胡丹. 鼠李糖乳杆菌 B6 发酵脱脂乳产物对人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 突触囊泡蛋白表达及炎症损伤改善的研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(13): 419−427. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070150
HU Dan. Expression of Synaptic Vesicle Proteins and the Improvement of Inflammatory Injury in Human Neuroblastoma Cells SH-SY5Y by *Lactobacillus rhamnosus* B6 Metabolic Products of Fermented Skim Milk[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(13): 419−427. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070150

·营养与保健·

鼠李糖乳杆菌 B6 发酵脱脂乳产物对人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 突触囊泡蛋白表达及炎症损伤改善的研究

胡　丹*
（乳业生物技术国家重点实验室,上海乳业生物工程技术研究中心,光明乳业股份有限公司乳业研究院,上海 201103）

摘　要: 本研究探索了鼠李糖乳杆菌 B6 的发酵脱脂乳代谢产物（LB6S）对 SH-SY5Y 突触囊泡蛋白的影响及对脂多糖（LPS）诱导的 SH-SY5Y 神经炎性细胞模型的保护作用及机制。以 LB6S 作为研究对象，采用 CCK-8 法检测细胞活力筛选 SH-SY5Y 适用浓度，通过 RT-qPCR 及 Western blotting（WB）方法研究其对突触囊泡蛋白（Syp）表达的影响。建立 LPS 诱导的 SH-SY5Y 神经炎性模型，通过 RT-qPCR 及 WB 方法研究 LB6S 对促炎细胞因子、凋亡因子的调控及信号通路。结果表明，浓度在 500 μg/mL 以内的 LB6S 对 SH-SY5Y 无细胞毒性（P>0.05），500 μg/mL 可显著提高突触相关因子烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性去乙酰化酶 1（*Sirt1*）、突触囊泡膜蛋白（*Syp*）、囊泡相关膜蛋白 2（*Vamp2*）、囊泡谷氨酸转运蛋白 1（*Vglut1*）基因的转录表达（P<0.05）及 Syp 蛋白（synaptic vesicle proteins）表达（P<0.05）。500 μg/mL LB6S 可以降低 SH-SY5Y 因 LPS 损伤造成的促炎细胞因子肿瘤坏死因子（TNF）-α、白细胞介素（IL）-1β 及 IL-6 的表达（P<0.05），通过参与丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）及核因子 κB（NF-κB）信号通路，降低促凋亡因子 Bax 及增加抗凋亡因子 Bcl2 的表达（P<0.05），实现对神经炎症的抑制作用。综上所述，LB6S 可调控突触相关蛋白并促进 Syp 的表达，还可通过 MAPK 及 NF-κB 通路调控细胞凋亡因子及促炎因子的表达改善神经炎性损伤。

关键词: 鼠李糖乳杆菌 B6,神经细胞突触,突触囊泡蛋白,抑炎
中图分类号: TS252.1　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)13−0419−09
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070150
本文网刊:

Expression of Synaptic Vesicle Proteins and the Improvement of Inflammatory Injury in Human Neuroblastoma Cells SH-SY5Y by *Lactobacillus rhamnosus* B6 Metabolic Products of Fermented Skim Milk

HU Dan*
（State Key Laboratory of Dairy Biotechnology, Shanghai Engineering Research Center of Dairy Biotechnology, Dairy Research Institute, Bright Dairy & Food Co., Ltd., Shanghai 201103, China）

Abstract: This study investigated the effects of *Lacticaseibacillus rhamnosus* B6 metabolic products of fermented skim milk (LB6S) on synaptic vesicle proteins (Syp) in human neuroblastoma SH-SY5Y cells and their protective mechanism against lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammatory injury. The viability of SH-SY5Y cells was assessed via the

收稿日期: 2025−07−14
基金项目: 市国资委企业创新发展与能级提升项目（2022013）。
作者简介/通信作者*: 胡丹（1990−）,女,博士,研究方向:益生菌的功能研究及食品生物技术,E-mail:hudan@brightdairy.com。

CCK-8 assay to determine the optimal concentration of LB6S. The reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and western blotting (WB) were employed to analyze Syp expression. An LPS-induced neuroinflammatory model was established to evaluate LB6S-mediated regulation of pro-inflammatory cytokines, apoptotic factors and signaling pathways through RT-qPCR and WB. The results indicated that LB6S exhibited no cytotoxicity at concentrations up to 500 μg/mL (P>0.05). At 500 μg/mL, LB6S significantly upregulated transcriptional expression of the synapse-related gene-*Sirt1*, *Syp*, *Vamp2*, and *Vglut1* (P<0.05) and increased Syp levels (P<0.05). In LPS-damaged cells, 500 μg/mL LB6S downregulated the pro-inflammatory cytokines tumor necrosis factor (TNF)-α, interleukin (IL)-1β, and IL-6 (P<0.05). Mechanistically, LB6S inhibited neuroinflammation by modulating mitogen-activated protein kinase (MAPK) and nuclear factor κB (NF-κB) pathways, reducing pro-apoptotic Bax and increasing anti-apoptotic Bcl2 expression (P<0.05). In conclusion, LB6S regulates synaptic proteins, promotes Syp expression, and ameliorates neuroinflammatory injury by modulating apoptotic and inflammatory mediators through MAPK/NF-κB signaling.

Key words: *Lacticaseibacillus rhamnosus* B6; neuronal synapse; synaptophysin; anti-inflammation

神经退行性疾病(ND)如阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)等,其病理特征包括神经元丢失、突触功能障碍和神经炎症等,ND 的发生与神经细胞异常激活密切相关[1−2]。正常情况下,神经炎症是中枢神经系统(CNS)对机械损伤、病原感染等刺激的自我防御反应,小胶质细胞分泌肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)等细胞因子启动免疫应答,维持大脑稳态[2−3]。而在病理状态下,β-淀粉样蛋白(Aβ)、α-突触核蛋白等异常蛋白聚集会过度激活神经细胞,使其持续释放促炎因子并引发慢性炎症,导致神经元损伤[4−5];神经退行性疾病进程中升高的炎症介质又会进一步强化细胞激活,形成“炎症-神经损伤”恶性循环。

脂多糖(LPS)作为革兰氏阴性菌细胞壁成分,可通过激活 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞诱导神经炎症[6]。研究表明,LPS 作为内毒素能激活免疫细胞产生促炎因子与趋化因子,促使神经细胞释放一氧化氮(NO)、花生四烯酸等毒性物质,并通过 NF-κB 通路增强神经毒性[1,6]。因此,抑制 SH-SY5Y 细胞活化及其介导的炎症反应是延缓 ND 进展的重要策略。

近年来,益生菌在 ND 神经治疗新策略的探索中展现出日益重要的潜在价值。体外研究表明,热灭活的短乳杆菌(*L. brevis*)KU15152 保护 SH-SY5Y 免受 H_2O_2 诱导的氧化应激损伤[7];植物乳杆菌(*L. plantarum*)CRL 1905(A9)的神经保护活性与神经元细胞释放的 IL-6 水平降低相关[8];泡菜来源乳酸菌(肠系膜明串珠菌、弯曲乳杆菌和植物乳杆菌)的细胞外囊泡(ECV)显著抑制 LPS 刺激小胶质细胞产生的 NO 和促炎细胞因子[9]。德氏乳杆菌保加利亚乳杆菌亚种(*L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*)B3 和植物乳杆菌(*L. plantarum*)GD2 的胞外多糖通过 AKT、MAPK 和 NF-κB 信号通路对 Aβ 诱导的 SH-SY5Y 细胞氧化应激起到保护作用[10]。体内研究表明,加氏乳杆菌(*L. gasseri*)MG4247 和鼠李糖乳杆菌(*L. rhamnosus*)MG4644 通过调节 TLR4/Akt 通路改善突触功能,进而改善 Aβ 诱导的认知障碍[11]。益生菌在 ND 领域的机制研究相对较少,且具有非常好的研究价值及前景。鼠李糖乳杆菌在体外神经炎性模型中的研究尚未见报道,且基于益生菌功能性发酵乳的研究及产业化支持,本研究选取具有体外免疫调节活性及发酵乳中生物活性肽产生能力的鼠李糖乳杆菌 B6[12−13] 作为研究对象,探究其发酵脱脂乳代谢产物对 SH-SY5Y 突触进程相关因子表达的影响,以及对 LPS 诱导的神经炎性损伤模型的保护作用与机制。本研究为退行性神经疾病的干预及功能性食品开发提供新思路,其作为功能性益生菌发酵乳制品具有良好的产业化潜力。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鼠李糖乳杆菌(*L. rhamnosus*)B6(CGMCC No. 13310) 由乳业生物技术国家重点实验室提供;LPS(0111:B44) 西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;脱脂奶粉 新西兰恒天然集团;MRS 培养基 青岛海博生物科技有限公司;SH-SY5Y 细胞 武汉普诺赛生命科技有限公司;0.25% 胰蛋白酶(含 EDTA)、ELISA 试剂盒、Western blotting 抗体 美国赛默飞世尔科技公司;DMEM 高糖液体培养基 美国 Hyclone 公司;CCK8 细胞活力检测试剂盒 上海碧云天生物技术股份有限公司;RNA 提取试剂盒 北京宝日医生物技术有限公司;Fast King 一步法除基因组 cDNA 第一链合成预混试剂、实时荧光定量 PCR 试剂盒 赛维尔生物科技有限公司。

HVE-50 高压灭菌锅 Hirayama 公司;Bugbox 厌氧工作站 英国 Ruskinn 公司;Spectra M5 酶标仪 美谷分子仪器(上海)有限公司;IC-1000 Count-Star 细胞计数仪、Step One Plus TM 实时荧光定量 PCR 仪、iBright FL1500 蛋白免疫印迹和凝胶成像系统 美国赛默飞世尔科技公司。

1.2 实验方法

1.2.1 鼠李糖乳杆菌 B6 发酵脱脂乳代谢产物的制备 挑取 MRS 平板活化的鼠李糖乳杆菌 B6 单菌落接入 10%(m/m)脱脂乳中,37 ℃ 培养 22~24 h,再以 3%(v/v)接种到 10% 脱脂乳中,37 ℃ 恒温培养 24 h(pH4.0)。10000 r/min 4 ℃ 离心 30 min 取上清液调至 pH7.3,再次 10000 r/min 4 ℃ 离心 30 min

后，取上清冷冻干燥，即得到 B6 发酵脱脂乳代谢产物（LB6S）。使用前，称取冻干粉复溶于 DMEM 培养液，0.22 μm 无菌滤器过滤后备用。

1.2.2　LB6S 对 SH-SY5Y 细胞活力测定　SH-SY5Y 以 1×10^4/孔的细胞密度（DMEM 培养液）接种于 96 孔板中，37 ℃ 5% CO_2 培养 24 h 至完全贴壁。PBS 清洗 2 次后，将 10、50、200、500、1000、5000 μg/mL LB6S 加入 96 孔板中，37 ℃ 5% CO_2 孵育 24 h，吸走孔内液体，每孔加入 90 μL 的 DMEM 培养液和 10 μL 的 CCK-8 工作液，37 ℃ 培养箱内孵育 4 h 后于 450 nm 处测定吸光度。

$$细胞活力(\%)=\frac{OD_{样品组}-OD_{空白}}{OD_{阴性对照}-OD_{空白}}\times100$$

式中，阴性对照为含有细胞的培养液、CCK-8、不含待测物质；样品组为含有细胞的培养液、CCK-8、待测样本；空白孔为不含细胞和待测物质的培养液、CCK-8。

1.2.3　LB6S 对 SH-SY5Y 突触进程相关基因表达的测定　1×10^5/孔 SH-SY5Y 接种于 6 孔板中，37 ℃ 5% CO_2 培养 24 h，PBS 清洗 2 次，接种含有 2 mL 10、50、200、500 μg/mL LB6S DMEM 培养液，37 ℃ 5% CO_2 孵育 24 h。将培养好的细胞使用 PBS 清洗 2 次，收集细胞提取总 RNA，反转录成 cDNA 后作为模板并以突触囊泡基因引物（表 1）进行 RT-qPCR 扩增及测定。总体系为 20 μL，包含 2×SYBR qPCR Mix 10 μL、上下游引物各（10 μmol/L）0.4 μL、模板（50~60 ng/μL）1 μL、ddH_2O 8.2 μL。以 *GAPDH* 为内参，利用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算 mRNA 相对表达量。

1.2.4　LB6S 对 SH-SY5Y 突触蛋白表达的测定　1×10^5/孔 SH-SY5Y 接种于 6 孔板中，37 ℃ 5% CO_2 培养 24 h，PBS 清洗 2 次，接种含有 2 mL 0、200、500 μg/mL LB6S DMEM 培养液，37 ℃ 5% CO_2 孵育 24 h。将培养好的细胞使用 PBS 清洗 2 次，加入含 10% 蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液，冰上继续裂解 20 min，每隔 5 min 重复涡旋一次。之后 12000 r/min，4 ℃，离心 10 min，收集上清，得到总蛋白溶液。BCA 法测定蛋白浓度，将蛋白溶液按照 4∶1 的配比加入 5×还原型蛋白上样缓冲液，沸水浴变性 15 min，加样至 SDS-Page 胶，150 V 恒流模式电泳 45 min。PVDF 膜转印，300 mA，恒压模式，电泳 50 min。3% BSA 封闭液封闭 1 h，加入 5 mL TBST，孵育 5 min，重复 3 次。孵育一抗（稀释倍数为 *β*-actin、Syp 1∶1500），4 ℃ 摇床过夜。二抗（1∶3000）室温孵育 1 h，TBST 洗膜 3 次，加入化学发光液中，化学发光仪曝光成像，使用软件 Image-Pro Plus 6.0 进行分析，目标蛋白使用 GAPDH 的表达来进行比对。

1.2.5　LB6S 对 LPS 调节 SH-SY5Y 细胞因子基因表达的测定　1×10^5/孔 SH-SY5Y 接种于 6 孔板中，37 ℃ 5% CO_2 培养 24 h，PBS 清洗 2 次，加入含有 2 mL 0、50、200、500 μg/mL LB6S DMEM 培养液孵育 4 h 后，每孔加入 LPS 保证浓度为 1 μg/mL[5]，空白对照组为无干预物添加的 DMEM 培养液，37 ℃ 5% CO_2 共孵育 24 h。RNA 提取、cDNA 反转录及 RT-qPCR 方法同 1.2.3，引物见表 2。

1.2.6　LB6S 对 LPS 调节 SH-SY5Y 细胞因子蛋白表达的测定　干预及培养方法同 1.2.5，收集细胞培养上清液，用于 ELISA 测定，测定方法参考说明书。

1.2.7　LB6S 对 LPS 调节 SH-SY5Y 信号通路基因表达的测定　干预及培养方法同 1.2.5。RNA 提取、cDNA 反转录及 RT-qPCR 方法同 1.2.3，引物见表 3。

1.2.8　LB6S 对 LPS 调节 SH-SY5Y 信号通路蛋白表达的测定　以 0、500 μg/mL LB6S 进行干预，干预及培养方法同 1.2.5，Western blotting 测定蛋白表达，方法同 1.2.4，一抗稀释倍数为 *β*-actin、Bax、Bcl2、NF-*κ*B p65、p38 MAPK 均为 1∶1500，二抗 1∶3000。

表 1　突触进程相关基因荧光定量 PCR 引物序列

Table 1　Synaptic-related genes primers for fluorescent quantitative PCR

基因	正向引物（5'→3'）	反向引物（5'→3'）	引文
GAPDH	CACTCACGGCAAATTCAACGGCAC	GACTCCACGACATACTCAGCAC	[14]
Sirt1	CAGTTCCAGCCATCTCTGTG	GCAACCTGCTCCAAGGTATC	[15]
Syp	CACTGATGACTTCCCAGAACTGT	CTGGGCTTCACTGACCAGAC	[16]
Vamp2	CTCCAAACCTCACCAGTAACAGG	AGCTCCGACAGCTTCTGGTCTC	[17]
VGluT1	GAGGAGTGGCAGTACGTGTTCC	TCTCCAGAAGCAAAGACCCC	[18]

表 2　免疫因子相关基因荧光定量 PCR 引物序列

Table 2　Cytokine genes primers for fluorescent quantitative PCR

基因	正向引物（5'→3'）	反向引物（5'→3'）	引文
GAPDH	CACTCACGGCAAATTCAACGGCAC	GACTCCACGACATACTCAGCAC	[14]
TNF-α	CCACCACGCTCTTCTGTCTACTG	GGGCTACGGGCTTGTCACT	[6]
IL-6	CATCCTCGACGGCATCTCAGC	TTGGGTCAGGGGTGGTTATTG	
IL-1β	AAACAGATGAAGTGCTCCTTCCAGG	TGGAGAACACCACTTGTTGCTCCA	
IL-10	ATGCCCCAAGCTGAGAACCAAGACCCA	GTTTCGTATCTTCATTGTCAT	

表 3 信号通路相关基因荧光定量 PCR 引物序列

Table 3 Signaling-pathway primers for fluorescent quantitative PCR

基因	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')	引文
GAPDH	CACTCACGGCAAATTCAACGGCAC	GACTCCACGACATACTCAGCAC	[14]
Casp3	GTGGAGGCCGACTTCTTGTA	TTTCAGCATGGCAAAGCG	
Bax	CCCCCGAGAGGTCTTTTTCC	CCTTGAGCACCAGTTTGCTG	[19]
Bcl2	TCTCATGCCAAGGGGGAAAC	TCCCGGTTATCGTACCCTGT	
NF-κB p65	TTCAACATGGCAGACGACGA	CCATCTGTTGACAGTGGTATAT	[20]
Mapk1	GCCGAAGCACCATTCAAGTT	CCTCTGAGCCCTTGTCCTGA	

1.3 数据处理

通过 GraphPad prism 10.4.1 软件进行生物学分析及绘图,统计数据用平均值±标准差(Mean±SD)表示,均采用 One-Way ANOVA 进行方差分析,所有实验均重复三次。

2 结果与分析

2.1 LB6S 对 SH-SY5Y 细胞活力的影响

为了确定鼠李糖乳杆菌 B6 发酵脱脂乳代谢产物对 SH-SY5Y 细胞产生细胞毒性的剂量,采用 CCK8 法评估了 LB6S 对 SH-SY5Y 细胞活力的影响。如图 1 所示,与空白对照相比,以不影响细胞活力为基准,后续实验以不超过 500 μg/mL LB6S 为干预标准(P>0.05),中等剂量的 LB6S(1000 μg/mL)可促进 SH-SY5Y 细胞增殖,差异显著(P<0.05),高剂量 LB6S(5000 μg/mL)则具有细胞毒性,细胞活力下降,差异极显著(P<0.0001)。

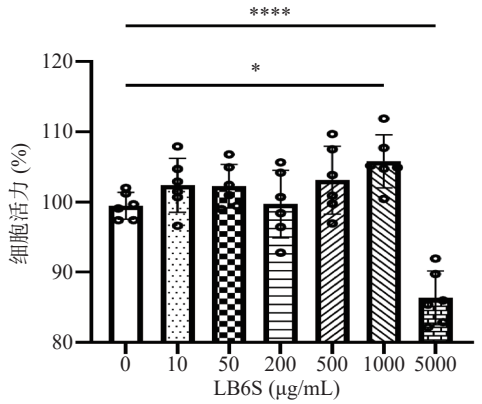


图 1 LB6S 对 SH-SY5Y 细胞活力的影响

Fig.1 Effect of LB6S on cell viability of SH-SY5Y cells

注: *表示 P<0.05, **表示 P<0.01, ***表示 P<0.001, ****表示 P<0.0001,图 2~图 7 同。

2.2 LB6S 促进 SH-SY5Y 突触进程相关基因转录表达

突触功能障碍与丧失是 ND 的典型特征,且与认知功能衰退密切相关。然而,目前预防或逆转突触损伤的作用机制及治疗策略仍未明确。脑脊液(CSF)中的分子生物标志物可用于评估突触健康状态,这是由于突触蛋白能够释放至细胞外液,并随正常或病理性突触活动进入 CSF 中。其中,突触前蛋白(如 Syp、VAMP2 等)及突触后蛋白(如神经颗粒蛋白)有望成为反映突触功能障碍与变性的 CSF 生物标志物[21]。囊泡谷氨酸转运蛋白 1(VGLUT1)作为经典谷氨酸能神经元高度特异性标志物,可通过将谷氨酸转运至突触囊泡来调控神经元活动,研究表明 VGLUT1 缺陷会降低皮质丘脑突触短期可塑性,在精神分裂症、阿尔茨海默病和帕金森病患者的皮质和海马样本中检测到 VGLUT1 表达水平改变[22−23]。Sirtuin 1(SIRT1)是高度保守的 NAD^+依赖性脱酰化蛋白家族的一员,在从机体发育到寿命调控的诸多生理进程中展现出多元功能。研究表明,SIRT1 通过去乙酰化和抑制丙酮酸激酶 M2(PKM2)改善大脑中的乳酸稳态以缓解帕金森病[24]。SIRT1 可通过激活 AMPK-ULK1 通路调控自噬过程,进而影响突触囊泡蛋白的表达,这一机制有助于维持突触囊泡循环稳态,并对突触前位点的功能发挥调控作用[25]。如图 2 所示,500 μg/mL LB6S 均可以显著提高 SH-SY5Y 突触进程相关基因 *Sirt1*(A)、*Syp*(B)、*Vamp2*(C)、*Vglut1*(D)mRNA 的转录表达(P<0.05)。其中,*Sirt1* 基因的转录表达在 200~500 μg/mL LB6S 组相对对照组提高了 28.3%~87.8%,差异显著(P<0.05),*Syp* 基因则提高了 148%~164.5%,差异极其显著(P<0.0001),效果最为明显,因此选取 *Syp* 进行后续蛋白表达验证。500 μg/mL LB6S 也相对提高了 *Vamp2* 81.7%(P<0.05)及 *Vglut1* 83.2%(P<0.001)。因此,LB6S 可以促进 SH-SY5Y 突触进程相关基因 *Sirt1*、*Syp*、*Vamp2* 及 *Vglut1* 转录表达。

2.3 LB6S 提高 SH-SY5Y 突触囊泡膜蛋白(Syp)表达

如图 3 所示,200~500 μg/mL LB6S 均可以提高 SH-SY5Y 突触囊泡膜蛋白 Syp 的蛋白表达,且存在剂量效应,差异显著(P<0.05)。本研究证实,LB6S 可显著提升突触进程相关指标(*Sirt1*、*Syp*、*Vamp2* 及 *Vglut1*)的基因与 SYP 蛋白表达水平。突触功能的增强为 ND 的研究提供了全新治疗思路,该发现充分表明 LB6S 在 ND 预防与治疗领域兼具重要科研价值与潜在临床应用前景。

2.4 LB6S 调节 LPS 对 SH-SY5Y 细胞因子的转录表达

ND 的病理进程与慢性神经炎症紧密相关[26]。炎性细胞因子(如 TNF-α、IL-1β、IL-6)及自由基化合物(如 ROS、NO、PGE2)可通过促进淀粉样蛋白生成,诱导神经元凋亡,加速疾病进程[27−28]。因此,靶向

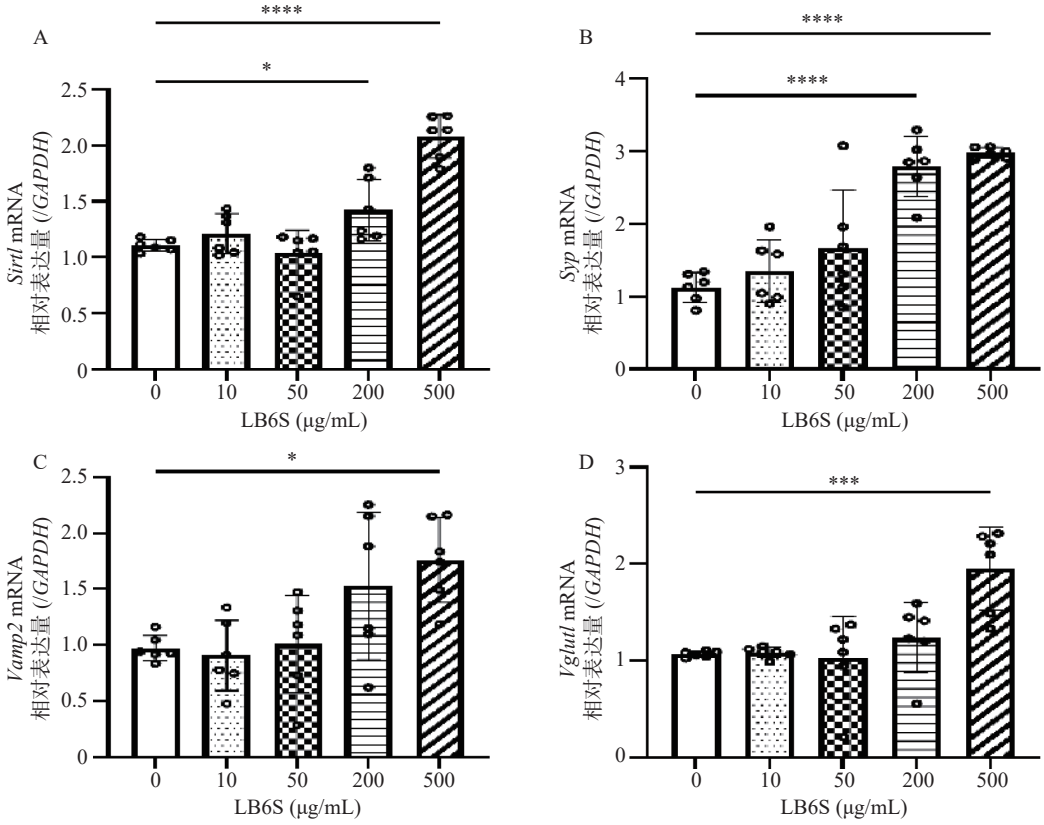


图 2　LB6S 对 SH-SY5Y 细胞突触进程相关基因表达的影响

Fig.2　Effect of LB6S on the expression of synapse process-related genes in SH-SY5Y cells

注：不同剂量 0~500 μg/mL LB6S 对 SH-SY5Y 细胞 *Sirt1*（A）、*Syp*（B）、*Vamp2*（C）、*Vglut1*（D）mRNA 转录表达的影响。

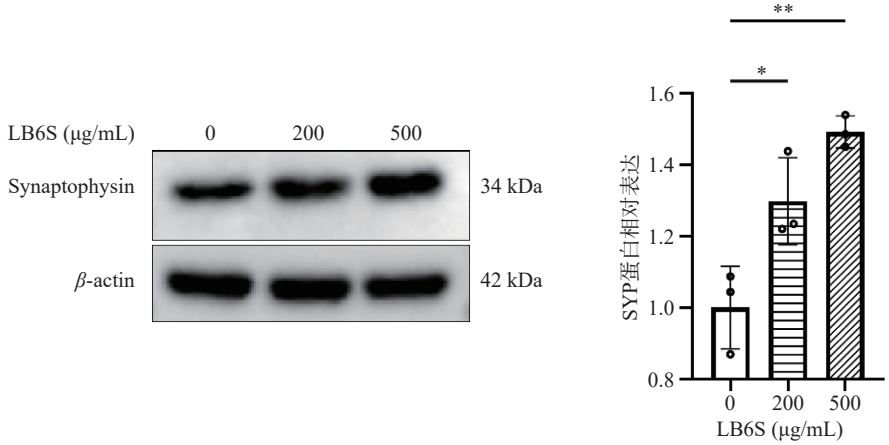


图 3　LB6S 对 SH-SY5Y 突触囊泡膜蛋白表达的影响

Fig.3　Effect of LB6S on the expression of synaptic vesicle membrane proteins in SH-SY5Y cells

神经炎症成为 ND 治疗的潜在策略。具体而言，炎症介质引发神经元死亡，进而激活神经胶质细胞，后者在自我扩增过程中释放更多 TNF-α、IL-1β（早期）及 IL-6（后期）等促炎因子，形成炎症级联反应[29]。促炎因子与神经退行性病变的持续关联表明，机体可能陷入炎症失控、细胞毒性增强的病理状态。如图 4 所示，与 LPS 组相比，500 μg/mL LB6S 均可以降低 SH-SY5Y 因 LPS损伤造成的促炎细胞因子 *TNF-α*（下降 65.6%，P<0.001，差异极其显著）、*IL-6*（下降 28.7%，P<0.01，差异非常显著）和 *IL-1β*（下降 29.3%，P<0.001，差异极其显著）的转录表达，*IL-10* 均无显著差异（P>0.05）。

2.5　LB6S 降低 LPS 对 SH-SY5Y 产生的促炎细胞因子的表达

如图 5 所示，与 LPS 组相比，500 μg/mL LB6S 均可以降低 SH-SY5Y 因 LPS 损伤造成的促炎细胞因子 TNF-α（下降 41.8%，P<0.01，差异非常显著）、IL-6（下降 56.4%，P<0.01，差异非常显著）和 IL-1β

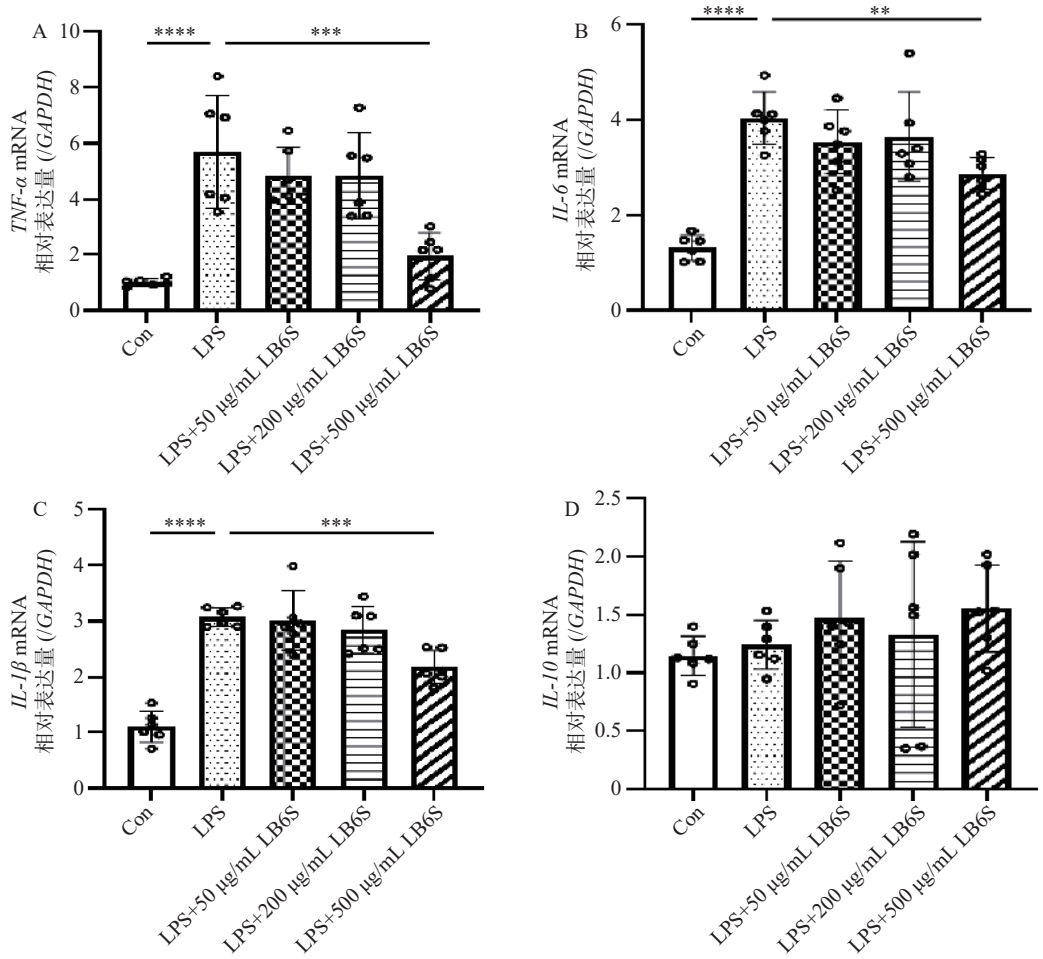


图 4 LB6S 与 LPS 对 SH-SY5Y 细胞因子基因表达的影响

Fig.4 Effects of LB6S and LPS on cytokine gene expression in SH-SY5Y cells

注: 不同剂量 LB6S 先孵育 4 h 继续与 1 μg/mL LPS 共孵育 24 h 后对 SH-SY5Y 细胞因子 *TNF-α*(A)、*IL-6*(B)、*IL-1β*(C)及 *IL-10*(D)转录表达的影响。

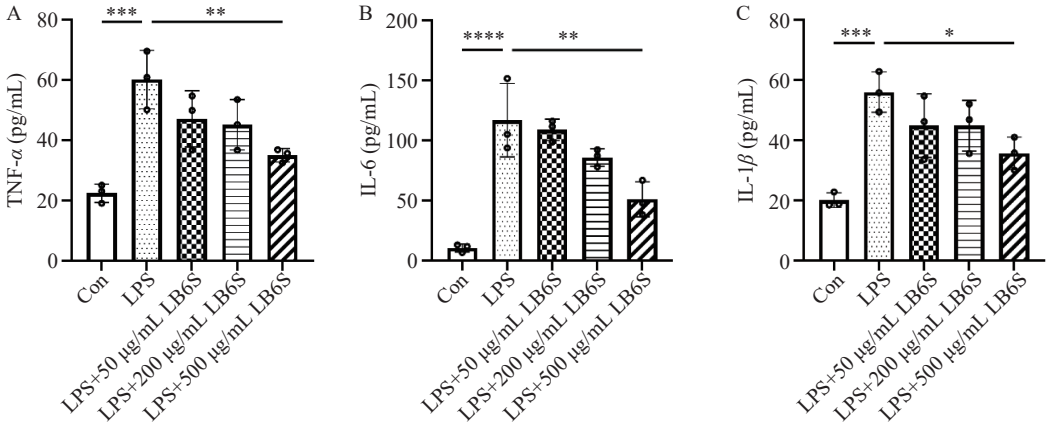


图 5 LB6S 与 LPS 对 SH-SY5Y 细胞因子表达的影响

Fig.5 Effects of LB6S and LPS on cytokine expression in SH-SY5Y cells

注: 不同剂量 LB6S 先孵育 4 h 继续与 1 μg/mL LPS 共孵育 24 h 后对 SH-SY5Y 诱导产生细胞因子 TNF-α(A)、IL-6(B)、IL-1β(C)的影响。

(下降 36.4%, $P<0.05$, 差异显著)的蛋白表达。为深入探究 LB6S 对神经炎症的调节作用, 本研究采用脂多糖(LPS)构建 SH-SY5Y 神经炎性细胞模型, 结果表明 LB6S 干预可显著抑制 LPS 诱导的促炎因子(TNF-α、IL-1β 及 IL-6)基因转录及蛋白表达水平的升高。因此, LB6S 展现出了对神经炎症的调节作用。

2.6 LB6S 调节 LPS 对 SH-SY5Y 信号通路相关基因的转录表达

MAPK 通路参与调控 TNF-α、白介素等促炎细胞因子的表达过程[30]。本研究显示, LB6S 能够下调 SH-SY5Y 神经炎性模型中 *Mapk1* 的异常高表达。此外, NF-κB 作为免疫与炎症反应的关键调控因子,

在生理状态下发挥抗凋亡作用，但在病理条件下，其活性受刺激后可诱导细胞凋亡[31]。研究已证实，NF-κB 的过度激活与 ND 的发生发展密切相关[31−32]。如图 6 所示，500 μg/mL LB6S 均可以降低 SH-SY5Y 因 LPS 损伤造成的信号通路基因 *Casp3*、*Bax*、*NF-κB p65* 及 *Mapk1* 的转录表达。其中，*Casp3* 降低了 30.7%（P<0.01，差异非常显著）、*Bax* 降低了 61.4%（P<0.0001，差异极其显著），*NF-κB p65* 降低了 30.9%（P<0.01，差异非常显著），*Mapk1* 降低了 33.4%（P<0.001，差异极显著）。此外，500 μg/mL LB6S 可以提高抗凋亡因子 *Bcl2* 88.6% 的转录表达（P<0.01，差异非常显著）。因此，LB6S 可以调节 LPS 对 SH-SY5Y 信号通路相关基因的转录表达。

2.7　LB6S 调节 LPS 对 SH-SY5Y 信号通路蛋白的表达

如图 7 所示，WB 结果表明了 500 μg/mL LB6S 均可以降低 SH-SY5Y 因 LPS 损伤造成的 Bax（23.1%，P<0.05，差异显著）、NF-κB p65（18.9%，P<0.05，差异显著）及 p38 Mapk 的蛋白表达（13.3%，P<0.05，

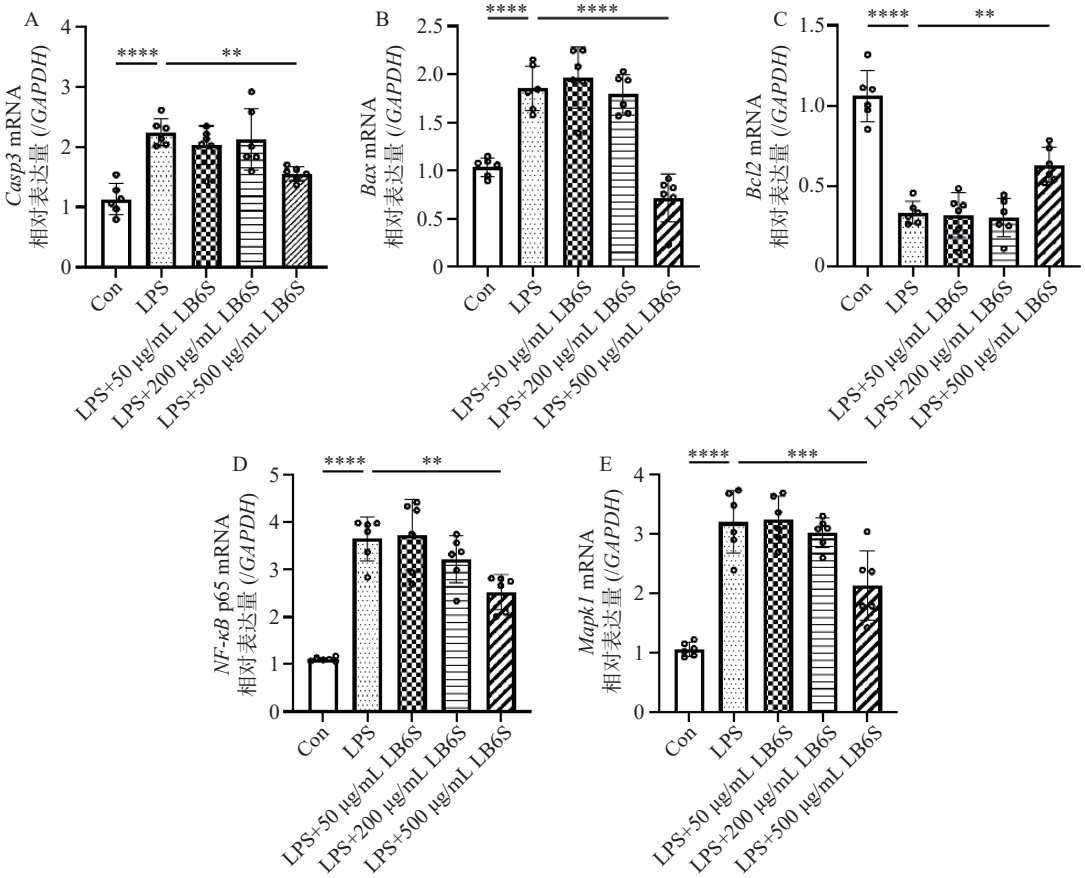
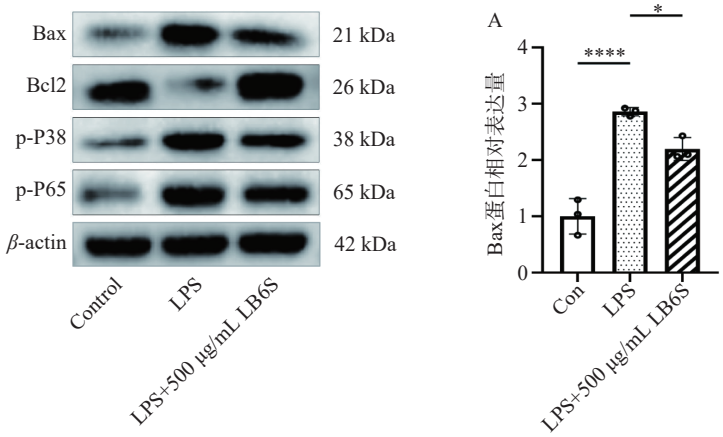


图 6　LB6S 与 LPS 对 SH-SY5Y 信号通路相关基因的转录表达的影响

Fig.6　Effect of LB6S and LPS on the transcriptional expression of signaling pathway-related genes in SH-SY5Y cells

注：不同剂量 LB6S 先孵育 4 h 继续与 1 μg/mL LPS 共孵育 24 h 后对 SH-SY5Y 诱导产生细胞因子 *Casp3*（A）、*Bax*（B）、*Bcl2*（C）、*NF-κB p65*（D）及 *Mapk1*（E）的影响。



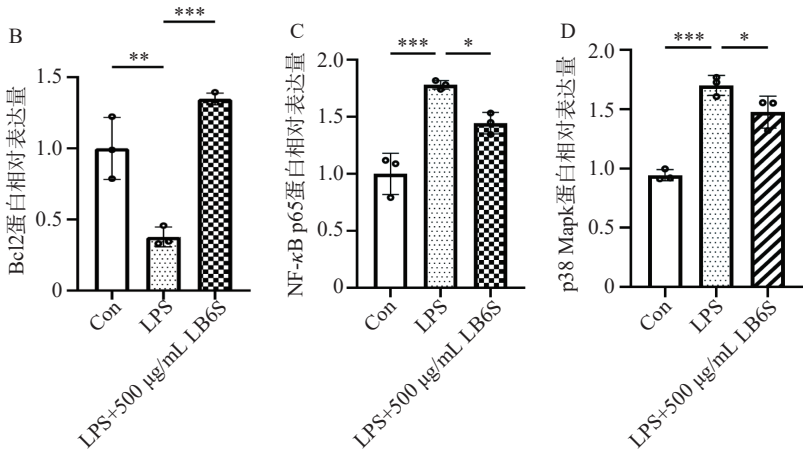


图 7 LB6S 与 LPS 对 SH-SY5Y 信号通路蛋白表达的影响

Fig.7 Effects of LB6S and LPS on signaling pathway protein expression in SH-SY5Y cells

注：不同剂量 LB6S 先孵育 4 h 继续与 1 μg/mL LPS 共孵育 24 h 后对 SH-SY5Y 诱导产生细胞因子 Bax(A)、Bcl2(B)、NF-κB p65(C)及 p38 Mapk(D)的影响。

差异显著)并提高 Bcl2 的蛋白表达(257%, P<0.001, 差异极其显著)。本实验进一步发现, LB6S 可有效抑制 SH-SY5Y 神经炎性模型中 NF-κB 的过表达。尤为重要的是, LB6S 处理能够显著降低 LPS 诱导的 Caspase-3、Bax 等促凋亡因子水平, 同时显著提升抗凋亡因子 Bcl2 的表达, 充分表明 LB6S 具备显著的抗凋亡效应。因此, LB6S 通过 NF-κB 及 MAPK 信号通路影响 LPS 对 SH-SY5Y 凋亡因子蛋白的表达。

3 结论

本研究围绕 LB6S 对神经细胞的作用展开, 探究其对 SH-SY5Y 细胞突触进程相关基因及蛋白的影响, 以及在 LPS 诱导的神经炎性模型中对 SH-SY5Y 细胞的保护作用。研究结果显示, 500 μg/mL LB6S 能够显著提升神经突触囊泡膜蛋白的表达水平, 为早期 ND 的干预及预防提供了新思路。同时, 在神经炎症调控方面, LB6S 可有效抑制神经炎性细胞因子的释放, 并通过参与 MAPK 及 NF-κB 信号通路, 发挥双重调控作用: 一方面降低促凋亡因子 Bax 的水平, 另一方面增强抗凋亡因子 Bcl2 的表达, 从而展现出显著的抗凋亡功效, 实现对神经炎症的抑制作用。本研究不仅为 ND 的预防与治疗提供了创新性思路, LB6S 作用机制及保护效应还为神经功能性食品的开发与临床应用奠定了坚实的理论基础, 有望在神经健康领域发挥重要的转化价值。在后续的研究中会将鼠李糖乳杆菌 B6 发酵脱脂乳应用于睡眠剥夺小鼠中, 探索其对因睡眠剥夺造成的小鼠认知及神经炎性损伤的功效性。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] LIU Yiheng, FU Yuan, ZHANG Yunxia, et al. Butein attenuates the cytotoxic effects of LPS-stimulated microglia on the SH-SY5Y neuronal cell line[J]. European Journal of Pharmacology, 2020, 868: 172858.

[2] CHITNIS T, WEINER H L. CNS inflammation and neurodegeneration[J]. Journal of Clinical Investigation, 2017, 127(10): 3577−3587.

[3] GOLDSTEINS G, HAKOSALO V, JARONEN M, et al. CNS redox homeostasis and dysfunction in neurodegenerative diseases [J]. Antioxidants, 2022, 11(2): 405.

[4] GARABADU D, AGRAWAL N, SHARMA A, et al. Mitochondrial metabolism: A common link between neuroinflammation and neurodegeneration[J]. Behavioural Pharmacology, 2019, 30(8): 642−652.

[5] ZHANG Rongrong, HU Ruidan, LU Xinyi, et al. Polyphenols from the flower of *Hibiscus syriacus* Linn ameliorate neuroinflammation in LPS-treated SH-SY5Y cell[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 130: 110517.

[6] 周海燕, 周俐红, 张彩霞, 等. miR-155-5p 靶向下调 SOCS1 减轻脂多糖诱导的 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞炎症损伤[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2023, 39(3): 220−229. [ZHOU Haiyan, ZHOU Lihong, ZHANG Caixia, et al. miR-155-5p alleviates lipopolysaccharide-induced inflammatory damage of human SH-SY5Y neuroblastoma cells by down-regulating SOCS1[J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2023, 39(3): 220−229.]

[7] BOCK H J, LEE N K, PAIK H D. Neuroprotective effects of heat-killed *Levilactobacillus brevis* KU15152 on H_2O_2-induced oxidative stress[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2023, 33(9): 1−8.

[8] del MILAGRO TERAN M, de MORENO de LEBLANC A, SAVOY de GIORI G, et al. Thiamine-producing lactic acid bacteria and their potential use in the prevention of neurodegenerative diseases[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2021, 105(5): 2097−2107.

[9] KIM S H, LEE J H, KIM E H, et al. Immunomodulatory activity of extracellular vesicles of kimchi-derived lactic acid bacteria (*Leuconostoc mesenteroides, Latilactobacillus curvatus*, and *Lactiplantibacillus plantarum*)[J]. Foods, 2022, 11(3): 313.

[10] SIRIN S, ASLIM B. Protective effect of exopolysaccharides from lactic acid bacteria against amyloid beta1-42-induced oxida-

tive stress in SH-SY5Y cells: Involvement of the AKT, MAPK, and NF-κB signaling pathway[J]. Process Biochemistry, 2021, 106: 50−59.
[11] CHOI H J, LEE H L, KIM I Y, et al. Oral administration of *Lactobacillus gasseri* and *Lacticaseibacillus rhamnosus* ameliorates amyloid beta (Aβ)-induced cognitive impairment by improving synaptic function through regulation of TLR4/Akt pathway[J]. Antioxidants (Basel), 2025, 14(2): 139.
[12] HAN Jin, XIA Wei, WANG Danqi, et al. Characterization of an exopolysaccharide synthesized by *Lacticaseibacillus rhamnosus* B6 and its immunomodulatory activity *in vitro*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 264: 130576.
[13] ZHANG Xin, ZHENG Yuanrong, LIU Zhenmin, et al. Insights into characteristic metabolites and potential bioactive peptides profiles of fresh cheese fermented with three novel probiotics based metabolomics and peptidomics[J]. Food Chemistry: X, 2024, 21: 101147.
[14] 於文慧, 王禕天, 胡丹, 等. 发酵粘液乳杆菌 B44 胞外多糖的纯化及其对铅暴露 Caco-2 细胞的保护作用[J]. 食品工业科技, 2025, 46(24): 431−440. [YU Wenhui, WANG Yitian, HU Dan, et al. Exopolysaccharides produced by *Limosilactobacillus fermentum* B44: Purification and protective effects on lead-ion exposed Caco-2 cells[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(24): 431−440.]
[15] WANG Chunyang, SUN Zhaonan, WANG Mingxin, et al. SIRT1 mediates salidroside-elicited protective effects against MPP^+-induced apoptosis and oxidative stress in SH-SY5Y cells: Involvement in suppressing MAPK pathways[J]. Cell Biology International, 2018, 42(1): 84−94.
[16] THOMSON A C, SCHUHMANN T, de GRAAF T A, et al. The effects of serum removal on gene expression and morphological plasticity markers in differentiated SH-SY5Y cells[J]. Cellular and Molecular Neurobiology, 2022, 42(6): 1829−1839.
[17] KIM H, LEE H M, KIM S J. *Pinus koraiensis* essential oil enhances glucose uptake and proliferation in SH-SY5Y neuroblastoma cells[J]. Scientific Reports, 2024, 14: 26630.
[18] SIANO G, VARISCO M, CAIAZZA M C, et al. Tau modulates VGluT1 expression[J]. Journal of Molecular Biology, 2019, 431(4): 873−884.
[19] VILLAORDUÑA C, MENDOZA-CARLOS M, CHUYMA M, et al. Ipconazole induces oxidative stress, cell death, and proinflammation in SH-SY5Y cells[J]. Toxics, 2023, 11(7): 566.
[20] NGUYEN H D, JO W H, HONG M H N, et al. The anti-inflammatory effects of vitamin B6 on neuroinflammation and neuronal damage caused by 1,2-diacetylbenzene in BV2 microglial and SH-SY5Y cells[J]. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2025, 47(3): 273−286.
[21] DEJANOVIC B, SHENG M, HANSON J E. Targeting synapse function and loss for treatment of neurodegenerative diseases[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2024, 23(1): 23−42.
[22] LINDSTRÖM S H, SUNDBERG S C, LARSSON M, et al. VGluT1 deficiency impairs visual attention and reduces the dynamic range of short-term plasticity at corticothalamic synapses[J]. Cerebral Cortex, 2020, 30(3): 1813−1829.
[23] REIMER R J. Vesicular neurotransmitter transporters[M]// SQUIRE L R. Encyclopedia of Neuroscience. Academic Press, 2009: 107−113.
[24] LIAN Bolin, ZHANG Jing, YIN Xiang, et al. SIRT1 improves lactate homeostasis in the brain to alleviate parkinsonism via deacetylation and inhibition of PKM2[J]. Cell Reports Medicine, 2024, 5(8): 101684.
[25] 何静, 王蓉. Sirt1 对 SH-SY5Y 细胞突触囊泡蛋白表达的影响[J]. 神经疾病与精神卫生, 2024, 24(4): 243−249. [HE Jing, WANG Rong. Effects of Sirt1 on synaptic vesicle protein expression in SH-SY5Y cells[J]. Journal of Neuroscience and Mental Health, 2024, 24(4): 243−249.]
[26] MOLTENI M, ROSSETTI C. Neurodegenerative diseases: The immunological perspective[J]. Journal of Neuroimmunology, 2017, 313: 109−115.
[27] LIU Enjie, ZHANG Yao, WANG Jianzhi. Updates in Alzheimer's disease: From basic research to diagnosis and therapies[J]. Translational Neurodegeneration, 2024, 13(1): 45.
[28] GUO Shenrui, WANG Hui, YIN Yafu. Microglia polarization from M1 to M2 in neurodegenerative diseases[J]. Frontiers in Aging Neuroscience, 2022, 14: 815347.
[29] ROTHWELL N J, LUHESHI G N. Interleukin 1 in the brain: Biology, pathology and therapeutic target[J]. Trends in Neurosciences, 2000, 23(12): 618−625.
[30] HADDAD J J, LAND S C. Redox/ROS regulation of lipopolysaccharide-induced mitogen-activated protein kinase (MAPK) activation and MAPK-mediated TNF-α biosynthesis[J]. British Journal of Pharmacology, 2002, 135(2): 520−536.
[31] SINGH S, SINGH T G. Role of nuclear factor kappa B (NF-κB) signalling in neurodegenerative diseases: An mechanistic approach[J]. Current Neuropharmacology, 2020, 18(10): 918−935.
[32] SHIH R H, WANG C Y, YANG C M. NF-kappaB signaling pathways in neurological inflammation: A mini review[J]. Frontiers in Molecular Neuroscience, 2015, 8: 77.