陈 峣,于 漫,刘映洁,等.虾青素对砷致 HT-22 细胞线粒体损伤的保护作用及机制 [J]. 中国环境科学, 2026,46(3):1646-1654.
Chen Y, Yu M, Liu Y J, et al. Protective effect of astaxanthin on the mitochondrial lesions induced by arsenic in HT-22 cells [J]. China Environmental Science, 2026,46(3):1646-1654.

虾青素对砷致 HT-22 细胞线粒体损伤的保护作用及机制

陈 峣,于 漫,刘映洁,张艺馨,任 航,王 梅* (辽宁中医药大学基础医学院,辽宁 沈阳 110847)

摘要：探究虾青素(AST)对环境污染物砷诱导小鼠海马神经元细胞(HT-22)线粒体途径依赖性凋亡的保护机制;通过建立 HT-22 细胞 $NaAsO_2$ 暴露模型(0, 4, 6, 8, 10μmol/L)并设置虾青素(2μmol/L)单独处理组及虾青素干预组(2μmol/L AST + 10μmol/L $NaAsO_2$),评价虾青素对砷致神经细胞损伤的干预效果;利用二氯荧光素(DCFH-DA)检测活性氧(ROS)水平,ATP 试剂盒评估线粒体能量代谢功能,并结合免疫印迹(Western blot)技术分析了 PGAM5 信号通路、线粒体动力学(分裂/融合)、自噬及凋亡关键蛋白的表达变化.结果表明,$NaAsO_2$ 暴露显著诱导 HT-22 细胞 ROS 过量生成(P<0.05),导致 ATP 合成减少(P<0.05),并激活 PGAM5,促进 Drp1-Ser616 磷酸化,抑制 Drp1-Ser637 磷酸化及融合蛋白(OPA1, MFN1)表达,引发线粒体过度分裂.虾青素干预可有效逆转上述损伤(P<0.05),显著抑制 PGAM5 介导的线粒体分裂,减轻氧化应激并改善能量代谢障碍.机制上,虾青素通过抑制 AMPK 磷酸化并恢复 mTOR 活性,降低自噬标志蛋白 LC3II/LC3I 比值,同时下调促凋亡蛋白(Bax, cleaved-caspase-3)表达并上调抗凋亡蛋白 Bcl-2(P<0.05),进而调控 AMPK-mTOR 通路依赖性自噬与线粒体凋亡途径.本研究表明,虾青素通过靶向 PGAM5 调控线粒体动力学平衡,改善能量代谢,并干预 AMPK-mTOR-自噬-凋亡信号级联反应,对 $NaAsO_2$ 诱导的神经细胞线粒体途径依赖性凋亡发挥关键保护作用.

关键词：虾青素；砷；自噬；凋亡；神经损伤
中图分类号：X18 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2026)03-1646-09

Protective effect of astaxanthin on the mitochondrial lesions induced by arsenic in HT-22 cells. CHEN Yao, YU Man, LIU Ying-jie, ZHANG Yi-xin, REN Hang, WANG Mei* (School of Basic Medicine, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China). *China Environmental Science*, 2026,46(3)：1646~1654

Abstract：This study focused on the protective mechanism of astaxanthin (AST) against arsenic-induced mitochondrial-dependent apoptosis in mouse hippocampal neuronal cells (HT-22). An in vitro sodium arsenite ($NaAsO_2$) exposure model was established in HT-22cells, including control, $NaAsO_2$-exposed (4, 6, 8, 10μmol/L), AST-treated (2μmol/L), and AST-intervened (2μmol/L AST + 10μmol/L $NaAsO_2$) groups, so as to evaluate the effects of AST intervention on arsenic-induced neural lesions. DCFH-DA was used to detect the level of reactive oxygen species (ROS). An ATP kit was used to assess the energy metabolism of mitochondria via ATP production. The levels of protein, including PGAM5 and signaling pathways of mitochondrial dynamics (fission/fusion), autophagy, and apoptosis, was analyzed by Western blot. Results showed that $NaAsO_2$ exposure significantly induced increased generation of ROS (P<0.05), decreased synthesis of ATP (P<0.05), activation of PGAM5, up-regulation of *p*-Drp1-Ser616, and down-regulation of *p*-Drp1-Ser637 and mitochondrial fusion proteins (OPA1, MFN1), leading to excessive mitochondrial fission. Intervention by AST effectively reversed these effects (P<0.05), which were demonstrated by the inhibition of PGAM5-mediated mitochondrial fission, alleviation of oxidative stress, and reversion of energy metabolism. It is supposed that AST plays a role in AMPK-mTOR-dependent autophagy and mitochondrial apoptosis. On one hand, AST inhibited AMPK phosphorylation which subsequently activated mTOR and down-regulated LC3II/LC3I ratio (autophagy marker); on the other hand, AST down-regulated pro-apoptotic proteins (Bax, cleaved-caspase-3), and upregulated anti-apoptotic Bcl-2 (P<0.05), thereby regulating AMPK-mTOR-dependent autophagy and mitochondrial apoptosis. This study suggests that AST protects against $NaAsO_2$-induced neurotoxicity by targeting PGAM5through the recovery of mitochondrial dynamics, improvement of energy metabolism, and regulation of AMPK-mTOR-autophagy-apoptosis axis, providing highlights on potential therapeutic strategies for arsenic-related neuronal damage.

Key words：astaxanthin；arsenic；autophagy；apoptosis；neural damage

砷(As)是一种广泛存在于环境中的有毒类金属物质,主要以化合物的形式存在于土壤、水体和岩石中[1-4].我国西南高砷区(如云南、贵州等地)的饮用水砷污染问题尤为突出,长期暴露可导致严重的神经系统损伤[5-6].全球超 100 个国家数百万人口面临饮水砷暴露的健康风险,其与神经退行性疾病发生显

收稿日期：2025-07-22
基金项目：2024 年辽宁省科技计划联合计划项目(自然科学基金-博士科研启动项目)(2024-BSLH-156)
* 责任作者，副教授, YFW_1966@163.com

著相关[7-9].流行病学研究显示,砷能够穿越血脑屏障,通过诱导氧化应激、线粒体功能障碍及能量代谢紊乱,引发神经元凋亡和认知功能损害[10-12].砷还可破坏血脑屏障完整性,并蓄积于脑组织[11,13-14].

线粒体作为细胞能量代谢和凋亡调控的核心细胞器,是砷暴露诱导神经毒性的关键靶点.砷诱导线粒体电子传递链(ETC)功能障碍,导致超氧化物阴离子等活性氧(ROS)过量产生,抑制复合物 I/III 活性,可降低 ATP 合成效率 50%以上[7,15].研究表明,砷可通过干扰线粒体动力学(分裂与融合平衡)触发细胞凋亡,但其分子机制尚未完全阐明.磷酸甘油酸变位酶 5(PGAM5)是一种位于线粒体的关键调控蛋白,在维持线粒体稳态和调控细胞死亡过程中发挥核心作用[16].近期研究发现,PGAM5 可作为多条细胞死亡信号通路的整合点,参与调节氧化应激与炎症反应[17-18].尤其值得注意的是,PGAM5 可通过磷酸化/去磷酸化修饰动力蛋白相关蛋白 1(Drp1)促进其向线粒体转位,诱导线粒体过度分裂[19-22],进而启动凋亡程序,触发细胞凋亡与自噬的异常激活.自噬与凋亡作为细胞死亡的两种重要形式,在砷的神经毒性中表现出复杂的交互作用:适度的自噬可清除受损线粒体发挥保护作用,而过度激活的自噬则可能促进凋亡进程[23].PGAM5 不仅通过 Drp1 调控线粒体分裂,还作为多条信号通路的交汇点,参与调控 AMPK-mTOR 等自噬相关通路,影响自噬与凋亡之间的平衡[18,24-25],但这一机制在砷暴露中的作用尚未明确.

虾青素(AST)是一种天然类胡萝卜素色素,具有强大的抗氧化、抗凋亡和抗炎特性[26-27].本研究首次提出虾青素可能通过调控 PGAM5/Drp1-AMPK-mTOR 轴,同时影响线粒体依赖性凋亡与自噬过程,从而抵抗砷的神经毒性.通过构建亚砷酸钠($NaAsO_2$)暴露的小鼠海马神经元(HT-22)细胞模型,本文旨在阐明砷暴露如何通过破坏线粒体稳态导致自噬与凋亡失衡,并探讨虾青素是否可借助双重调控自噬与凋亡发挥神经保护作用.旨在为环境砷污染导致的神经退行性病变提供新的干预策略.

1　材料和方法

1.1　细胞培养与处理

小鼠海马神经元细胞系 HT-22 购自北京北纳创联生物技术研究院.细胞培养于补充有 10%胎牛血清(以色列 Biological Industries 公司)、50U/mL 青霉素-链霉素(美国 Invitrogen 公司)、50mg/mL 非必需氨基酸(美国 Cyagen 公司)的 MEM 培养基(以色列 Biological Industries 公司)中,置于 5%CO_2 的培养箱 37°C 恒温培养.用不同浓度的 $NaAsO_2$ 处理 24h,并收集细胞进行进一步研究.

将细胞分为对照组,4, 6, 8, 10μmol/L $NaAsO_2$ 暴露组、虾青素(AST, 2μmol/L,美国 Sigma-Aldrich 公司)干预组及 AST(2μmol/L)与 $NaAsO_2$(10μmol/L)联合处理组.细胞处理方法如下;对照组细胞不进行任何处理;4, 6, 8, 10μmol/L $NaAsO_2$ 暴露组细胞使用 $NaAsO_2$ 进行处理,处理时间为 24h;AST 独立干预组细胞使用终浓度为 2μmol/L AST 处理细胞 1h,之后不再进行其他处理;AST 与 $NaAsO_2$ 联合处理组细胞使用 2μmol/L AST 处理细胞 1h,后使用终浓度为 10μmol/L $NaAsO_2$ 进行处理,处理时间为 24h.

1.2　细胞活力检测

采用 CCK-8 法检测 $NaAsO_2$ 对 HT-22 细胞活力的影响.取对数生长期细胞以 5×10^4 个/孔接种于 96 孔板,培养 24h 细胞贴壁后,弃原培养基,分别加入含不同浓度 $NaAsO_2$(0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16μmol/L)的培养液,继续处理 24h.每孔加入 10μL CCK-8 溶液,避光孵育 2h 后,使用酶标仪于 450nm 波长下检测各孔吸光度(OD).以空白调零,计算细胞存活率,实验独立重复 3 次.

1.3　线粒体质量检测

采用 MitoTracker Green(一种相对无毒的荧光探针,通常用于化学标记和可视化活细胞中的线粒体)来评估暴露于 $NaAsO_2$ 的 HT-22 细胞的线粒体质量.将 HT-22 细胞以 1×10^5 个细胞/孔的密度接种在 6 孔板中,于细胞处理终点按照说明书加入 MitoTracker Green 荧光探针,采用正倒置一体显微镜(PVL-100-G, Echo-labs,USA)观察细胞荧光强度,并通过 ImageJ 软件(美国 NIH 公司)对荧光图像进行定量分析,荧光强度越强,线粒体质量越高.

1.4　JC-1 检测线粒体膜电位

采用 JC-1 荧光探针法检测 $NaAsO_2$ 对 HT-22 细胞线粒体膜电位的影响.取对数生长期细胞以适当密度接种于 6 孔黑色培养板,培养 24h 贴壁后,弃原培养基,分别加入含不同浓度 $NaAsO_2$ 的培养液,

处理24h.弃去药液,每孔加入JC−1工作液,37°C避光孵育20min.用预冷的PBS清洗细胞2次,采用正倒置一体显微镜(PVL−100−G, Echo−labs, USA)分别检测JC−1单体形式(膜电位较低,绿色荧光)和聚合体形式(膜电位较高,红色荧光)的荧光强度,以评估线粒体膜电位变化,实验重复3次.

1.5 二氯荧光素(DCFH−DA)法检测活性氧

采用2,7−二氯荧光素二乙酸酯(DCFH−DA)(中国Solarbio公司)荧光探针检测细胞内ROS水平.将HT−22细胞以每孔1×10^5个的密度接种于6孔板中,在37°C、5% CO_2条件下培养24h,待细胞完全贴壁后,弃去原培养基.分别加入含不同浓度$NaAsO_2$/AST的处理培养基,继续培养24h.处理结束后,弃去培养液,使用PBS清洗细胞两次.每孔加入1mL经无血清培养基稀释至终浓度10μmol/L的DCFH−DA工作液,37°C避光孵育30min.孵育结束后,用PBS充分洗涤细胞去除残余探针,加入胰蛋白酶消化并收集细胞,重悬于500μL PBS中,立即上机检测.使用流式细胞仪(美国BD公司)收集细胞检测荧光强度,每样本采集1×10^4个细胞.实验独立重复3次.采用ModFit LT软件进行数据分析,结果以平均荧光强度表示.

1.6 ATP含量检测

采用ATP检测试剂盒(中国Beyotime公司)测定HT−22细胞中的ATP含量.收集处理终点的细胞,于冰上充分裂解,4°C、12000×*g*离心5min,取上清液用于检测.采用BCA法测定各样本的蛋白质浓度,以标准化ATP含量.将100μL上清液与等体积ATP检测工作液混合于96孔白色不透光酶标板中,室温避光反应5min.立即使用酶标仪(美国BioTek公司)在485nm波长下检测各孔的荧光强度,根据标准曲线计算样本中ATP的实际浓度,并计算单位蛋白质量下的ATP含量,实验重复3次.

1.7 Western blot检测

通过蛋白质印迹法检测PGAM5(1:500, ABclonal)、*p*−DRP1Ser 616、*p*−DRP1Ser 637(1:1000, Cell Signaling)、OPA1、Bcl−2、Bax(1:500, Santa Cruz)、MFN1(1:500, proteintech)、cleaved−caspase−3(1:1000, Wanlei)、*β*−Actin(1:8000, proteintech)的蛋白水平.

采用含有1%蛋白酶抑制剂(PMSF,中国Beyotime公司)及1%磷酸酶抑制剂(中国Beyotime公司)的RIPA裂解缓冲液(中国Beyotime公司)于冰上裂解处理终点的HT-22细胞,4°C、12000×g离心15min,收集上清液.使用BCA法测定蛋白浓度,取30μg总蛋白进行SDS-PAGE电泳分离,随后转至PVDF膜.封闭后依次孵育一抗和二抗,使用电泳凝胶成像分析系统(美国BioSpectrum Imaging System公司)检测蛋白条带,并通过ImageJ软件(美国NIH公司)对条带灰度进行定量分析.

1.8 统计分析

所有数据均来自至少3个独立实验.数据表示为(平均值±标准差),并使用SPSS 22.0软件进行分析.计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步进行SNK−q检验,两组比较采用t检验.$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果与分析

2.1 $NaAsO_2$暴露致HT−22细胞线粒体损伤

采用CCK−8法检测$NaAsO_2$对HT−22细胞活力的影响,结果显示,在低剂量(<4μmol/L)$NaAsO_2$的作用下,HT−22细胞活力有所上升,随后开始下降,在10μmol/L时细胞活力约为70%(图1).因此结合实验结果,选取10μmol/L为最高染毒剂量,设定细胞染毒剂量分组为对照组, 4, 6, 8, 10μmol/L.

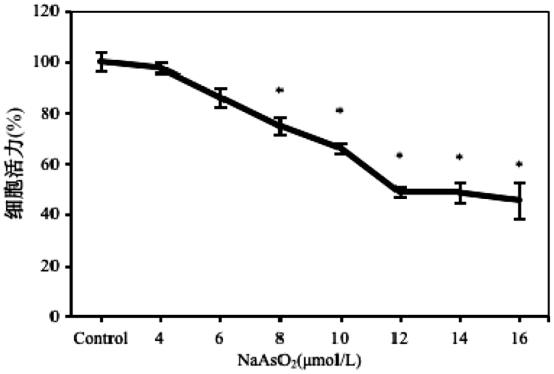


图1 $NaAsO_2$暴露HT−22细胞活力

Fig.1 Cell viability of $NaAsO_2$ exposed HT−22 cells

* $P<0.05$

检测经$NaAsO_2$处理的HT−22细胞中的线粒体质量.镜下观察发现,6,8,10μmol/L$NaAsO_2$暴露组细胞内线粒体荧光强度显著低于对照组,且荧光强度随着$NaAsO_2$剂量的增加而降低, 10μmol/L$NaAsO_2$

暴露组的线粒体荧光强度最低(P<0.05,图 2).实验结果表明,$NaAsO_2$暴露损伤细胞线粒体,并且这种影响呈现出明显的剂量−效应关系.

本文前期实验发现,$NaAsO_2$ 暴露显著激活了 PGAM5/DRP1 信号通路,表现为 PGAM5 蛋白水平呈剂量依赖性增加,其下游靶蛋白 p−DRP1(Ser616)显著上调,p−DRP1(Ser637)显著下调.同时,与对照组相比,$NaAsO_2$ 暴露后线粒体融合相关蛋白视神经萎缩蛋白 1(OPA1)和线粒体融合蛋白 1(MFN1)水平明显降低.另外,$NaAsO_2$ 暴露通过 AMPK−mTOR 信号通路激活了 HT−22 细胞自噬和凋亡[28].前期实验结果证实,$NaAsO_2$ 暴露导致了 HT−22 细胞线粒体损伤,同时显著激活了 HT−22 细胞的自噬和凋亡水平.

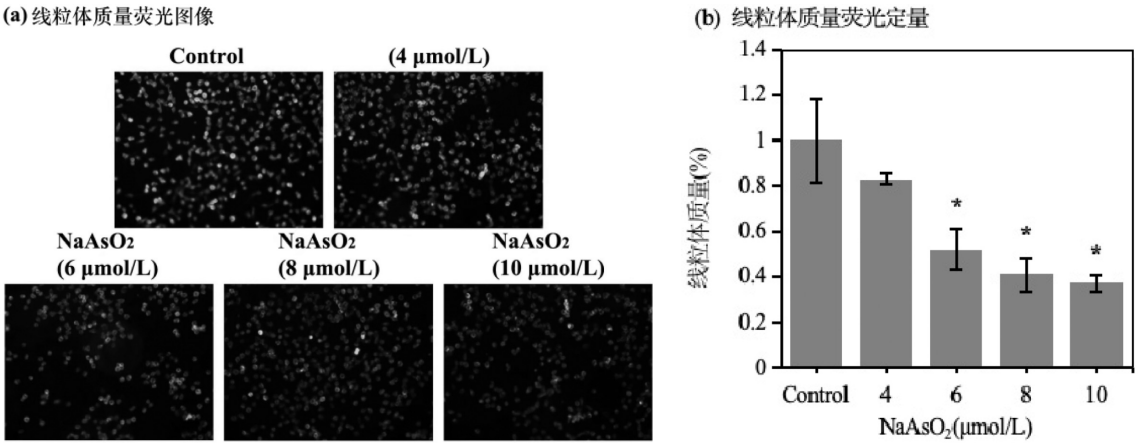


图 2　$NaAsO_2$ 暴露细胞线粒体质量荧光图像及定量

Fig.2　Fluorescent images and quantification of $NaASO_2$ exposed cells stained with MitoTracker Green

* P<0.05

2.2　AST 干预降低 $NaAsO_2$ 暴露 HT−22 细胞线粒体损伤

为验证 AST 对线粒体的保护作用,根据已有文献结合细胞表现,选择 2μmol/L 作为 AST 处理浓度处理细胞[29-30].通过特异性荧光探针检测发现,与对照组相比,$NaAsO_2$ 暴露组中线粒体特异性荧光信号强度显著降低(P<0.05,图 3).值得注意的是,与 $NaAsO_2$ 暴露组相比,AST 与 $NaAsO_2$ 联合处理组线粒体荧光强度显著增加(P<0.05,图 3),提示 AST 可能通过保护线粒体来对抗 $NaAsO_2$ 的毒性作用.

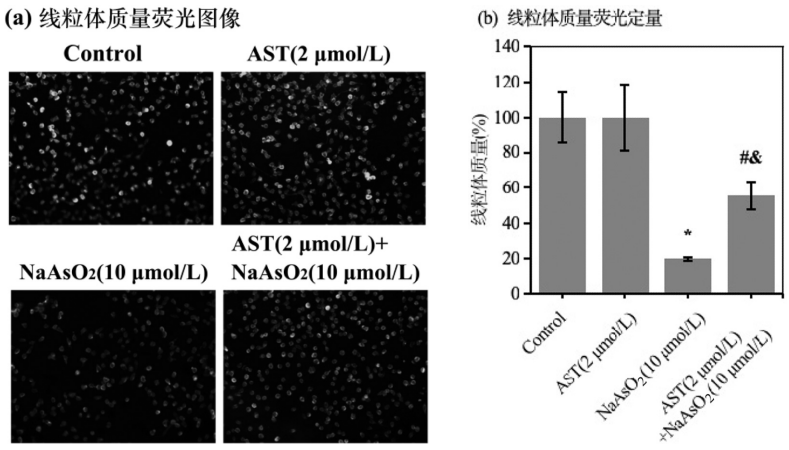


图 3　AST 处理细胞线粒体质量荧光图像及定量

Fig.3　Fluorescent images and quantification of AST−treated cells stained with MitoTracker Green

*,vs.control group; #, vs. AST intervention group; &, vs. $NaAsO_2$ exposure group (10 μmol/L); P<0.05

采用 JC−1 染色法评估线粒体膜电位变化,观察发现,与对照组相比,$NaAsO_2$ 暴露组细胞 JC−1 单体形式(FITC)荧光信号明显增强,而 JC−1 聚集形式(Txred)荧光信号明显减弱(P<0.05,图 4),提示线粒体膜电位去极化.与 $NaAsO_2$ 暴露组相比,AST 与 $NaAsO_2$ 联合处理组 JC−1 单体荧光信号降低,同时 JC−1 聚集荧光信号增强(P<0.05,图 4),表明 AST 不仅能改善线粒体形态结构完整性,还可以稳定线粒体跨膜电位,协同发挥针对 $NaAsO_2$ 毒性的防护效应.

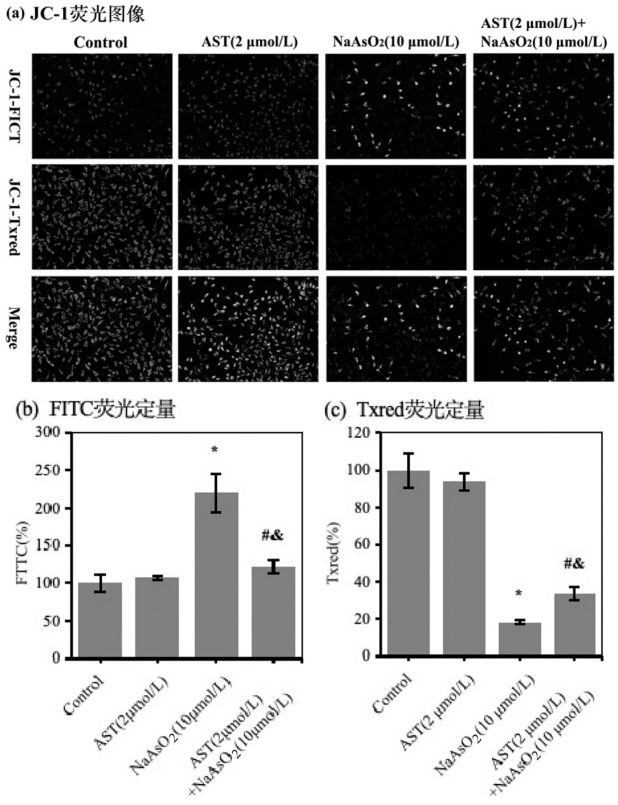


图 4 AST 干预细胞线粒体膜电位荧光图像及定量

Fig.4 Fluorescent images and quantification of AST−treated cells stained with JC−1

*, vs. control group; #, vs. AST intervention group; &, vs. $NaAsO_2$ exposure group (10μmol/L); P<0.05

采用 Western blot 技术评估线粒体动态调控相关蛋白的表达变化.Drp1 在 Ser616 处的磷酸化促进其在外线粒体膜上的积累,导致线粒体分裂增加.与之相反,Drp1 在 Ser637 处的磷酸化则是防止线粒体分裂的一种保护机制[22].线粒体动力学的平衡依赖于分裂与融合过程的动态调控.其中视神经萎缩蛋白 1(OPA1)和线粒体融合蛋白 1(MFN1)均为线粒体融合过程中的核心蛋白质[31].实验数据显示,$NaAsO_2$ 暴露显著影响 HT−22 细胞线粒体动力学平衡,表现为:与对照组相比,$NaAsO_2$ 暴露组 PGAM5 蛋白表达水平显著升高(P<0.05),Drp1 的 Ser616 位点磷酸化水平显著增加,伴随 Ser637 位点磷酸化水平显著下降(P<0.05,图 5).同时,与对照组相比,$NaAsO_2$ 暴露组线粒体融合相关蛋白 OPA1 和 MFN1 的表达量均显著降低(P<0.05,图 5).

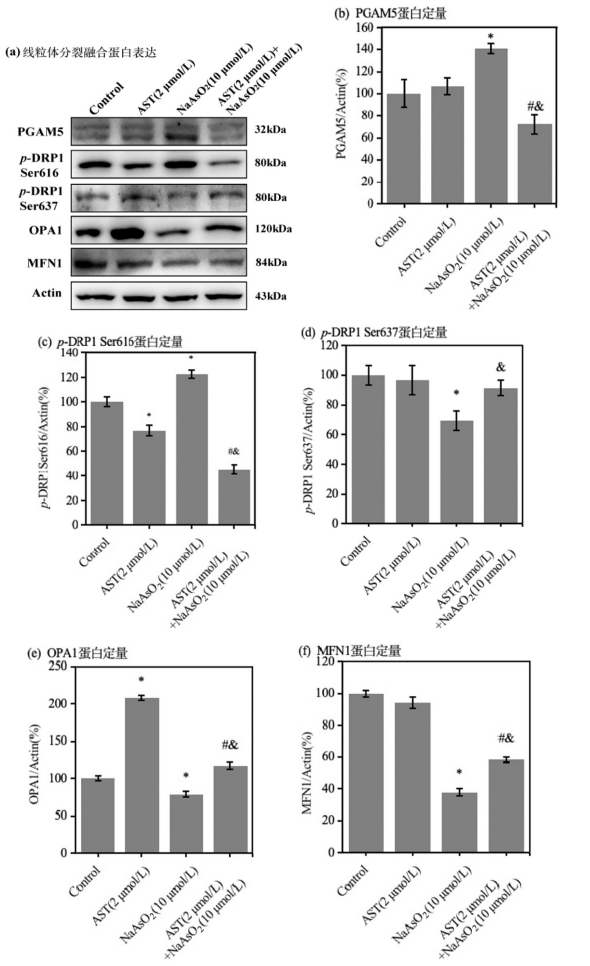


图 5 AST 干预细胞线粒体分裂融合蛋白表达水平

Fig.5 Expression of mitochondrial fission fusion protein in cells treated with AST

*, vs. control group; #, vs. AST intervention group; &, vs. $NaAsO_2$ exposure group (10μmol/L); P<0.05

值得注意的是,AST 与 $NaAsO_2$ 联合处理可有效逆转上述异常表达,AST 与 $NaAsO_2$ 联合处理组 PGAM5 和 p−DRP1(Ser616)的蛋白表达水平较 $NaAsO_2$ 暴露组均显著下降(P<0.05),而 p−DRP1(Ser637)磷酸化水平恢复至对照组水平(图 5).同时,与 $NaAsO_2$ 暴露组相比,AST 与 $NaAsO_2$ 联合处理组 OPA1 和 MFN1 的蛋白表达量均显著提升(P<0.05,图 5).这些分子水平的改变提示,虾青素可能通过抑

制过度线粒体分裂和促进线粒体融合,从而发挥其对线粒体功能的保护作用.

2.3　AST 干预抑制 $NaAsO_2$ 暴露诱导氧化应激水平并增加细胞 ATP 合成

通过流式细胞术测量细胞内 ROS 水平,与对照组相比,$NaAsO_2$ 暴露组细胞 ROS 水平显著增加(P<0.05).与 $NaAsO_2$ 暴露组相比,AST 与 $NaAsO_2$ 联合处理组细胞ROS水平显著降低(P<0.05,图6),结果证明AST干预显著降低了由$NaAsO_2$暴露诱导的氧化应激水平.

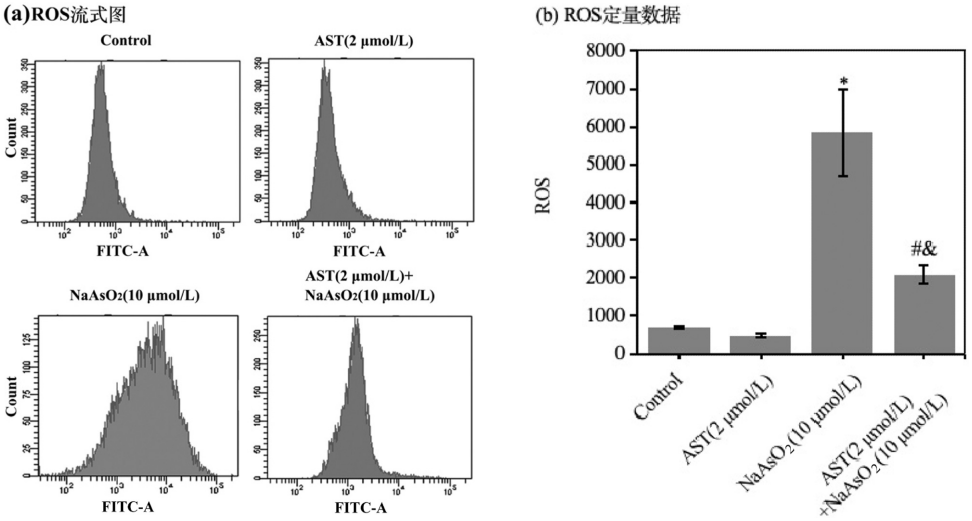


图 6　AST 干预细胞氧化应激水平

Fig.6　Cellular oxidative stress in cells treated with AST

*, vs. control group; #, vs. AST intervention group; &, vs. $NaAsO_2$ exposure group (10μmol/L); P<0.05

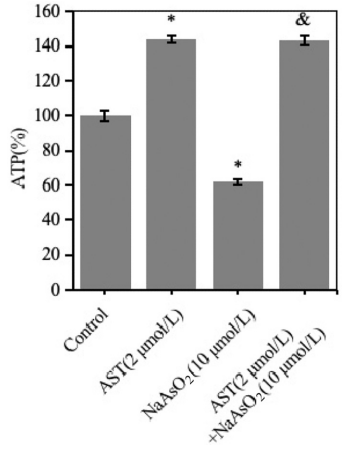


图 7　AST 干预细胞 ATP 水平

Fig.7　ATP levels in cells treated with AST

*, vs. control group; &, vs. $NaAsO_2$ exposure group (10 μmol/L); P<0.05

测量细胞ATP水平显示,与对照组相比,$NaAsO_2$暴露显著降低了细胞 ATP 浓度.与 $NaAsO_2$ 暴露组相比,AST 与 $NaAsO_2$ 联合处理组细胞 ATP 水平明显增加(P<0.05,图 7).表明 AST 通过保护细胞线粒体完整性,降低 $NaAsO_2$ 诱导的氧化应激损伤,起到细胞保护作用.

2.4　AST 通过 AMPK−mTOR 通路抑制 $NaAsO_2$ 暴露所致细胞凋亡

采用 Western blot 检测 HT−22 细胞中 AMPK−mTOR 通路和自噬相关蛋白的表达.如图 8 所示,与对照组相比,$NaAsO_2$ 暴露组细胞 p−AMPK 表达显著增加,p−mTOR 表达明显减少,同时自噬标记蛋白 LC3II/LC3I 显著增加(P<0.05),结果表明 $NaAsO_2$ 暴露通过 AMPK−mTOR 通路显著激活了 HT−22 细胞的自噬.与 $NaAsO_2$ 暴露组相比,AST 与 $NaAsO_2$ 联合处理组 p−AMPK 表达水平降低,p−mTOR 表达增加,同时 LC3II/LC3I 显著降低(P<0.05,图 8),结果表明 AST 可通过抑制 AMPK−mTOR 通路激活,进而降低 $NaAsO_2$ 诱导的细胞自噬水平.

采用 Western blot 分析细胞中的凋亡蛋白表达水平.结果显示与对照组相比,$NaAsO_2$ 暴露显著激活了 HT−22 细胞的凋亡水平,表现为 Bax 和 cleaved−caspase−3 的表达增加,Bcl−2 的表达减少(P<0.05,图 9).此外,与 $NaAsO_2$ 暴露组相比,AST 与 $NaAsO_2$ 联合处理组细胞 Bax、cleaved−caspase−3 的表达水平显著降低,同时 Bcl−2 表达增加(P<0.05,图 9).表明 AST 干预显著降低了 $NaAsO_2$ 暴露诱导的 AMPK−mTOR 通路激活,并抑制细胞凋亡,具有明显的细胞保护作用.

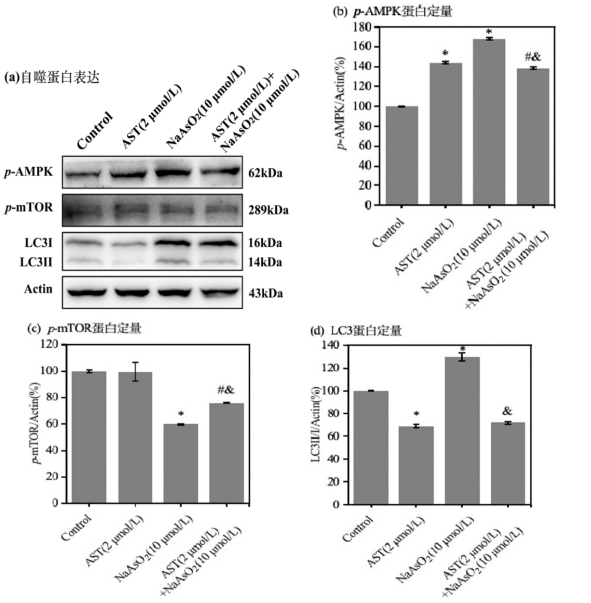


图 8 AST 干预细胞 AMPK−mTOR 通路及自噬标志物表达水平

Fig.8 Expression of AMPK−mTOR pathway and autophagy proteins in cells treated with AST

*, vs. control group; #, vs. AST intervention group; &, vs. $NaAsO_2$ exposure group (10μmol/L); P<0.05

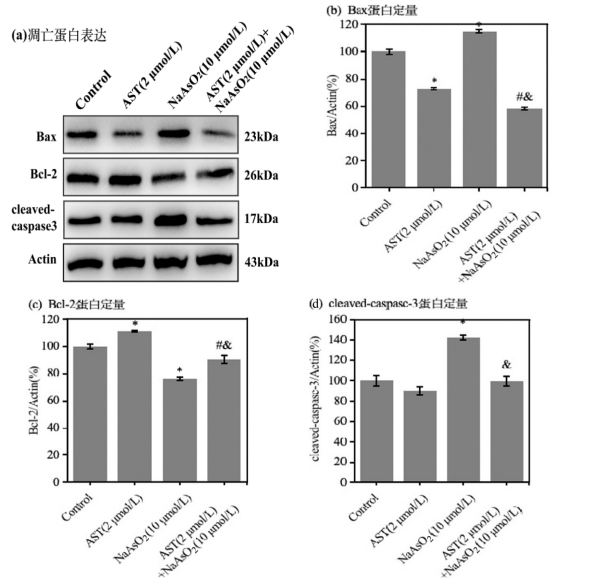


图 9 AST 干预细胞凋亡蛋白表达水平

Fig.9 Expression of apoptotic proteins in cells treated with AST

*, vs. control group; #, vs. AST intervention group; &, vs. $NaAsO_2$ exposure group (10μmol/L); P<0.05

3 讨论

神经元死亡已被确认为是砷诱导神经毒性的关键病理事件[23,32].前期实验结果证实,$NaAsO_2$ 暴露在 4~10μmol/L 浓度范围内通过特异性激活 PGAM5/Drp1 通路,导致 HT−22 细胞线粒体发生显著的结构和功能异常.具体表现为线粒体质量和膜电位明显降低,同时伴随着 PGAM5 表达水平升高、Drp1Ser616 位点磷酸化增强以及 Ser637 位点磷酸化抑制,线粒体融合蛋白 OPA1 和 MFN1 的表达也呈现剂量依赖性下调[28].特别值得注意的是,这种损伤效应展现出典型的浓度梯度特征:在低浓度范围内砷暴露主要诱导保护性自噬[33];而当浓度升至 8~10μmol/L 时,则触发明显的自噬−凋亡转换过程,具体表现为随着自噬被激活,细胞凋亡随之被激活,这一点在前期实验中也得到了证实[28].提示砷暴露所致的线粒体动力学失衡可能在自噬与凋亡串扰的过程中发挥着关键的“分子开关”作用.

在分子机制层面,本研究揭示了 $NaAsO_2$ 暴露条件下“线粒体碎片化−ATP 耗竭−AMPK 激活−自噬凋亡激活”这一过程的存在.虾青素干预展现出独特的双重调控机制:首先,通过降低 PGAM5 活性,有效逆转 Drp1 磷酸化失衡状态,显著减少 Drp1 在线粒体上的定位;在保护线粒体的同时,提升了细胞 ATP 合成能力,恢复 AMPK−mTOR 通路的动态平衡,进而实现对过度自噬的有效抑制,表现为 LC3II/LC3I 比值下降,并显著阻断了 caspase−3 依赖的凋亡途径.值得注意的是,AMPK−mTOR 通路是否直接受 PGAM5/Drp1 调控尚不完全明确.本研究观察到虾青素在调节 PGAM5/Drp1 活性的同时显著影响 AMPK−mTOR 通路表达,提示该通路可能通过能量感知间接或直接激活 AMPK−mTOR 通路,进而调控细胞自噬和凋亡水平,但其间是否存在转录或翻译后修饰层面的直接调控,仍需进一步通过基因编辑实验等手段加以验证.这种同时靶向线粒体动力学调控和细胞能量代谢网络的协同作用机制,不仅为阐明神经退行性疾病中能量代谢−线粒体功能失衡的病理过程提供了新的理论视角,更重要的是,虾青素对自噬−凋亡网络的精准调控特性,即维持适度的自噬活性而非完全抑制,使其特别适合作为长期低剂量砷暴露人群的健康防护策略.这些重要发现为后续开展基因沉默实验和动物模型研究提供了明确的理论依据和研究方向.

值得注意的是,流行病学研究已发现砷暴露与阿尔茨海默病、帕金森病等神经退行性疾病存在显

著关联[11,34].本研究所揭示的 AST 通过重建线粒体稳态拮抗砷毒性的作用机制,提示其在其他环境污染物(如铅、汞)所致神经损伤中可能具有类似的保护效应.此类污染物同样可通过破坏线粒体质量控制系统引发神经毒性[35-36].基于 PGAM5-能量感知轴的干预策略,特别是 AST 这种天然活性物质的运用,为环境相关神经退行性疾病的防治开辟了新的研究方向.未来研究应着重在动物模型和人群队列中验证这些发现,并探索其临床应用潜力.

本研究的局限性在于:实验模型局限于 HT-22 细胞系,需在原代神经元及动物模型中验证 AST 的保护效应;AST 的具体分子靶点需通过分子对接等技术深入阐明.此外,PGAM5/Drp1 与 AMPK-mTOR 之间是否存在直接调控关系亦是未来需重点阐明的问题.未来研究可整合转录组学或代谢组学分析,进一步系统揭示 AST 调控线粒体稳态与能量代谢的网络化机制.

4　结论

4.1　$NaAsO_2$(10μmol/L)暴露显著升高 HT-22 细胞内 ROS 水平并降低 ATP 合成.AST(2μmol/L)干预能显著逆转上述损伤.

4.2　虾青素通过抑制 PGAM5 活化,降低 *p*-Drp1(Ser616)并提高 *p*-Drp1(Ser637)及线粒体融合蛋白 OPA1、MFN1 的表达,恢复线粒体动力学平衡;同时抑制 AMPK 磷酸化、激活 mTOR,降低 LC3II/LC3I 比值;并下调 Bax 和 cleaved-caspase-3,上调 Bcl-2,协同调控自噬与凋亡过程.

参考文献：

[1] Huq M E, Fahad S, Shao Z, et al. Arsenic in a groundwater environment in Bangladesh: occurrence and mobilization [J]. Journal of Environmental Management, 2020,262:110318.

[2] 邹心颖,闫庆武,吴子豪,等.基于 GeoShapley 算法的长春市城郊土壤砷含量局部主控因子探究 [J]. 中国环境科学, 2026,46(1):289-300.
Zou X Y, Yan Q W, Wu Z H, et al. Exploring key local influencing factors of arsenic content in suburban soils of Changchun city using the GeoShapley approach [J]. Chiese Environmental Science, 2026, 46(1):289-300.

[3] 吕　敏,李国新,李青松,等.纳米塑料和砷对斑马鱼的联合毒性 [J]. 中国环境科学, 2024,44(4):2345-2356.
Lv M, Li G X, Li Q S, et al. Combined toxicity of nanoplastics and arsenic to zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Chiese Environmental Science, 2024,44(4):2345-2356.

[4] 牛晓宇,薛维纳,李　帅,等.砷和全氟辛酸对赤子爱胜蚓的联合毒性效应 [J]. 中国环境科学, 2024,44(10):5855-5865.
Niu X Y, Xue W N, Li S, et al. The combined toxic effects of arsenic and perfluorooctanoic acid on the earthworm *Eisenia fetida* [J]. Chiese Environmental Science, 2024,44(10):5855-5865.

[5] 王宇泽,谭　超,罗勇军,等.我国砷中毒的医学地理分布特点及防治措施研究进展 [J]. 解放军预防医学杂志, 2020,38(1):103-105.
Wang Y Z, Tan C, Luo Y J, et al. Research progress on the medical geographical distribution characteristics and prevention and control measures of arsenic poisoning in China [J]. Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army, 2020,38(1):103-105.

[6] 康文辉,周殷竹,雷　米,等.新疆玛纳斯河流域地下水砷氟碘分布及共富集成因 [J]. 中国环境科学, 2024,44(7):3832-3842.
Kang W H, Zhou Y Z, Lei M, et al. Distribution and co-enrichment of arsenic, fluorine, and iodine in groundwater of the Manas River Basin in Xinjiang [J]. Chiese Environmental Science, 2024,44(7):3832-3842.

[7] Das S, Murumulla L, Ghosh P, et al. Heavy metal-induced disruption of the autophagy-lysosomal pathway: implications for aging and neurodegenerative disorders [J]. Biometals: an International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine, 2025, 38(2):371-417.

[8] Bundschuh J, Niazi N K, Alam M A, et al. Global arsenic dilemma and sustainability [J]. Journal of hazardous materials, 2022,436:129197.

[9] Sarkar A, Paul B. The global menace of arsenic and its conventional remediation - A critical review [J]. Chemosphere, 2016,158:37-49.

[10] Wadgaonkar P, Chen F. Connections between endoplasmic reticulum stress-associated unfolded protein response, mitochondria, and autophagy in arsenic-induced carcinogenesis [J]. Seminars in Cancer Biology, 2021,76:258-266.

[11] Kaur I, Behl T, Aleya L, et al. Role of metallic pollutants in neurodegeneration: effects of aluminum, lead, mercury, and arsenic in mediating brain impairment events and autism spectrum disorder [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2021, 28(8):8989-9001.

[12] Bjørklund G, Aaseth J, Chirumbolo S, et al. Effects of arsenic toxicity beyond epigenetic modifications [J]. Environmental Geochemistry and Health, 2018,40(3):955-965.

[13] Elsayed N, Foo J B. Intranasal nanoparticle therapy for arsenic-induced neurotoxicity: Restoring IGF-1signaling and advancing translational neuroprotection [J]. Neuroscience, 2025,585:107-124.

[14] Li B, Xia M, Zorec R, et al. Astrocytes in heavy metal neurotoxicity and neurodegeneration [J]. Brain research, 2021,1752:147234.

[15] Choudhary A, Pandey R, Padhy D, et al. Changes in energy dynamics in arsenic exposure based neurotoxicity: A comprehensive review [J]. Current Medicinal Chemistry, 2025,32(24):5008-5023.

[16] Wu W, Tian W, Hu Z, et al. ULK1translocates to mitochondria and phosphorylates FUNDC1to regulate mitophagy [J]. EMBO Reports, 2014,15(5):566-575.

[17] Zhou T, Zhou R, Jiang X, et al. m(6)A modification of ATG9A regulates ferritinophagy in microglial activation induced by arsenic [J]. Journal of Hazardous Materials, 2025,496:139376.

[18] Cheng M, Lin N, Dong D, et al. PGAM5: A crucial role in

mitochondrial dynamics and programmed cell death [J]. European journal of Cell Biology, 2021,100(1):151144.

[19] Bang B, Miki H, Kang Y J. Mitochondrial PGAM5-Drp1signaling regulates the metabolic reprogramming of macrophages and regulates the induction of inflammatory responses [J]. Frontiers in Immunology, 2023,14:1243548.

[20] Kang J S, Cho N, Lee S W, et al. RIPK3causes mitochondrial dysfunction and albuminuria in diabetic podocytopathy through PGAM5-Drp1signaling [J]. Metabolism: Clinical and Experimental, 2024,159:155982.

[21] Nag S, Szederkenyi K, Gorbenko O, et al. PGAM5 is an MFN2 phosphatase that plays an essential role in the regulation of mitochondrial dynamics [J]. Cell Reports, 2023,42(8):112895.

[22] Tong M, Zablocki D, Sadoshima J. The role of Drp1 in mitophagy and cell death in the heart [J]. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 2020,142:138-145.

[23] Fu S, Lin J, Liu J, et al. Arsenic induces autophagy-dependent apoptosis via Akt inactivation and AMPK activation signaling pathways leading to neuronal cell death [J]. Neurotoxicology, 2021, 85:133-144.

[24] Liu X, Xu C, Xu L, et al. Empagliflozin improves diabetic renal tubular injury by alleviating mitochondrial fission via AMPK/SP1/ PGAM5pathway [J]. Metabolism: Clinical and Experimental, 2020, 111:154334.

[25] Hashino T, Matsubara H, Xu J, et al. PGAM5 interacts with Bcl-rambo and regulates apoptosis and mitophagy [J]. Experimental cell Research, 2022,420(1):113342.

[26] Zarneshan S N, Fakhri S, Farzaei M H, et al. Astaxanthin targets PI3K/Akt signaling pathway toward potential therapeutic applications [J]. Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, 2020,145: 111714.

[27] Zheng Y F, Bae S H, Kwon M J, et al. Inhibitory effects of astaxanthin, β -cryptoxanthin, canthaxanthin, lutein, and zeaxanthin on cytochrome P450enzyme activities [J]. Food and Chemical Toxicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2013,59:78-85.

[28] Chen Y, Liu X, Zhang Q, et al. Arsenic induced autophagy-dependent apoptosis in hippocampal neurons via AMPK/mTOR signaling pathway [J]. Food and chemical toxicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2023,179:113954.

[29] Janani R, Anitha R E, Divya P, et al. Astaxanthin ameliorates hyperglycemia induced inflammation via PI3K/Akt-NF-κB signaling in ARPE-19 cells and diabetic rat retina [J]. European Journal of Pharmacology, 2022,926:174979.

[30] Yang Y, Fuentes F, Shu L, et al. Epigenetic CpG methylation of the promoter and reactivation of the expression of GSTP1by astaxanthin in human prostate LNCaP cells [J]. The AAPS Journal, 2017,19(2): 421-430.

[31] Sun K, Jing X, Guo J, et al. Mitophagy in degenerative joint diseases [J]. Autophagy, 2021,17(9):2082-2092.

[32] Wang H, Liu X, Chen Y, et al. The regulatory role of miR-21in ferroptosis by targeting FTH1and the contribution of microglia-derived miR-21 in exosomes to arsenic-induced neuronal ferroptosis [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024,478:135580.

[33] Liu S, Kang W, Mao X, et al. Low dose of arsenic exacerbates toxicity to mice and IPEC-J2 cells exposed with deoxynivalenol: aryl hydrocarbon receptor and autophagy might be novel therapeutic targets [J]. The Science of the Total Environment, 2022,832:155027.

[34] Carlin D J, Naujokas M F, Bradham K D, et al. Arsenic and environmental health: state of the science and future research opportunities [J]. Environmental Health Perspectives, 2016,124(7): 890-899.

[35] Moos W H, Faller D V, Glavas I P, et al. Epilepsy: mitochondrial connections to the 'sacred' disease [J]. Mitochondrion, 2023,72:84-101.

[36] Lu Y, Gao L, Yang Y, et al. Protective role of mitophagy on microglia-mediated neuroinflammatory injury through mtDNA-STING signaling in manganese-induced parkinsonism [J]. Journal of Neuroinflam Mation, 2025,22(1):55.

作者简介：陈 峣(1991-),女,吉林通化人,讲师,博士,研究方向为环境毒物神经损伤机制研究.发表论文 4 篇.532293903@qq.com.