.01$), 且 Bax/Bcl-2 的比值显

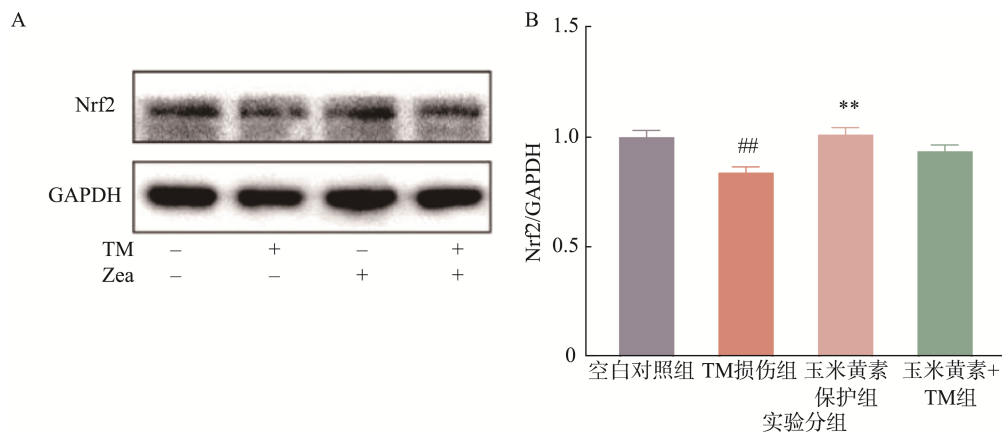


图 3 玉米黄素对 Nrf2 表达的影响
Fig.3 Effects of zeaxanthin on Nrf2 expression

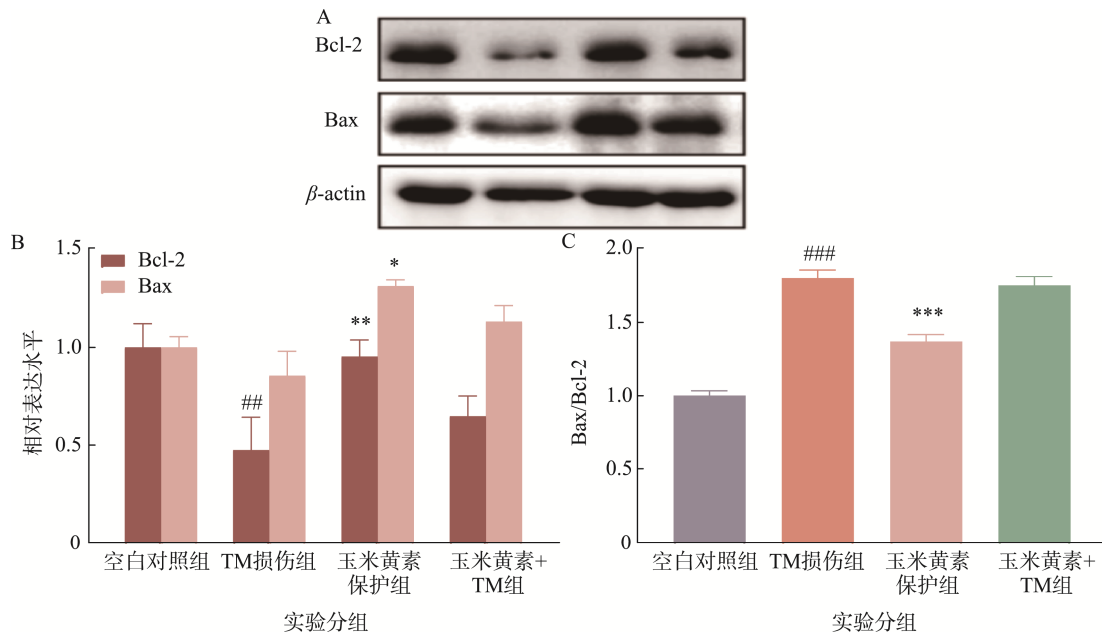


图 4 玉米黄素对 TM 诱导的凋亡中 Bcl-2 与 Bax 表达的影响

Fig.4 Effects of zeaxanthin on the expression of Bcl-2 and Bax in TM-induced apoptosis

著增加($P<0.01$), 玉米黄素预处理能缓解 TM 诱导的 Bcl-2 下降, 并能降低 Bax/Bcl-2 的比值。Bax 的表达情况同是, 但不具备显著性差异。结果表明玉米黄素能够提高 TM 引起的 Bcl-2 下调, 并在一定程度下调 Bax/Bcl-2 的趋势(图 4C), 对细胞凋亡发挥保护作用。

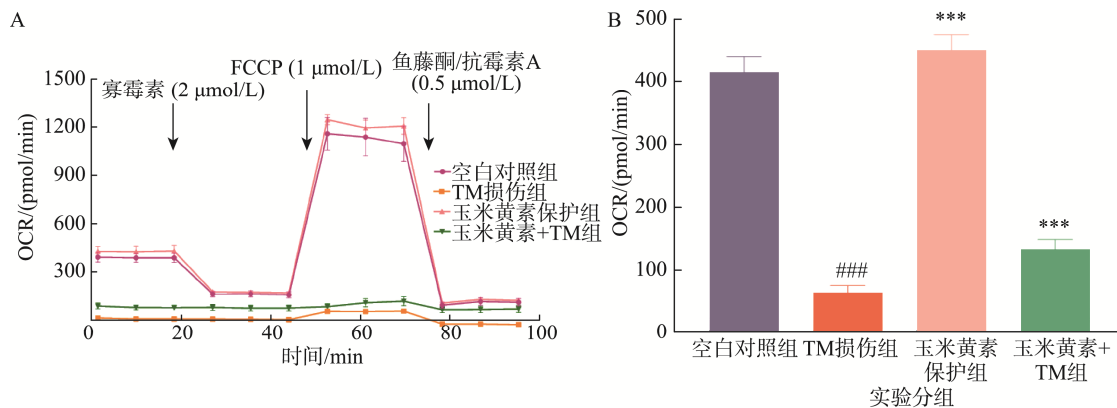
2.3 玉米黄素修复 TM 诱导下 SH-SY5Y 细胞的线粒体功能障碍

评估线粒体功能对于了解相关疾病及药物的开发至关重要, 耗氧率(oxygen consumption rate, OCR)是线粒体呼吸指标, 也是最重要的评估指标之一, 用来研究线粒体氧化磷酸化功能。在此本研究采用 Seahorse XFe24 Analyzer 来检测药物处理后各组细胞的 OCR 水平, 并分析相关指标, 以确定各药物对细胞线粒体氧化磷酸化过程的影响。

如图 5A 所示, 使用 TM 损伤 SH-SY5Y 细胞后, 细胞

基础呼吸能力下降、备用呼吸能力减弱, 总体呈下降趋势, 尤其在加入 FCCP 后的阶段, 损伤组与空白对照组间的 OCR 值差异更大。使用玉米黄素预处理, 细胞损伤有明显缓解($P<0.01$)。如图 5B 所示, 与 TM 损伤组相比, 细胞仅采用玉米黄素保护和预处理时, 线粒体耗氧率均显著上升($P<0.01$), 同时, 图 5C~D 所示, 与空白对照组相比, TM 损伤组的备用呼吸能力和质子渗漏能力均显著降低($P<0.01$)。与 TM 损伤组相比, 玉米黄素+TM 组的该类指标均显著升高($P<0.01$)。

综上所述, SH-SY5Y 细胞经 TM 损伤后, 耗氧率下降, 细胞在基础条件下的能量需求减弱, 线粒体发生损伤, 调节三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)产生的功能受损, 细胞适应性与灵活性下降; 玉米黄素预处理后, 以上症状均有缓解。



注: A. 不同时间的 OCR 曲线值; B. 不同处理下 OCR 柱状图。

图 5 玉米黄素对 TM 引起 SH-SY5Y 细胞损伤的线粒体压力的影响

Fig.5 Effects of zeaxanthin on mitochondrial pressure of SH-SY5Y cells damaged by TM

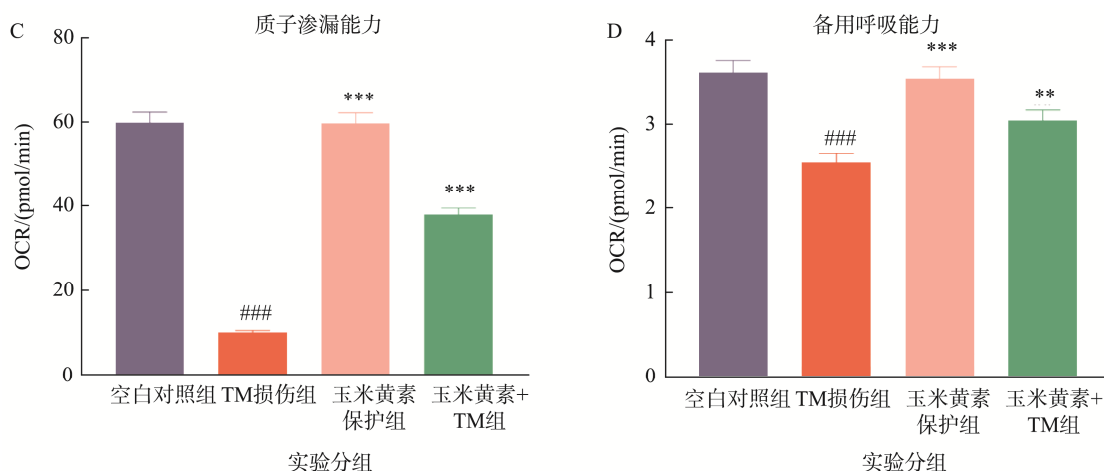


图 5(续) 玉米黄素对 TM 引起 SH-SY5Y 细胞损伤的线粒体压力的影响。
Fig.5 Effects of zeaxanthin on mitochondrial pressure of SH-SY5Y cells damaged by TM

2.4 玉米黄素对 Akt/GSK3β 通路的影响

Akt, 又称为蛋白激酶 B (protein kinase, PKB), 有两个磷酸化调控修饰的活性位点: Ser473 与 Thr308, 分别位于催化结构域(pH 结构域)和羧基末端调节域, Ser473 位点的磷酸化水平代表 Akt 的活性程度。在 AD 中, Akt 活性降低, 磷酸化水平减少。为了探究 ERS 对 Akt 活性的影响, 本研究通过 Western Blot 法检测 Akt 与 p-Akt 的相对表达量, 以及 Akt Ser473 位点的磷酸化水平与 Akt 表达的比值。结果如图 6 所示, 与 control 组相比, TM 处理能够显著降低 Akt 活性及其 Ser473 位点磷酸化水平($P<0.01$), 而玉米黄素可以缓解 Akt 活性上升和 TM 引起的 p-Akt/GAPDH、p-Akt/Akt 水平降低。因此, 在 TM 诱导的 ERS 模型中, 会发生 Akt 活性与其磷酸化水平下调, 玉米黄素对此具有缓解作用。

Akt 活化后, 能够通过其大量下游靶点调控细胞存活、增殖及代谢途径。其下游主要有 GSK3、FoxO 和 mTOR

3 个经典靶点, 其中, GSK3 是最重要的靶点。GSK3 具有 GSK3α 和 GSK3β 两种亚型^[25]。GSK3β 会在 Ser9 位点发生磷酸化而失活, 并且与 AD 中 Tau 蛋白磷酸化相关。为进一步研究 ERS 使 Akt 活性降低后对 GSK3β 活性的影响及玉米黄素的作用, 本研究对细胞内 GSK3β 与 GSK3β (Ser9)的磷酸化水平作出检测, 并分析 p-GSK3β/t-GSK3β 比值(图 6D)。结果如图 6D~E 所示, 与 Control 组相比, TM 处理可以极显著增加 GSK3β 的活性并极显著降低 GSK3β Ser9 位点磷酸化的水平($P<0.01$), 玉米黄素能够极显著降低由 TM 引起的 GSK3β 升高($P<0.01$)并显著提高 GSK3β (Ser9)的磷酸化水平($P<0.05$)。由此可知, ERS 与 Akt/GSK3β 通路之间存在这样的机制, TM 诱导 ERS 后, 使 Akt 活性降低, 同时使其 Ser473 位点磷酸化水平下调, 因此削弱了下游 GSK3β (Ser9)磷酸化水平, 导致 GSK3β 活性增加, 玉米黄素对 TM 引起的该通路变化具有缓解作用。

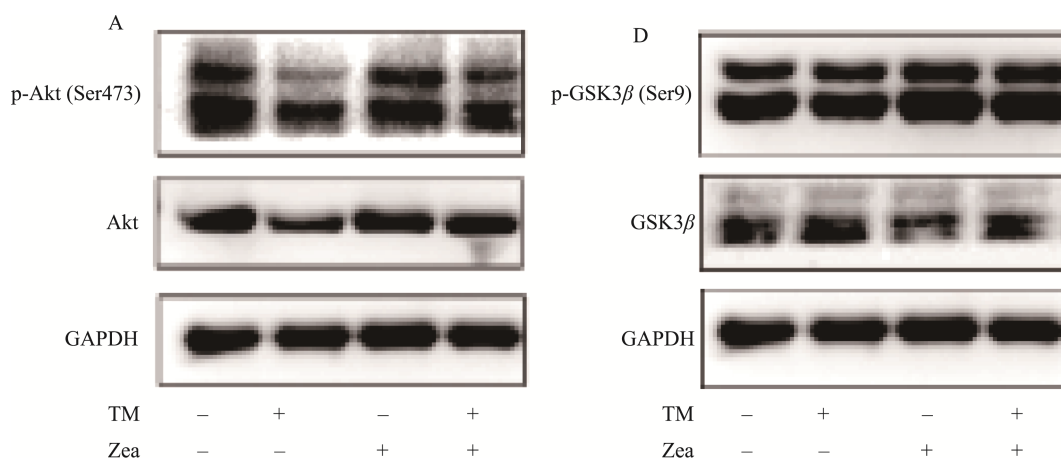


图 6 玉米黄素对 Akt/GSK3β 通路的影响
Fig.6 Effects of zeaxanthin on Akt/GSK3β pathway

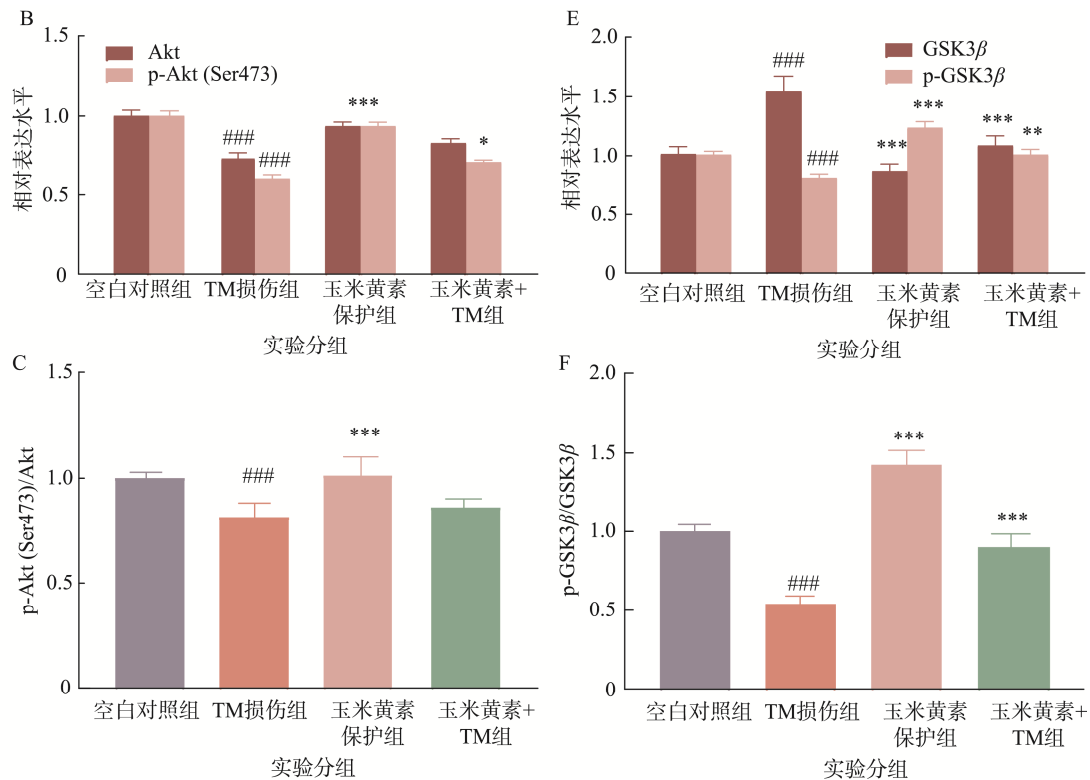


图 6(续) 玉米黄素对 Akt/GSK3 β 通路的影响
Fig.6 Effects of zeaxanthin on Akt/GSK3 β pathway

3 讨论与结论

在 AD 中, 首先受损的神经元是大脑中负责记忆、语言和思维的部分。但 AD 是一种进行性疾病, 会随着时间的推移而恶化, 更多的神经元受损, 大脑更多区域受到影响。从而使患者面临重大伤害和死亡的风险^[26-27], 同时也给家人和公共卫生部门造成巨大负担, 据估计, 按 2022 年美元计算, 照顾 AD 患者一生的总成本估计为 39 万余美元^[28]。

AD 的一个明显标志是由于涉及 ERS 的蛋白稳态变化导致蛋白质的不规则积累。在 AD 中, 由持续的细胞应激引起的错误折叠蛋白的积累会导致神经变性和神经元死亡。ERS 参与了 AD 的发生和发展, 并作为 AD 的早期事件, 与神经元内 A β 的产生密切相关^[7]。研究表明, ERS 可调控自噬、凋亡、周期过程^[29]。同时, 在原代培养的神经胶质细胞中, Akt 的激活受到 ERS 的双重调控: 短期暴露于 ERS 会增加 Akt 的活性, 但长期暴露于 ERS 会降低 Akt 的活性^[30]。因此, 探索 ERS 与 Akt 之间的机制对防治 AD 具有重要意义。

玉米黄素是一种具有强抗氧化活性的类胡萝卜素, 其分子结构中的基团使得它们具有较强的抗氧化能力, 有助于消除由复杂生理反应产生的自由基, 保护器官免受氧化应激、细胞凋亡、线粒体功能障碍和炎症的影响, 且具

备形成或破坏 A β 的聚集的功能^[17-18]。因此玉米黄素可能具有预防和治疗 AD 的巨大潜力。

本研究用 TM 处理 SH-SY5Y 细胞, 诱导细胞内 ERS 的发生, 研究玉米黄素通过细胞凋亡、氧化应激、线粒体功能、Akt/GSK3 β 通路对 ERS 的抑制作用。结果表明, 玉米黄素能够降低细胞内 ROS 的水平, 上调 Bcl-2 的表达, 并一定程度下调 Bax/Bcl-2 的趋势, 对细胞凋亡发挥保护作用。并且能提高耗氧率, 增强细胞适应性与灵活性。对 Akt/GSK3 β 的检测结果表明, 玉米黄素能上调 Akt 的表达及其 Ser 473 位点的磷酸化水平, 通过增强 GSK3 β Ser 9 位点的磷酸化来削弱 GSK3 β 的活性。

综上所述, 玉米黄素可能通过抗凋亡、抗氧化、抗线粒体损伤及 Akt/GSK3 β 通路发挥抑制 ERS 的作用, 具有预防和治疗 AD 早期病理过程中的潜在应用价值, 为开发基于玉米黄素的新型神经保护策略提供了科学支持。

参考文献

- [1] Alzheimer's Association. 2020 Alzheimer's disease facts and figures [M]. Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association, 2020. <https://www.x-mol.com/paper/1752028912892481536/t>
- [2] GUZMAN-MARTINEZ L, CALFÍO C, FARIAS GA, et al. New frontiers in the prevention, diagnosis, and treatment of Alzheimer's disease [J]. Journal of Alzheimer's Disease: JAD, 2021, 82(s1): s51-s63.
- [3] 肖昊翔, 李天, 彭帆, 等. 自噬在神经退行性疾病中的作用研究进

- 展[J]. 解放军医学杂志, 2019, 44(4): 341–346.
- XIAO HX, LI T, PENG F, *et al.* The molecular mechanism of autophagy and its research progress in neurodegenerative diseases [J]. Medical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2019, 44(4): 341–346.
- [4] Alzheimer's disease International, Christina Patterson. World Alzheimer report 2018 the state of the art of dementia research: New frontiers [R]. Alzheimer's Disease International, 2018. <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2018/>
- [5] Alzheimer's Association. 2019 Alzheimer's disease facts and figures [J]. Alzheimer's Association Journals, 2019, 15(3): 321–387.
- [6] WANG X, SUN G, FENG T, *et al.* Sodium oligomannate therapeutically remodels gut microbiota and suppresses gut bacterial amino acids-shaped neuroinflammation to inhibit Alzheimer's disease progression [J]. Cell Research, 2019, 29(10): 787–803.
- [7] GAO X, XU Y. Therapeutic effects of natural compounds and small molecule inhibitors targeting endoplasmic reticulum stress in Alzheimer's disease [J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2021, 9: 745011.
- [8] SATO K, TAKAYAMA KI, INOUE S. Expression and function of estrogen receptors and estrogen-related receptors in the brain and their association with Alzheimer's disease [J]. Frontiers in Endocrinology, 2023, 14: 1220150.
- [9] BUTTERFIELD DA, HALLIWELL B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease [J]. Nature Reviews Neuroscience, 2019, 20(3): 148–160.
- [10] DEWANJEE S, CHAKRABORTY P, BHATTACHARYA H, *et al.* Altered glucose metabolism in Alzheimer's disease: Role of mitochondrial dysfunction and oxidative stress [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2022, 193(Pt 1): 134–157.
- [11] XIONG W, LIU Y, ZHOU H, *et al.* Human dental pulp stem cells mitigate the neuropathology and cognitive decline via AKT-GSK3 β -Nrf2 pathways in Alzheimer's disease [J]. International Journal of Oral Science, 2024, 16(1): 40.
- [12] 周锋杰, 夏钰, 张艳海. 在线固相萃取-液相色谱法测定食品中 4 种类胡萝卜素含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(4): 209–214.
- ZHOU FJ, XIA Y, ZHANG YH. Determination of 4 kinds of carotenoids in foodstuffs by online solid phase extraction-liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(4): 209–214.
- [13] LI X, HOLT RR, KEEN CL, *et al.* Potential roles of dietary zeaxanthin and lutein in macular health and function [J]. Nutrition Reviews, 2023, 81(6): 670–683.
- [14] ZHAO B, LIU M, LIU H, *et al.* Zeaxanthin promotes browning by enhancing mitochondrial biogenesis through the PKA pathway in 3T3-L1 adipocytes [J]. Food & Function, 2021, 12(14): 6283–6293.
- [15] 唐媛, 康瑶, 於洪建, 等. 枸杞提取物中玉米黄质和叶黄素含量的高效液相测定方法[J]. 天津科技, 2024, 51(3): 21–25.
- TANG Y, KANG Y, YU HJ, *et al.* Determination of zeaxanthin and lutein in *Lycium barbarum* extract by HPLC [J]. Tianjin Science & Technology, 2024, 51(3): 21–25.
- [16] JIA YP, SUN L, YU HS, *et al.* The pharmacological effects of lutein and zeaxanthin on visual disorders and cognition diseases [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2017, 22(4): 610.
- [17] JOHRA FT, BEPARI AK, BRISTY AT, *et al.* A mechanistic review of β -carotene, lutein, and zeaxanthin in eye health and disease [J]. Antioxidants (Basel, Switzerland), 2020, 9(11): 1046
- [18] LAKEY-BEITIA J, DOENS D, JAGADEESH KUMAR D, *et al.* Anti-amyloid aggregation activity of novel carotenoids: Implications for Alzheimer's drug discovery [J]. Clinical Interventions in Aging, 2017, 12: 815–822.
- [19] FENG D, ZHOU SQ, ZHOU YX, *et al.* Effect of total glycosides of *Cistanche deserticola* on the energy metabolism of human HepG2 cells [J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1117364.
- [20] NAGAR P, SHARMA P, DHAPOLA R, *et al.* Endoplasmic reticulum stress in Alzheimer's disease: Molecular mechanisms and therapeutic prospects [J]. Life Sciences, 2023, 330: 121983.
- [21] TANG X, MA S, LI Y, *et al.* Evaluating the activity of sodium butyrate to prevent osteoporosis in rats by promoting osteal GSK-3 β /Nrf2 signaling and mitochondrial function [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(24): 6588–6603.
- [22] 张浩, 边诗宇, 高飞, 等. 天麻素对阿尔茨海默病小鼠的脑内氧化应激及 tau 蛋白磷酸化的影响[J]. 中国现代医生, 2020, 58(17): 33–36, 193.
- ZHANG H, BIAN SY, GAO F, *et al.* The effect of gastrodin on oxidative stress and tau protein phosphorylation in the brain of the mice with Alzheimer's disease [J]. China Modern Doctor, 2020, 58(17): 33–36, 193.
- [23] CARPENTER R, BRADY MF. BAX gene [M]. Treasure Island (FL), StatPearls, 2023.
- [24] XU HD, QIN ZH. Beclin 1, Bcl-2 and autophagy [J]. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2019, 1206: 109–126.
- [25] MIN HJ, KOH SS, CHO IR, *et al.* Inhibition of GSK-3 β enhances reovirus-induced apoptosis in colon cancer cells [J]. International Journal of Oncology, 2009, 35(3): 617–624.
- [26] QUIROZ YT, ZETTERBERG H, REIMAN EM, *et al.* Plasma neurofilament light chain in the presenilin 1 E280A autosomal dominant Alzheimer's disease kindred: A cross-sectional and longitudinal cohort study [J]. The Lancet Neurology, 2020, 19(6): 513–521.
- [27] BARTHÉLEMY NR, LI Y, JOSEPH-MATHURIN N, *et al.* A soluble phosphorylated tau signature links tau, amyloid and the evolution of stages of dominantly inherited Alzheimer's disease [J]. Nature Medicine, 2020, 26(3): 398–407.
- [28] ALZHEIMER' ASASSOCIATION. 2023 Alzheimer's disease facts and figures [J]. Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association, 2023, 19(4): 1598–1695.
- [29] KITO H, YAMAMURA H, SUZUKI Y, *et al.* Membrane hyperpolarization induced by endoplasmic reticulum stress facilitates Ca(2+) influx to regulate cell cycle progression in brain capillary endothelial cells [J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2014, 125(2): 227–232.
- [30] HOSOI T, HYODA K, OKUMA Y, *et al.* Akt up- and down-regulation in response to endoplasmic reticulum stress [J]. Brain Research, 2007, 1152: 27–31.

(责任编辑: 蔡世佳 于梦娇)