

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241025006

引用格式: 付万冬, 杨艳, 周宇芳, 等. n-3 多不饱和磷脂酰丝氨酸对大鼠海马神经元细胞的抗凋亡作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(2): 246–253.

FU WD, YANG Y, ZHOU YF, *et al.* Study on the anti-apoptotic effect of n-3 polyunsaturated phosphatidylserine on rat hippocampal neuron cells [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(2): 246–253. (in Chinese with English abstract).

n-3 多不饱和磷脂酰丝氨酸对大鼠海马神经元细胞的抗凋亡作用研究

付万冬¹, 杨艳², 周宇芳¹, 廖妙飞^{1*}

(1. 浙江省海洋开发研究院, 舟山 316021; 2. 中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266003)

摘要: 目的 研究 n-3 多不饱和磷脂酰丝氨酸对大鼠海马神经元细胞(rat hippocampal neurons cells, RHNC) 抗凋亡能力的影响。**方法** 以 RHNC 为对象, 以乙酸佛波酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)为诱导剂, 建立凋亡模型。以二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)/二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)型磷脂酰丝氨酸(DHA/EPA-phosphatidylserine, DHA/EPA-PS)为保护剂, 用吖啶橙染色后在激光共聚焦显微镜下观察细胞不同凋亡时期的形态。通过磷脂酰丝氨酸外翻实验(Annexin V-FITC/PI 双染实验), 在细胞水平研究以 DHA/EPA-PS 为代表的 n-3 多不饱和磷脂酰丝氨酸对 RHNC 的抗凋亡能力。**结果** 在 PMA 质量浓度为 10.0 mg/L、作用时间 24 h 条件下, 建立 RHNC 凋亡模型。15.0 mg/L DHA/EPA-PS 对 RHNC 的预保护效果最好, 此时早期、中期凋亡细胞较少且无晚期凋亡细胞, 凋亡率为 11.46%±4.11%, 细胞形态和核膜完整, 突起不受 PMA 的影响。**结论** 以 DHA/EPA-PS 为代表的 n-3 多不饱和磷脂酰丝氨酸对 RHNC 具有一定的抗凋亡作用。本研究可为磷脂酰丝氨酸的生物活性研究提供较好的数据支撑。

关键词: n-3 多不饱和磷脂酰丝氨酸; 海马神经元细胞; 抗凋亡

Study on the anti-apoptotic effect of n-3 polyunsaturated phosphatidylserine on rat hippocampal neuron cells

FU Wan-Dong¹, YANG Yan², ZHOU Yu-Fang¹, LIAO Miao-Fei^{1*}

(1. Zhejiang Ocean Development Research Institute, Zhoushan 316021, China;
2. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

ABSTRACT: Objective To study the effect of n-3 polyunsaturated phosphatidylserine on the anti-apoptotic ability of rat hippocampal neuron cells (RHNC). **Methods** An apoptosis model using RHNC as the target and phorbol acetate (PMA) as the inducer was established. Using docosahexaenoic acid (DHA)/eicosapentaenoic acid (EPA) phosphatidylserine (DHA/EPA-PS) as a protective agent, the morphology of cells at different stages of apoptosis was observed under a laser confocal microscope after staining with acridine orange. The effect of n-3 polyunsaturated

收稿日期: 2024-10-25

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目(LGN21C200001)

第一作者: 付万冬(1979—), 男, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为水产养殖及加工。E-mail: fuwandong@126.com

*通信作者: 廖妙飞(1984—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为海洋生物资源开发与利用。E-mail: miaofeiliao@163.com

phosphatidylserine, represented by DHA/EPA-PS, on the anti-apoptotic ability of RHNC was studied at the cellular level through the Annexin V-FITC/PI double staining experiment. **Results** An RHNC apoptosis model with a PMA concentration of 10.0 mg/L and an action time of 24 hours was established. The 15.0 mg/L DHA/EPA-PS showed the best cell pre protection effect, with an apoptosis rate of $11.46\% \pm 4.11\%$. Early and mid-stage apoptotic cells were fewer and did not produce late stage apoptotic cells. Cells pre protected with 15 mg/L DHA/EPA-PS exhibited intact morphology and nuclear membrane, and their protrusions were not affected by PMA. **Conclusion** n-3 polyunsaturated phosphatidylserine, represented by DHA/EPA-PS, has certain anti-apoptotic ability against RHNC. The study provides good data support for future research on the biological activity of phosphatidylserine.

KEY WORDS: n-3 polyunsaturated phosphatidylserine; hippocampal neurons cells; anti-apoptotic

0 引言

n-3 多不饱和脂肪酸(n-3 polyunsaturated fatty acids, n-3 PUFAs)是一类人体正常生理活动所必需但不能自身合成的脂肪酸,需从大豆油、菜籽油、海藻、深海鱼类、坚果等食物中摄取,其中具代表性为二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)和二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)。n-3 PUFAs 作为大脑营养物质,能通过保护神经达到改善大脑功能的效果^[1-5],对阿尔茨海默病模型记忆损伤和神经病理变化具有延缓作用^[6],能调节小胶质细胞激活及改善小鼠学习记忆能力^[7],同时对抑郁症患者的治疗有较好的辅助功能^[8]。

磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)是构成细胞膜的重要磷脂组份之一,存在于所有的动物、高等植物及微生物的生物膜中。它通过刺激多巴胺的释放,增加神经递质乙酰胆碱的产生,增强脑葡萄糖代谢,降低氢化可的松的水平,增强神经生长因子的活性等实现对神经细胞维持、修复作用^[9],同时能改善记忆力和认知力^[10]。因此 PS 作为一种高效营养补充剂添加于婴幼儿奶粉中。

n-3 多不饱和磷脂酰丝氨酸是 n-3 PUFAs 形式的磷脂在磷脂酶 D 作用下与 L-丝氨酸发生转酯反应制得的一种富含 n-3 PUFAs 的磷脂酰丝氨酸,其主要代表是:以南极磷虾油中 DHA、EPA 型磷脂为原料通过酶法合成^[11-12]的 DHA/EPA-PS。

有研究表明,单纯地服用 DHA 会造成胃肠的负担,而且不容易通过血脑屏障^[13],当 DHA 连接到溶血磷脂甘油骨架的 2 位时,其吸收效率是非酯化 DHA 的 10 倍^[14];在活性功能方面,DHA 与 PS 结合后才能对 2A 细胞发挥保护功能,DHA 与磷脂酰丝氨酸相互协调作用对神经保护效果更为理想;DHA、EPA 作为 n-3 PUFAs,与 PS 在辅助改善记忆力、促进脑损伤修复和增强免疫能力功能的作用存在相互配伍^[15]。因此,在化学结构上具有 n-3 PUFAs 结构的 n-3 多不饱和磷脂酰丝氨酸则成为在脑神经营养、生物活性及机理等相关研究的热点。

海马是学习记忆的关键部位,与许多变性疾病如老年性痴呆、癫痫、脑缺血缺氧损伤和兴奋性氨基酸损伤等

的病理相关联^[16-18],而这些急慢性脑损伤过程中脑组织产生的自由基(如 $\cdot O_2^-$ 、 $\cdot OH$ 等)最易侵袭神经元细胞导致神经系统的损伤。因此本研究开展以 DHA/EPA-PS 为代表的 n-3 多不饱和磷脂酰丝氨酸对大鼠海马神经元细胞的抗凋亡能力的研究,从而评价对脑神经保护方面的活性,为其后续进行营养保健食品的开发提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大鼠海马神经元细胞(rat hippocampal neurons cells, RHNC)[青旗(上海)生物技术发展有限公司]。

无水乙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯)、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO, 纯度 $\geq 99.7\%$)、乙酸佛波酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA, 优级纯)、谷胱甘肽(γ -L-glutamyl-L-cysteinglycine, GSH, 纯度 $\geq 98\%$)、吖啶橙(美国 Sigma 公司);DHA/EPA 型磷脂酰丝氨酸 DHA/EPA-PS(本单位实验室自制);膜联蛋白-V 细胞凋亡检测试剂盒(Annexin V-fluorescein isothiocyanate/propidium iodide, Annexin V-FITC/PI, 上海晶美生物公司);萘荧光探针(naphthalene fluorescent probe, NFDS-1, 本单位实验室合成);磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer solution, PBS)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

1.2 仪器与设备

Leica TCS-SP2 激光共聚焦显微镜(德国徕卡显微系统有限公司);BSC-1004IIA2 生物安全柜、SW-CJ-1FD 超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);G154DW 自动压力蒸汽灭菌器[致微(厦门)仪器有限公司];Thermo IGS180 微生物培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);BSA224S 分析天平(精度 0.0001 g, 德国赛多利斯公司)。

1.3 实验方法

本研究以 RHNC 为对象,以 PMA 为诱导剂,建立凋亡模型,设计空白组、PMA 损伤组、实验组(DHA/EPA-PS 保护+PMA 损伤组),选用吖啶橙染色并检测细胞凋亡率,

用激光共聚焦显微镜检测细胞不同凋亡时期的形态;通过 PS 外翻分析实验观察细胞的早、中及晚期凋亡情况,从而在细胞水平研究 DHA/EPA-PS 对海马神经元细胞抗凋亡的影响。

1.3.1 大鼠海马神经元细胞凋亡模型的建立

通过研究 PMA 不同浓度、作用时间对大鼠神经元细胞凋亡的影响,取得最佳诱导条件,建立大鼠神经元细胞凋亡模型。

(1) 不同 PMA 浓度对凋亡率的影响

将培养 12 d 的 RHNC 随机分为 3 组,将细胞原培养基换成无血清培养基,按照 10^4 Cell/孔将细胞铺种在 6 孔板中, 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 条件下贴壁培养 36 h 后吸出培养基,并用 PBS 清洗两遍后滴加吖啶橙染液作用 5 min 后,迅速进行共聚焦显微镜检测,激发光 488 nm,接收波长 590 nm。

实验组(PMA 损伤组):无血清培养基中加入质量浓度分别为 0.1、1.0、10.0 mg/L 的 PMA;空白对照组:无血清培养基中不加任何其他试剂;阳性对照组:无血清培养基中加入浓度为 10 mmol/L 的 GSH。

(2) PMA 作用时间对凋亡率的影响

细胞培养方法同 1.3.1(1),分别于 6、12、24、48 h 取样检测。设置实验组、空白对照组,以探究 10 mg/L PMA 对细胞凋亡的影响。实验组(PMA 损伤组):无血清培养基中加入质量浓度 10 mg/L 的 PMA;空白对照组:无血清培养基中不加任何其他试剂。

1.3.2 DHA/EPA-PS 抑制 RHNC 细胞凋亡实验

将培养 12 d 的大鼠海马神经元细胞随机分为 3 组,按照 10^4 Cell/孔将细胞铺种在 24 孔板中,贴壁培养 36 h 后吸出旧培养基,并用 PBS 清洗孔板以除去血清,换成无血清培养基培养 24 h,设计实验组、空白损伤组、空白对照组,研究 DHA/EPA-PS 对 RHNC 损伤细胞抗凋亡的保护能力。

实验组:无血清培养基中分别加入质量浓度为 1.5、15.0、150.0 mg/L 的 DHA/EPA-PS 预保护细胞 24 h 后,加入质量浓度 10 mg/L PMA 刺激细胞 24 h 后取样检测。空白损伤组:无血清培养基中不加 DHA/EPA-PS 预保护,其他条件与实验组相同。空白对照组:换成无血清培养基直接进行培养,不加 DHA/EPA-PS 预保护,不用 PMA 刺激细胞,与实验组在相同时间取样测。

1.3.3 RHNC 磷脂酰丝氨酸外翻分析实验

本研究用 AnnexinV-FITC/PI 试剂盒对 1.3.2 中的实验组、空白损伤组、空白对照组分别进行磷脂酰丝氨酸外翻分析,以研究 DHA/EPA-PS 预保护细胞后 PMA 损伤所致凋亡细胞的凋亡情况。将各组细胞实验处理后弃培养基, 4°C 下 PBS 洗 2 次,每孔加入 400 μL 的结合缓冲液,按试剂盒给定浓度加 7.5 μL 的 Annexin V-FITC 和 15 μL 的 PI,轻轻混匀,避光,室温下反应 15 min。加入 300 μL 的结

缓冲液,轻轻混匀后弃去 200 μL 的溶液,换液时轻轻贴壁加入或吸出细胞外液,以防细胞被冲起,立即进行 Confocal 检测。扫描方式为 xyz,第一通道激发波长为 488 nm,检测的发射波长为 530 nm,伪色彩为绿色;第二通道激发波长为 530 nm,发射波长大于 590 nm,伪色彩为红色;第三通道为第一、第二通道的组合图像。

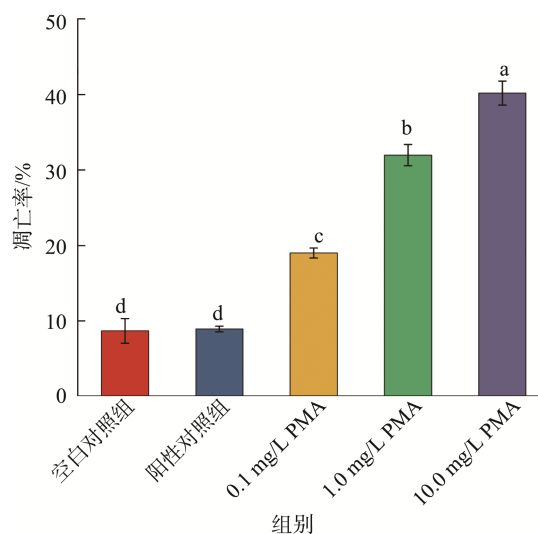
1.4 数据处理

实验数据以平均值 \pm 标准偏差表示。单因素方差分析(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)采用 SPSS 27.0 软件进行,应用 Origin 2022 软件进行数据绘图。

2 结果与分析

2.1 PMA 质量浓度对 RHNC 凋亡的影响

通过对各组凋亡细胞计数并进行单因素 ANOVA,如图 1 所示,阳性对照组凋亡率为 $8.94\% \pm 0.35\%$,与空白对照组细胞凋亡率 $8.68\% \pm 1.63\%$ 无显著差异性($P > 0.05$);实验组细胞凋亡率随 PMA 质量浓度升高呈显著正相关(皮尔逊相关系数为 0.782、显著性水平 0.003),PMA 质量浓度为 0.1、1.0、10.0 mg/L 所致细胞凋亡率分别为 $19.00\% \pm 0.67\%$ 、 $31.97\% \pm 1.41\%$ 、 $40.19\% \pm 1.60\%$ 。正常细胞的细胞核为浅绿色均匀荧光,形状椭圆或圆形,无边缘化和局部高亮荧光;当细胞发生凋亡时,核染色质密度升高聚集,在周边呈月牙形(边缘化),为高亮绿色荧光。



注:不同字母表示组间具有显著性差异($P < 0.05$),图 5 同。

图 1 PMA 质量浓度对 RHNC 凋亡率的影响

Fig.1 Effects of mass concentration of PMA on the apoptosis rate of RHNC

如图 2 所示,对空白对照组与阳性对照组细胞形态图观察可知,细胞核染色均匀且大多呈椭圆形,很少见凋亡细胞,细胞间突起无明显断裂;实验组的多数细胞核发生边缘化且皱缩,细胞突起大量断裂且网络结构被严重破坏,

且细胞凋亡率与 PMA 质量浓度增加而增加, 其中以 PMA 质量浓度为 10 mg/L 损伤 24 h 凋亡最为严重, 凋亡率达 40.19%±1.60%。因此, 后续研究将以 PMA 质量浓度为 10 mg/L 进行刺激, 研究作用时间对 RHNC 凋亡率影响以及 DHA/EPA-PS 对 RHNC 的预保护作用。

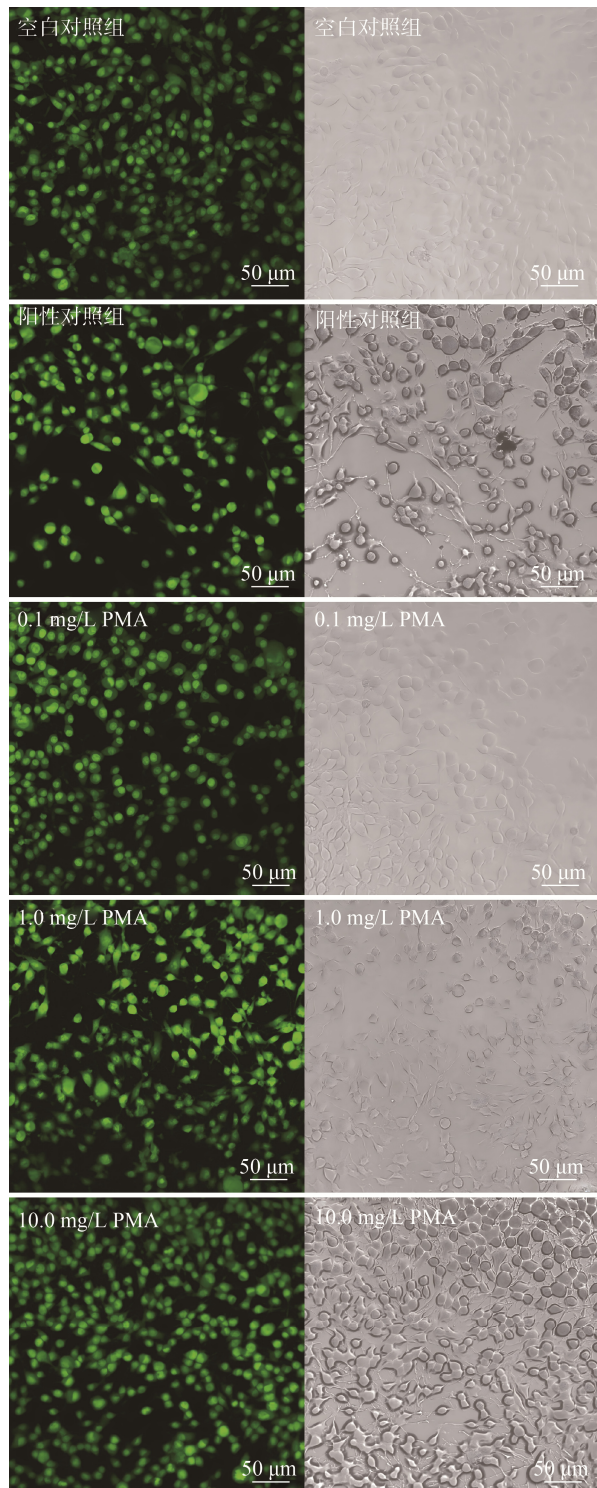


图 2 PMA 质量浓度对细胞凋亡形态影响
Fig.2 Effects of mass concentration of PMA on the apoptotic morphology of RHNC

2.2 PMA 作用时间对 RHNC 凋亡效应研究

对凋亡细胞进行统计分析如图 3 所示, 10 mg/L PMA 持续刺激 RHNC 细胞 6、12、24、48 h 所致凋亡率分别为 16.85%±3.63%、23.52%±4.31%、40.19%±1.60%、47.15%±6.50%, 由此可见, 随着损伤时间延长, RHNC 细胞的损伤加剧。对各组进行单因素 ANOVA 可知, 48 h 损伤与 24 h 损伤无显著性差异, 24 h 损伤与 12 h 损伤差异性极显著($P<0.01$)。

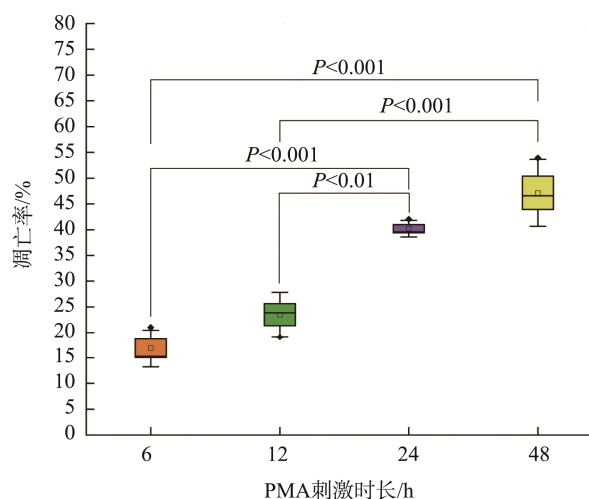
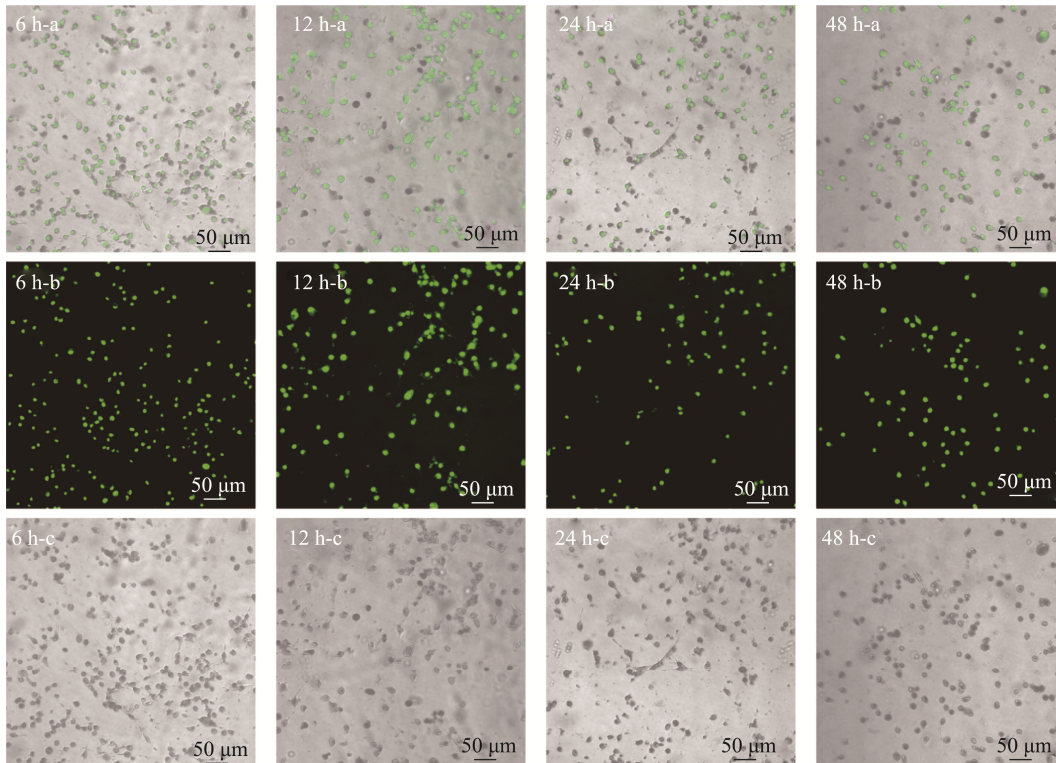


图 3 PMA 刺激时长对 RHNC 凋亡率的影响
Fig.3 Effects of stimulus duration of PMA on the apoptosis rate of RHNC

PMA 刺激时长对 RHNC 的凋亡形态的影响如图 4 所示, 10 mg/L PMA 对 RHNC 刺激 6 h 时, 细胞形态完整突起丰富, 细胞核无明显月牙形与皱缩; 当刺激时长达 12 h 时, RHNC 细胞轴突断裂开始增加, 有部分细胞的核膜开始皱缩且出现高亮现象, 开始出现凋亡小体; 当刺激时间持续至 24 h 时, 细胞间突起大幅度减少, 凋亡小体变多, 且核膜皱缩严重, 细胞形态开始变得不完整; 当刺激时间达 48 h 时, 细胞间突起基本完全断裂, 大量细胞核出现高亮现象, 细胞形态开始变圆且产生大量凋亡小体, 此时部分细胞完全凋亡不产生荧光现象。

2.3 DHA/EPA-PS 对 RHNC 细胞凋亡的保护效益研究

PMA 10 mg/L 持续刺激 RHNC 细胞 24 h, 用以研究 DHA/EPA-PS 对 RHNC 的保护作用。细胞凋亡率通过吖啶橙染色鉴定得出, 组间通过单因素 ANOVA 差异性分析 ($P<0.05$), 结果如图 5 所示。空白对照组(blank)与空白损伤组(control)的细胞凋亡率分别为 8.40%±1.23%与 40.88%±1.23%; 对实验组(SR) 1.5、15.0、150.0 mg/L 的 DHA/EPA-PS 预保护后细胞损伤凋亡率分别是 25.74%±0.58%、11.46%±4.11%、34.76%±1.58%。从凋亡率变化趋势来看, 过低浓度与过高浓度的 DHA/EPA-PS 对 RHNC 细胞的保护效果不佳, 当质量浓度在 15.0 mg/L 时对细胞产生较好的保护效果, 且保护效果与未加 PMA 损伤所致凋亡率无显著差异性。



注: a. 荧光模式和明场模式图片叠加; b. 荧光模式图片; c. 明场模式图片, 图 6、7 同。

图 4 PMA 刺激时长对 RHCN 的凋亡形态的影响

Fig.4 Effects of stimulus duration of PMA on the apoptotic morphology of RHCN

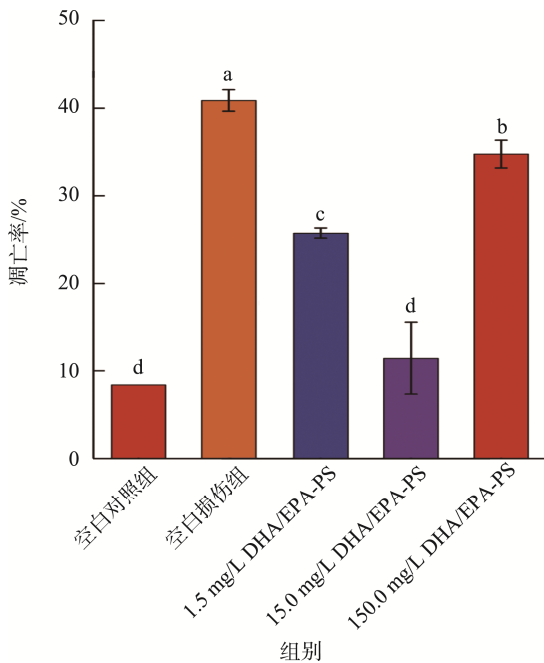


图 5 不同质量浓度 DHA/EPA-PS 预保护对 RHCN 凋亡率的影响

Fig.5 Effects of different concentration of DHA/EPA-PS on the apoptosis rate of RHCN

进一步对细胞形态作分析, 如图 6 所示。从空白对照组细胞形态图组可知, 未加 PMA 刺激的细胞形态良好, 且

突起伸展均匀, 细胞核呈圆形且染色均匀, 未见明显的凋亡小体。未加 DHA/EPA-PS 预保护的空白损伤组细胞形态图 a 可知, 大量的细胞未被 AO 染色, 这有可能是细胞已凋亡多时, 其胞内 DNA 片段已被降解, 细胞周围有凋亡小体的出现, 细胞间突起连接几乎不可见, 大量细胞此时已凋亡且细胞膜等发生不同程度皱缩。

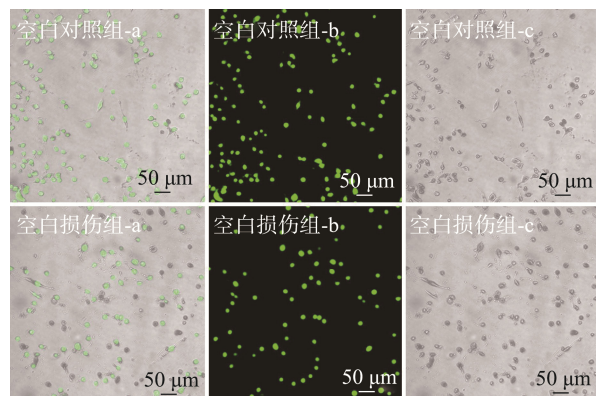


图 6 空白对照组与空白损伤组的 RHCN 细胞凋亡形态图

Fig.6 Morphology of RHCN cells in blank group and control group

从图 7 可看出, 低质量浓度(1.5 mg/L)与中等质量浓度(15.0 mg/L)的 DHA/EPA-PS 均能对细胞产生一定的保护

作用, 中等质量浓度(15.0 mg/L)能最大限度保证细胞不受 PMA 的刺激产生凋亡, 且能较好地保持细胞的形态以及核膜的完整, 能使细胞的突起不受 PMA 的影响而断裂, 这说明 RHNC 细胞对 DHA/EPA-PS 的浓度存在一定的敏感性, 其最适使用质量浓度在 15.0 mg/L 左右, 能使凋亡率达到未加 PMA 损伤的水平。

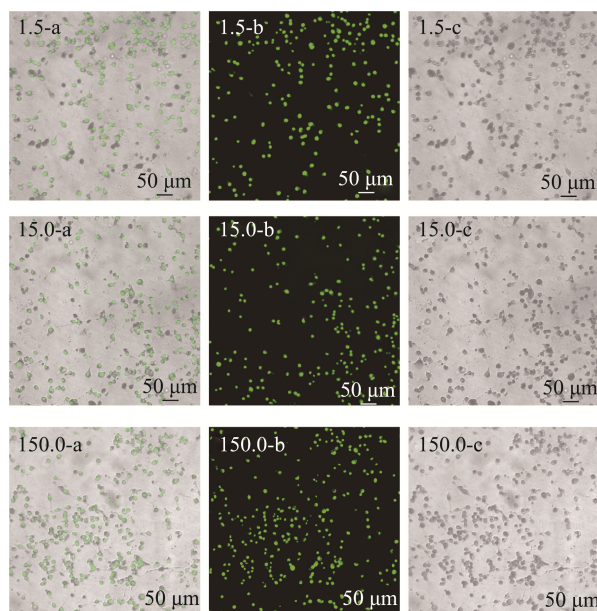


图 7 不同质量浓度 DHA/EPA-PS 预保护下的 RHNC 细胞凋亡形态图

Fig.7 Morphology of RHNC cells of the pre-protection under the different mass concentrations of DHA/EPA-PS

2.4 RHNC 的磷脂酰丝氨酸外翻分析结果

进一步用 AnnexinV-FITC/PI 试剂盒对 DHA/EPA-PS 预保护细胞后 PMA 损伤细胞, 进行抗凋亡研究。磷脂酰丝氨酸正常情况下位于细胞内侧, 但在细胞凋亡的早期, 磷脂酰丝氨酸会从细胞膜的内侧转移到细胞膜外侧, 暴露在细胞外环境中。AnnexinV 是一种分子量为 35.8 kD 的 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白, 能与细胞凋亡过程中翻转到膜外的磷脂酰丝氨酸高亲和力特异结合。因此可利用 AnnexinV 与 PI 来对 RHNC 细胞的凋亡阶段进行评估, 凋亡早期细胞膜上的磷脂酰丝氨酸外翻从而被 AnnexinV 染成绿色, 但是 PI 不能进入活细胞, 因此只有凋亡后期的细胞中的细胞核才能被染成红色, 而 AnnexinV 与 PI 均未染上的为正常细胞^[19-24]。

如图 8 所示, 空白对照组为未加 PMA 刺激的 RHNC 细胞, 在无血清培养基中培养 48 h 产生较少的早期、中期凋亡细胞, 且基本不产生晚期凋亡细胞; 空白损伤组为未加 DHA/EPA-PS 预保护的细胞, 在无血清培养 24 h 后添加 10.0 mg/L 的 PMA 刺激 24 h 后的细胞, 在早、中期和晚期的凋亡细

胞均有大量产生, 这说明用 PMA 刺激细胞产生凋亡是可取的。

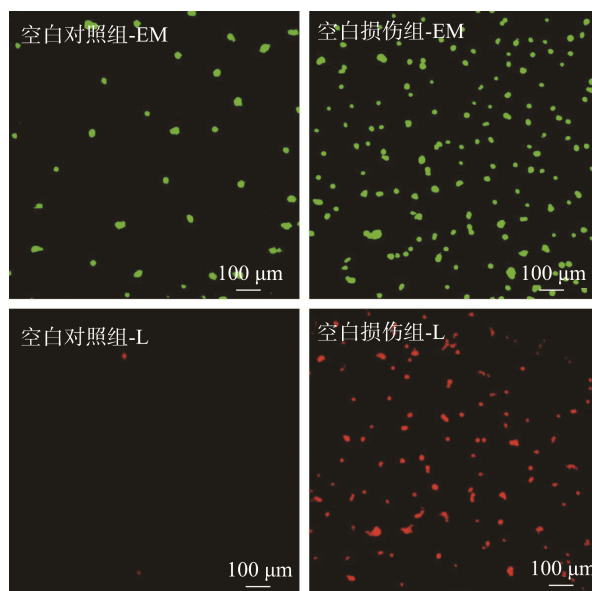


图 8 空白对照组与空白损伤组 RHNC 细胞双染分析

Fig.8 Double staining analysis of RHNC cells in blank group and control group

如图 9 所示, DHA/EPA-PS 以 15.0 mg/L 质量浓度预保护细胞产生较少的早期、中期凋亡细胞且不产生晚期凋亡细胞; 1.5 mg/L 与 150.0 mg/L PS 预保护细胞同样产生大量早期凋亡细胞, 但是相较于图 8 空白损伤组所产生晚期凋亡细胞较少; 1.5 mg/L 组与 150.0 mg/L 组对比, 150.0 mg/L 组产生的早期、中期凋亡细胞以及晚期凋亡细胞高于 1.5 mg/L 组, 这说明过高浓度的 DHA/EPA-PS 并不能更好保护 RHNC 细胞。

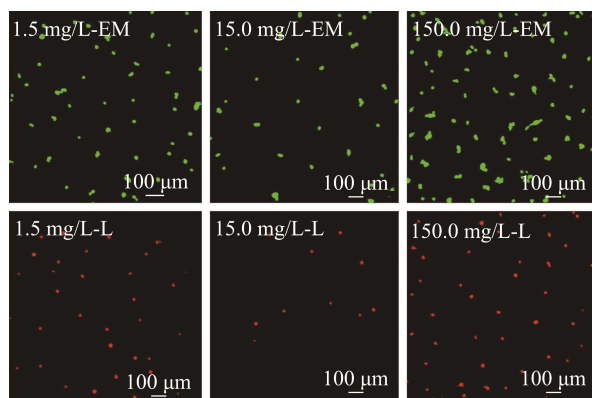


图 9 不同质量浓度 DHA/EPA-PS 预保护下 RHNC 细胞双染分析
Fig.9 Double staining analysis of RHNC cells under different mass concentrations of DHA/EPA-PS pre-protection

3 讨论与结论

PMA 是蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 的有效激

活剂, PKC 是一类 Ca^{2+} 、磷脂依赖性的蛋白激酶, 在细胞跨膜信号传递过程中有重要作用, PKC 能催化多种蛋白上的 Ser/Thr 磷酸化, 从而调节细胞的代谢生长、增殖及分化。低浓度的 PMA 可有效使 PKC 活化使其亲和力增加, 但是高剂量的 PMA 能使细胞中的 PKC 迅速耗竭从而使细胞信号传递失衡导致细胞凋亡^[25-30]。本研究证明一定浓度的 PMA 可以刺激 RHNC 细胞产生凋亡且产生凋亡模型稳定可靠。

DHA/EPA-PS 抑制 RHNC 细胞凋亡实验结果显示, 当 DHA/EPA-PS 的质量浓度为 15 mg/L 时对 RHNC 预保护效果最好, 早期、中期凋亡细胞较少, 凋亡率仅为 $11.46\% \pm 4.11\%$, 且无晚期凋亡细胞; 经 Confocal 观察此时细胞形态完整, 细胞突起未断裂。因此, 一定质量浓度的 DHA/EPA-PS 对 PMA 刺激下海马神经元细胞具有显著的保护作用。本研究为 n-3 多不饱和磷脂酰丝氨酸在促进学习、增强记忆、改善老年性疾病方面的研究提供了较好的数据支撑。

参考文献

- [1] MIRJA KA, FATEMA A, HONG T, *et al.* Marine omega-3(n-3)phospholipids: A comprehensive review of their properties, sources, bioavailability and relation to brain health [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020, 19(1): 64–123.
- [2] THIERRY O, THIERRY P. Docosahexaenoic acid and synaptic protection in Alzheimer's disease mice [J]. *BBA-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2010, 1801(8): 791–798.
- [3] 钟绮媚, 张晶晶, 杨志友, 等. 不同 ω -3 多不饱和脂肪酸对斑马鱼阿尔茨海默病模型记忆损伤和神经病理学变化影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2022, 42(4): 118–128.
ZHONG YM, ZHANG JJ, YANG ZY, *et al.* Effects of different ω -3 polyunsaturated fatty acids on memory impairment and neuropathological changes in Zebrafish Alzheimer's disease model [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2022, 42(4): 118–128.
- [4] AMRUTA K, ZHAO AI, YANG BR, *et al.* Tissue-specific content of polyunsaturated fatty acids in (n-3) deficiency state of rats [J]. *Foods*, 2022, 11(2): 1–16.
- [5] CASTRO-GOMEZ P, GARCIA-SERRANO A, VISIOLI F, *et al.* Relevance of dietary glycerophospholipids and sphingolipids to human health [J]. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2015, 101: 41–51.
- [6] YEO JD, CHRISTOPHER CP. Mass spectrometry-based lipidomics in the characterization of individual triacylglycerol (TAG) and phospholipid (PL) species from marine sources and their beneficial health effects [J]. *Reviews in Fisheries Science*, 2021, 30(1): 81–100.
- [7] 邓梦延, 朱晓辉, 黄力, 等. n-3 多不饱和脂肪酸调节小胶质细胞激活及极化改善 APPS1 小鼠学习记忆能力[J]. *陆军军医大学学报*, 2024, 46(9): 928–939.
- [8] DENG MY, ZHU XJ, HUANG L, *et al.* n-3 polyunsaturated fatty acids ameliorate learning and memory abilities in APPS1 mice by regulating microglial activation and polarization [J]. *Journal of Army Medical University*, 2024, 46(9): 928–939.
- [9] CHENG YC, CHEN WY, LIN C, *et al.* The n-3 polyunsaturated fatty acids supplementation to prevent depression recurrence in patients with late-life depression: A 52-week double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Journal of Affective Disorders*, 2025, 369: 8–15.
- [10] YAN KH, GUO F, KAINZ MARTIN J, *et al.* The importance of omega-3 polyunsaturated fatty acids as high-quality food in freshwater ecosystems with implications of global change [J]. *Biological Reviews*, 2024, 99(1): 200–218.
- [11] HUSSAIN M, KHAN I, CHAUDHARY MN, *et al.* Phosphatidylserine: A comprehensive overview of synthesis, metabolism, and nutrition [J]. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2024. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2024.105422
- [12] 张芹. 酶法合成富含 n-3 PUFA 的磷脂酰丝氨酸的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
ZHANG Q. Study on enzymatic synthesis of phosphatidylserine enriched in n-3 PUFA [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [13] 廖妙飞, 付万冬, 孙继鹏, 等. 富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的磷脂酰丝氨酸制备工艺研究[J]. *渔业研究*, 2022, 44(6): 599–605.
LIAO MF, FU WD, SUN JP, *et al.* Study on the preparation of ω -3 polyunsaturated fatty acid phosphatidylserine [J]. *Journal of Fisheries Research*, 2022, 44(6): 599–605.
- [14] 夏洪志. 基于斑马鱼模型评价磷脂酰丝氨酸对记忆力及认知力的改善作用[J]. *中国食品添加剂*, 2024, 35(2): 145–152.
XIA HZ. Evaluation of improvement effect of phosphatidylserine on memory and cognition based on zebrafish model [J]. *China Food Additives*, 2024, 35(2): 145–152.
- [15] 黄远英, 殷光玲. 磷脂酰丝氨酸银杏叶复合物辅助改善记忆功能的作用[J]. *食品工业*, 2022, 43 (12): 148–153.
HUANG YY, YIN GL. Effect of auxiliary improvement of memory function of phosphatidylserine and *Ginkgo biloba* leaves compound [J]. *Food Industry*, 2022, 43(12): 148–153.
- [16] IAGARDE M. Docosahexaenoic acid: Nutrient and precursor of bioactive lipids [J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2008, 110(8): 673–678.
- [17] 曲辉, 李丽杰, 刘霞. 虾青素、二十二碳六烯酸、磷脂酰丝氨酸相互配伍功效作用研究[J]. *山东化工*, 2019, 48(7): 21–26.
QU H, LI LJ, LIU X. Research on the synergistic effects of astaxanthin, docosahexaenoic acid and phosphatidylserine [J]. *Shandong Chemical Industry*, 2019, 48(7): 21–26.
- [18] KUMAR S, NAYAK DS, BASRUR RMR, *et al.* Auditory aura from the hippocampus-not all that 'rings' is neocortical temporal lobe epilepsy [J].

- Epilep & Behavior Report, 2022, 19: 1–4.
- [18] AMMOTHUMKANDY A, RAVINA K, WOLSELEY V, *et al.* Altered adult neurogenesis and gliogenesis in patients with mesial temporal lobe epilepsy [J]. *Nature Neuroscience*, 2022, 25(4): 493–503.
- [19] 薛丕良, 王文文, 李星宇, 等. 参芪蛭龙汤含药血清对 PAN 损伤 MPC5 细胞凋亡的抑制作用[J]. *辽宁中医杂志*, 2024, 51(4): 196–199.
- XUE PL, WANG WW, LI XY, *et al.* Effect of serum containing Shenqi Zhulong decoction on apoptosis of MPC5 cells damaged by PAN [J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 51(4): 196–199.
- [20] 阿迪莱·艾合麦提托合提, 艾尼娃尔·艾克木, 是文辉, 等. 没食子酸改善低血压低氧诱发心肌损伤的体内外观察及机制探讨[J]. *山东医药*, 2024, 64(5): 1–6.
- ADILAI·AIHMTHT, AINIWAER·AIKM, SHI WH, *et al.* Observation and mechanism of gallic acid improving myocardial injury induced by hypobaric hypoxia *in vitro* and *in vivo* [J]. *Shandong Medical Journal*, 2024, 64(5): 1–6.
- [21] 王睿, 郭清民, 尹正芳, 等. miR-27a 通过过氧化物酶体增殖物激活受体 γ /葡萄糖转运蛋白 4 调控多囊卵巢综合征卵巢颗粒细胞功能的研究[J]. *中国糖尿病杂志*, 2024, 32(1): 51–58.
- WANG R, GUO QM, YIN ZF, *et al.* miR-27a through PPAR γ /GluT4 signal pathway regulates the function of ovarian granulosa cells in polycystic ovary syndrome [J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2024, 32(1): 51–58.
- [22] LIU X, JIANG M, PANG C, *et al.* Sodium selenite inhibits proliferation and metastasis through ROS mediated NF signaling in renal cell carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2022, 22(1): 1–14.
- [23] ZHU Y, WAN B, ZHANG J, *et al.* Porous Se@SiO₂ nanoparticles attenuate radiation-induced cognitive dysfunction via modulating reactive oxygen species [J]. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 2022, 8(3): 1342–1353.
- [24] 杨环毓, 杜鹃, 冯凤琴. 3 种肽细胞对氧化损伤的保护作用及促细胞增殖能力比较[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(9): 332–338.
- YANG HY, DU J, FENG FQ. Comparison of the protective effects of 3 kinds of peptides against oxidative cell damage and cell proliferation-promoting ability [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(9): 332–338.
- [25] 熊兴奎. Annexin 家族蛋白: 细胞凋亡检测功能[D]. 南京: 南京大学, 2015.
- XIONG XK. Annexin family proteins: Apoptosis detection function [D]. Nanjing: Nanjing University, 2015.
- [26] 高超. 细胞凋亡针 AnnexinV 的结构与功能研究[D]. 南京: 南京大学, 2012.
- GAO C. Study on the structure and function of apoptosis needle AnnexinV [D]. Nanjing: Nanjing University, 2012.
- [27] 马慧可, 李萍, 陈佳, 等. 体外诱导糖尿病小鼠模型中性粒细胞胞外诱捕网的研究[J]. *医学研究杂志*, 2022, 51(9): 40–54.
- MA HK, LI P, CHEN J, *et al.* Study on the induction of neutrophil extracellular traps from diabetic mice *in vitro* [J]. *Journal of Medical Research*, 2022, 51(9): 40–54.
- [28] XU KH, TANG B, HUANG H. Strong red fluorescent probes suitable for detecting hydrogen peroxide enenerated by mice peritoneal macrophages [J]. *Chemical Communications*, 2005, 1: 5974–5976.
- [29] 吴迦勒, 徐精彩, 周佳, 等. NETosis 调控心肌细胞自噬促进小鼠急性心肌梗死的作用机制研究[J]. *医学研究杂志*, 2023, 52(11): 55–61.
- WU JL, XU JC, ZHOU J, *et al.* Mechanism of NETosis regulating cardiomyocyte autophagy to promote acute myocardial infarction in mice [J]. *Journal of Medical Research*, 2023, 52(11): 55–61.
- [30] 贾琳琳, 陈进宝, 池华博文, 等. 结肠癌细胞调节 M2 型巨噬细胞极化促进化疗耐药的研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2022(21): 2564–2567.
- JIA LL, CHEN JB, CHI HBW, *et al.* Research on the regulation of colon cancer cells in promoting M2 polarization of macrophages and chemoresistance [J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2022(21): 2564–2567.

(责任编辑: 于梦娇 蔡世佳)