

1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰基葡萄糖对 MPP⁺诱导 PC12 细胞凋亡的保护作用陈宏^{1,4}, 袁世锦², 陈兴泳¹, 镇澜³, 梅元武^{4*}, 李红戈⁴, 曹非⁴, 汪银洲¹, 张旭¹

1. 福建省立医院 神经内科, 福建医科大学省立临床医学院, 福建 福州 350001

2. 武汉科技大学 医学院 组织胚胎教研室, 湖北 武汉 430081

3. 福建省妇幼保健院 妇产科, 福建 福州 350001

4. 华中科技大学同济医学院附属协和医院 神经内科, 湖北 武汉 430022

摘要: **目的** 考察 1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰基葡萄糖 (1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose, β -PGG) 对 MPP⁺诱导的帕金森病细胞模型中 PC12 细胞凋亡的保护作用及其机制研究。**方法** PC12 细胞孵育于高糖 DMEM 培养基中, 在药物处理前 1 周, 将神经生长因子 (NGF) 加入培养基中, 使培养基中 NGF 的终质量浓度为 50 ng/mL。将细胞分为对照组、MPP⁺组以及 50 μ mol/L β -PGG 预处理 7、12、20、30 h 组, 观察预处理不同时间对 MPP⁺中 PC12 细胞存活影响。采用台盼蓝染色法检测细胞死亡情况, MTT 法检测细胞活力, 免疫印迹法检测 Bcl-2、Bax、Fas、FasL、procaspase-3、procaspase-8、procaspase-9 蛋白表达情况, 并检测 caspase-3、caspase-8、caspase-9 活力。**结果** 对照组 PC12 细胞死亡率最低, MPP⁺组 PC12 细胞死亡率最高, 从 β -PGG 预处理 12 h 起 PC12 细胞死亡率较 MPP⁺组均明显降低 ($P < 0.01$)。MPP⁺组 PC12 细胞活力最低, 50 μ mol/L β -PGG 预处理 12 h 时 PC12 细胞活力进一步增高, 预处理 20 h 时细胞活力最高。 β -PGG 预处理 5 h 后即可见 Bcl-2、procaspase-3、procaspase-8、procaspase-9 蛋白含量增加, 至 15 h 时增加达到高峰; 与之相反的是, β -PGG 预处理 5 h 后即可见 Bax、Fas、FasL 蛋白含量减少, 至 30 h 时达最少。50 μ mol/L β -PGG 预处理 PC12 细胞 15 h 后 caspase-3、caspase-8、caspase-9 的活力分别为 MPP⁺组的 36.5%、40.2%、42.2%。**结论** β -PGG 对 MPP⁺诱导 PC12 细胞凋亡具有保护作用, 其机制是通过增强 Bcl-2 的表达、抑制 Bax、Fas、FasL 的表达以及降低 caspase-3、caspase-8、caspase-9 的活力实现了抑制 MPP⁺引起的 PC12 细胞凋亡, 促进 PC12 细胞的存活。

关键词: 1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰基葡萄糖; PC12 细胞; MPP⁺; 细胞凋亡; 保护作用**中图分类号:** R965.1; R971 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2015)11-1311-06**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.11.002Protection of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose against apoptosis of PC12 cells induced by MPP⁺CHEN Hong^{1,4}, YUAN Shi-jin², CHEN Xing-yong¹, ZHEN Lan³, MEI Yuan-wu⁴, LI Hong-ge⁴, CAO Fei⁴, WANG Yin-zhou¹, ZHANG Xu¹

1. Department of Neurology, Fujian Provincial Hospital, Fujian Medical University Shengli Clinical College, Fuzhou 350001, China

2. Division of Histology and Embryology, School of Medicine, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430081, China

3. Department of Obstetrics and Gynecology, Maternal and Child Health Hospital of Fujian Province, Fuzhou 350001, China

4. Department of Neurology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Abstract: Objective To study the protection of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose (β -PGG) on apoptosis of PC12 cells from Parkinson's disease models induced by MPP⁺ and its mechanism. **Methods** PC12 cells were incubated in high glucose DMEM medium. One week before drug treatment, nerve growth factor was added to the cultures at the final concentration of 50 ng/mL. PC12 cells were divided into control group, MPP⁺ group, and 50 μ mol/L β -PGG groups pretreated for 7, 12, 20, and 30 h. The survivals of PC12 cells in MPP⁺ were observed after pretreatment with β -PGG for different periods. The death of PC12 cells in MPP⁺ was evaluated with trypan blue staining method, and the activity of the PC12 cells was determined by MTT assay. The expression of Bax,

收稿日期: 2015-10-09

基金项目: 福建省自然科学基金面上项目 (2013J01275); 福建省卫生厅中医药研究课题 (wzzy201304)

作者简介: 陈宏 (1979—), 男, 福建省福州市人, 主治医师, 博士, 主要从事帕金森病的研究。Tel: 13489078966 E-mail: chen hong7911@163.com

*通信作者 梅元武, 男, 博士生导师, 研究方向: 神经康复。E-mail: lnlhckao@126.com

Fas, FasL, procaspase-3, procaspase-8, and procaspase-9 was analyzed by Western blotting method, and then the activity of caspase-3, caspase-8, and caspase-9 was examined. **Results** The death rates of PC12 cells in control group were the lowest, while those in MPP⁺ group were the highest, and those in β -PGG groups pretreated after 12 h were significantly decreased compared with MPP⁺ group ($P < 0.01$). The activities of the PC12 cells in MPP⁺ group were the lowest, and those in β -PGG group pretreated for 12 h were further increased, while those in β -PGG group pretreated for 20 h were the highest. The protein contents of Bcl-2, procaspase-3, procaspase-8, and procaspase-9 in β -PGG group pretreated for 5 h were increased, and increased to peak at pretreated for 15 h. On the contrary, protein contents of Bax, Fas, and FasL in β -PGG group pretreated for 5 h were decreased, and decreased to the minimum at pretreated for 30 h. The activities of caspase-3, caspase-8, and caspase-9 of the PC12 cells in β -PGG group pretreated for 15 h were 36.5%, 40.2%, and 42.2% of those in MPP⁺ group, respectively. **Conclusion** β -PGG has protection against apoptosis of PC12 cells induced by MPP⁺, and its mechanism is related to inhibiting the apoptosis of PC12 cells induced by MPP⁺ and then increase survival rate of PC12 cells by increasing the expression of Bcl-2, inhibiting the expression of Bax, Fas, and FasL, and decreasing activities of caspase-3, caspase-8, and caspase-9.

Key words: 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose; PC12 cell; MPP⁺; apoptosis; protective effect

帕金森病是老年人常见的神经系统退行性疾病,虽然临床上有多重治疗药物,但仍无法阻止或延缓多巴胺神经元进行性缺失,并且多种药物在治疗多年后逐渐出现疗效不佳、不良反应增加的情况,如左旋多巴类药物在大多数患者使用 3~5 年后疗效减退,产生症状波动、异动症和精神障碍等严重不良反应^[1],因此寻找高效且不良反应少的治疗药物成为帕金森病研究热点。1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰基葡萄糖(1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose, β -PGG)是一种天然多酚类化合物,广泛存在于许多种植物中^[2],并具有多种生物学活性,对多种细胞具有保护作用^[3-4]。在帕金森病多种发病机制中,凋亡是其重要的发病机制,因此本研究考察 β -PGG 是否可通过抗凋亡作用来保护帕金森病细胞模型。

1 材料与方法

1.1 主要材料

β -PGG 结构见图 1^[3],购自美国 Sigma-aldrich 公司,质量分数 $\geq 96\%$ (HPLC 法),产品批号 G7548; 1-甲基-4-苯基吡啶离子(MPP⁺)产品批号 D048,购自美国 Sigma-Aldrich 公司;神经生长因子(NGF)购自华中科技大学同济医学院附属同济医院,生物学活性 $\geq 9\ 000$ AU,产品批号 S20060051;胎牛血清(产品批号 SH30070.03)、高糖 DMEM(产品批号 SH30022.01B)购自美国 Hyclone 公司;台盼蓝(产品批号 C0011)、MTT(产品批号 C0009)购于碧云天生物技术研究;BCA 试剂盒(产品批号 23228)、ECL 试剂盒(产品批号 32134)购于美国 Pierce 公司;caspase 3、8、9 活性检测试剂盒产品批号分别为 401054、401051、401057,购自北京贝博公司;Anti-procaspase-3 抗体(产品批号 MA141163)购自

美国 Pierce 公司;Anti-procaspase-8 抗体(产品批号 C7849)购自 Sigma 公司;Anti-procaspase-9 抗体、Anti-Bcl-2 抗体、Anti-FasL 抗体产品批号分别为 ab69514、ab7973、ab2440,购自英国 Abcam 公司;Anti-Bax 抗体、Anti-Fas 抗体产品批号分别为 PAB0810、PAB8028,购自美国 Abnova 公司;辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 抗体(产品批号 sc-2054)购自 Santa Cruz 公司;小鼠来源的(单克隆) γ -tubulin 一抗(产品批号 T6557)购于 Sigma 公司。

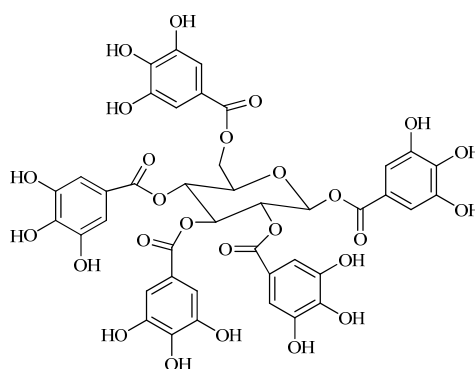


图1 β -PGG 的化学结构

Fig. 1 Structure of β -PGG

1.2 细胞培养及分组

PC12 细胞孵育于含有 10%胎牛血清、4 mmol/L 谷氨酰胺、100 μ g/mL 链霉素和 100 U/mL 青霉素的高糖 DMEM 培养基中。细胞培养箱的条件为 95% 空气、5% CO₂, 以及 37 $^{\circ}$ C 恒温。在药物处理前 1 周,将 NGF 加入培养基中,NGF 终质量浓度为 50 ng/mL,以促进 PC12 细胞向神经细胞分化。为观察 50 μ mol/L β -PGG 预处理对 MPP⁺中 PC12 细胞存活影响,将细胞分为 6 组,分别为对照组、MPP⁺组及

β -PGG 预处理 7、12、20、30 h 组。观察蛋白变化时 β -PGG 预处理时间分别为 5、10、15、30 h。

1.3 细胞死亡情况检测

将各组 PC12 细胞以 $2.0 \times 10^5/\text{mL}$ 接种于 24 孔板内,每孔 0.5 mL 培养液,待细胞长到 50%~60% 时,用 50 $\mu\text{mol/L}$ β -PGG 预处理相应时间,随后更换培养液,用 500 $\mu\text{mol/L}$ MPP⁺处理 24 h 后,用胰酶消化成单细胞悬液,并加入 4 mg/mL 台盼蓝溶液,使台盼蓝的终质量浓度为 0.4 mg/mL,孵育 3~5 min 后混匀细胞,吸取染色的 PC12 细胞至血细胞计数器上,在显微镜下拍照并计数。

1.4 细胞活力检测

PC12 细胞以 1×10^4 个/孔种植于 96 孔板,用 50 $\mu\text{mol/L}$ β -PGG 预处理相应时间,随后更换培养液,用 500 $\mu\text{mol/L}$ MPP⁺处理 24 h 后,细胞用终质量浓度为 0.5 mg/mL MTT 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 4 h,移除培养液,用 DMSO 溶解蓝紫色结晶甲臜。用 Bio-Rad 酶标测定仪在 490 nm 波长处测定吸光度 (A) 值,计算蓝紫色结晶甲臜的产量来反应细胞的活力。以对照组细胞的活性为 100% 表示处理组细胞的活力。

1.5 免疫印记法检测蛋白的变化

用 50 $\mu\text{mol/L}$ β -PGG 预处理 PC12 细胞相应时间,随后更换培养液,用 500 $\mu\text{mol/L}$ MPP⁺处理 24 h 后,收集 PC12 细胞,收集后的 PC12 细胞用冷的 PBS 轻轻洗 2 遍,接着将细胞溶解于含有蛋白酶抑制剂 cocktail 的缓冲液中,离心获得总蛋白;用 BCA 试剂盒测定总蛋白的浓度。取相同量的总蛋白,加入 12% SDS-PAGE 胶中电泳,接着用 NC 膜转膜,转膜后用相应的抗体及合适的抗体浓度检测蛋白的含量。不同的一抗浓度分别为 Bcl-2 (1:1 200)、Bax (1:800)、Fas (1:1 000)、FasL (1:1 200)、procaspase-3 (1:1 500)、procaspase-8 (1:1 000)、procaspase-9 (1:800) 和 γ -tubulin (1:10 000)。4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,上相应的二抗与 ECL,显影,扫描图像。

1.6 Caspase 活力检测

用 50 $\mu\text{mol/L}$ β -PGG 预处理 PC12 细胞 15 h,随后更换培养液,用 500 $\mu\text{mol/L}$ MPP⁺处理 24 h 后,用胰酶消化加药处理过的细胞,离心收集细胞,按 $2 \times 10^6/100 \mu\text{L}$ 裂解液的比例加入裂解液,重悬沉淀,冰浴中裂解 15 min,离心,将上清液转移至预冷的离心管中,按照蛋白质量浓度为 1~3 mg/mL,分别加入 caspase-3 检测缓冲液 Ac-DEVD-pNA (2.0 mmol/L),caspase-8 检测缓冲液 Ac-IETD-pNA (2.0

mmol/L) 或 caspase-9 检测缓冲液 Ac-LEHD-pNA (2.0 mmol/L) 后混匀。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60~120 min,分别对 caspase-3、caspase-8、caspase-9 在 405 nm 波长处测定 A 值。以对照组细胞的 caspase 活力为 100% 来表示处理组细胞的 caspase 活力。

1.7 统计处理

应用 SPSS 15.0 统计软件,用 $\bar{x} \pm s$ 表示获得的定量资料,选用方差分析,总体有统计学意义后两两比较用 LSD 检验。

2 结果

2.1 细胞死亡情况

PC12 细胞经过 50 $\mu\text{mol/L}$ β -PGG 预处理不同时间后的死亡率结果见表 1,死亡情况见图 2。结果显示对照组 PC12 细胞死亡率(即 PC12 细胞的自然死亡率)最低,MPP⁺组 PC12 细胞死亡率最高, β -PGG 预处理 7 h 组 PC12 细胞死亡率与 MPP⁺组类似,从预处理 12 h 起 PC12 细胞死亡率较 MPP⁺组均明显降低($P < 0.01$),到预处理 20 h 细胞死亡率在 MPP⁺存在时达到最低,预处理 30 h 组 PC12 细胞死亡率较 20 h 时增高,但仍较 12 h 组低。

2.2 细胞活力检测

对 PC12 细胞行 MTT 检测可见,MPP⁺组 PC12 细胞活力最低,50 $\mu\text{mol/L}$ β -PGG 预处理 7 h 细胞活力稍增高,但差异无统计学意义;预处理 12 h 时 PC12 细胞活力进一步增高,预处理 20 h 时细胞活力最高,预处理 30 h 时细胞活力较 20 h 下降,但仍较 12 h 时高,从预处理 12 h 起,除了预处理 30、12 h 组差别无统计学意义外,其他组均较前组的差别具有统计学意义($P < 0.05$ 、0.01),结果见表 2。

表 1 β -PGG 预处理对 MPP⁺中 PC12 细胞死亡率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 Effect of pretreatment with β -PGG on death rates of PC12 cells in MPP⁺ ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	预处理时间/h	死亡率/%
对照	—	16.35 $\pm$ 2.48
MPP ⁺	—	65.22 $\pm$ 4.74 ^{**}
β -PGG	7	62.70 $\pm$ 5.73
	12	50.23 $\pm$ 5.61 ^{###}
	20	38.08 $\pm$ 3.42 ^{###}
	30	44.38 $\pm$ 5.02 ^{###}

与对照组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与 MPP⁺组比较: ^{###} $P < 0.01$; 与上一个预处理组比较: [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$

^{**} $P < 0.01$ vs control group; ^{###} $P < 0.01$ vs MPP⁺ group; [▲] $P < 0.05$

^{▲▲} $P < 0.01$ vs former pretreatment group

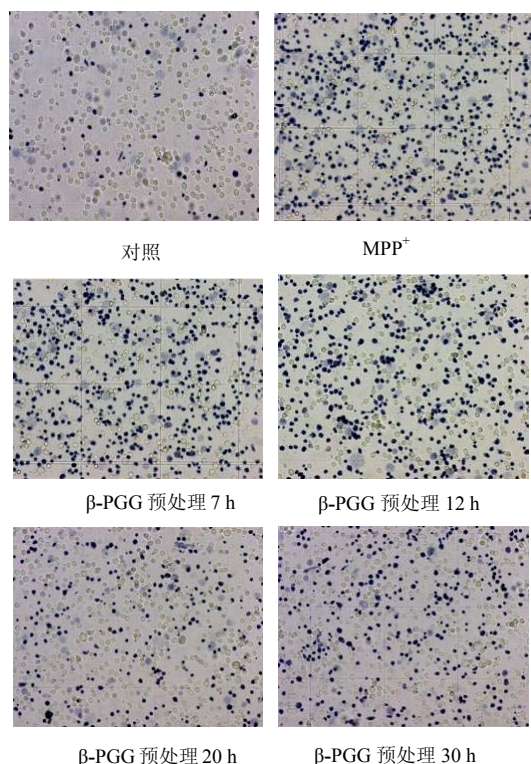


图2 β -PGG 预处理不同时间对 MPP⁺中 PC12 细胞存活的影响 (台盼蓝染色)

Fig. 2 Effect of pretreatment with β -PGG for different periods on survival of PC12 cells in MPP⁺ (trypan blue staining)

表2 β -PGG 预处理对 MPP⁺中 PC12 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 2 Effect of pretreatment with β -PGG on activity of PC12 cells in MPP⁺ ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	预处理时间/h	活力/%
对照	—	100.00 ± 14.36
MPP ⁺	—	39.48 ± 7.90 ^{**}
β -PGG	7	45.74 ± 6.84
	12	61.24 ± 5.51 ^{##▲▲}
	20	79.28 ± 6.83 ^{##▲▲}
	30	66.70 ± 9.08 ^{##▲}

与对照组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与 MPP⁺组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与前一个预处理组比较: [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$

^{**} $P < 0.01$ vs control group; ^{##} $P < 0.01$ vs MPP⁺ group; [▲] $P < 0.05$

^{▲▲} $P < 0.01$ vs former pretreatment group

2.3 蛋白的变化

β -PGG 预处理 5 h 后即可见 Bcl-2 蛋白含量增加, 至 15 h 时增加达到高峰; 预处理 30 h 组 Bcl-2

较 15 h 组有所减少, 但仍高于 10 h 组。与之相反的是, β -PGG 预处理 5 h 后即可见 Bax 蛋白含量减少, 至 30 h 时达最少。 β -PGG 预处理 5 h 后即可见 Fas、FasL 蛋白含量减少; 预处理 30 h 后 Fas、FasL 蛋白含量最少。 β -PGG 预处理 5 h 后即可见 procaspase-3、procaspase-8、procaspase-9 蛋白含量增加, 15 h 后 procaspase-3、procaspase-8、procaspase-9 蛋白含量最多, 预处理 30 h 组蛋白含量较 15 h 组有所减少, 但仍高于 10 h 组, 见图 3。

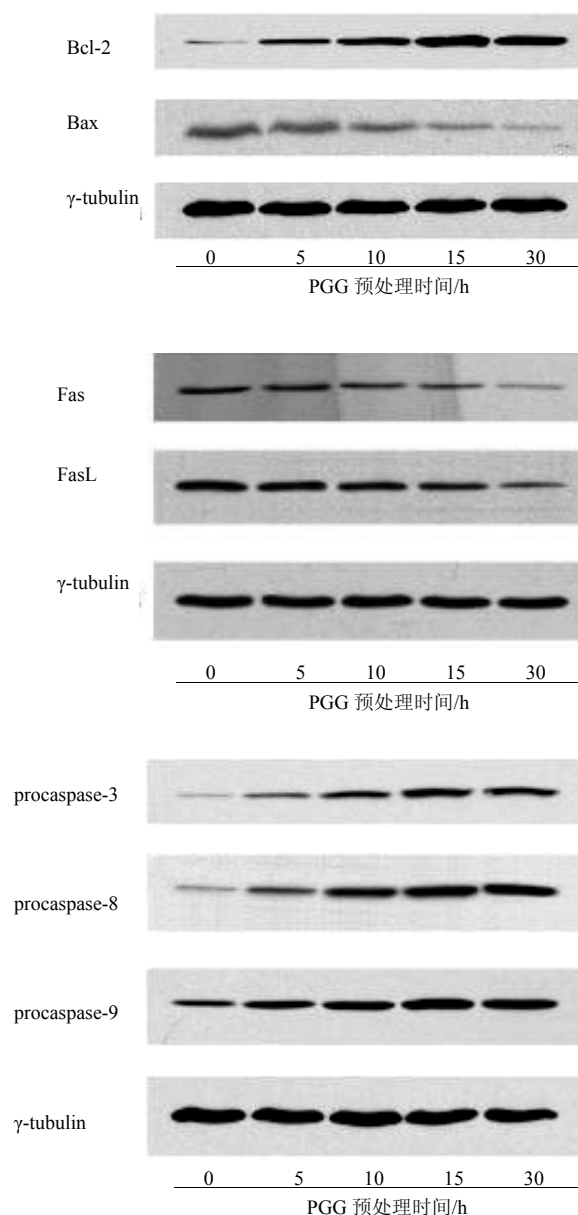


图3 β -PGG 预处理对不同凋亡蛋白表达的影响

Fig. 3 Effect of pretreatment with β -PGG on expression of different apoptotic protein

2.4 caspase 活力

为验证 procaspase-3、procaspase-8、procaspase-9 切割之后是否被激活以及活力如何, 本实验利用 caspase-3、caspase-8、caspase-9 所引起的特异性底物颜色变化来检测这 3 种酶的活力变化。50 $\mu\text{mol/L}$ β -PGG 预处理 PC12 细胞 15 h 后 caspase-3、caspase-8、caspase-9 的活力分别为 MPP⁺ 组的 36.5%、40.2%、42.2%。见表 3。

表 3 β -PGG 预处理导致的 caspase 活力变化 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 3 Difference of caspase activity after pretreatment with β -PGG ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组 别	活力/%
MPP ⁺	100
caspase-3	36.50 $\pm$ 6.70 ^{##}
caspase-8	40.17 $\pm$ 5.60 ^{##}
caspase-9	42.17 $\pm$ 6.00 ^{##}

与 MPP⁺ 组比较: ^{##} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs MPP⁺ group

3 讨论

PGG 是一种天然多酚类化合物, 它广泛存在大量中草药植物中, 如盐肤木、牡丹、芍药等。自然界存在的 PGG 有两种, 分别为 α -PGG 和 β -PGG, 但是自然界中 β -PGG 要比 α -PGG 多得多^[5]。最近几年, β -PGG 的药理和生理作用成为研究热点^[5-6]。

台盼蓝染色可评价细胞的死亡情况, 死亡细胞由于细胞膜破坏可被台盼蓝染成蓝色, 而活细胞拒染。前期实验表明在 50 $\mu\text{mol/L}$ β -PGG 发挥了明显的细胞保护作用, 故在本实验中均用 50 $\mu\text{mol/L}$ β -PGG 预处理 PC12 细胞。采用台盼蓝处理被 β -PGG 预处理过的 PC12 细胞后, 发现 β -PGG 可促进 MPP⁺ 中 PC12 细胞存活, β -PGG 预处理 12 h 后 PC12 细胞死亡率明显下降, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 预处理 20 h 死亡率达最低, 预处理 30 h 后细胞死亡率较前有所升高, 但仍小于预处理 12 h 时的细胞死亡率。与此同时, 观察 β -PGG 预处理对 PC12 细胞活力影响, 预处理 12 h 后, 细胞活力增加, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 预处理 20 h 后细胞活力达到最高, 预处理 30 h 后细胞活力较预处理 20 h 有所下降。与细胞死亡率不同的是, 预处理 30 h 后细胞活力虽然比预处理 12 h 后细胞活力高, 但差异不具有统计学意义, 可能是细胞死亡率结果采取人工计数, 而细胞活力 (MTT 法) 采用仪

器自动计算, 故细胞活力结果可能会更准, 或者存在其他机制, 虽然不能增加 PC12 细胞活力, 但却能减少细胞死亡。即使如此, 但预处理 20 h 使 PC12 细胞死亡率最低、活力最高, 这一点却吻合。促进 PC12 细胞存活的机制有多种, 在前期实验中, 可见 β -PGG 通过对抗细胞氧化应激促进 PC12 细胞存活, 并且可知, 除了抗氧化应激, β -PGG 还通过其他未知的途径促进 MPP⁺ 中 PC12 细胞存活, 因此设想在本实验中观察除了抗氧化应激外, β -PGG 是否可通过对抗凋亡促进 PC12 存活。

细胞凋亡又称为程序性细胞死亡, 是在外源性或内源性凋亡信号刺激下, 激活细胞内编码的自杀程序而导致的。细胞凋亡途径主要有死亡受体途径及线粒体途径^[7-9]。死亡受体途径为^[10-12]: 在细胞外凋亡信号的刺激下, 膜的死亡配体与死亡受体结合 (如 FasL 与 Fas 结合、TNF- α 与 TNFR-1 结合), 之后使两个 procaspase-8 相互作用装配成为有活性的 caspase-8, 活化的 caspase-8 激活下游的 caspase, 如 caspase-3、caspase-1、caspase-6 等, 从而引起细胞凋亡。线粒体途径主要通过 Bcl-2 家族蛋白调节^[13], Bcl-2/Bax 比值的改变在调节线粒体凋亡途径起到重要的作用^[14], 主要的过程^[15-17]: 在凋亡诱导信号的刺激下, Bcl-2/Bax 比值下降, 造成线粒体通透性转换孔 (PTP) 开放, 使线粒体膜通透性增高, 从而使原先位于线粒体内与凋亡相关的活性物质释放出来, 这些活性物质包括细胞色素 C、Smac/DIABLO、凋亡诱导因子、核酸内切酶 G 和 Bitl (Bcl-2 inhibit of transcription) 等。在 ATP/dATP 存在下, 细胞色素 C 能与凋亡蛋白酶活化因子-1 及 procaspase-9 形成凋亡复合体, 并使 procaspase-9 剪切活化形成 caspase-9, 在 ATP/dATP 存在下活化 caspase-3、caspase-6、caspase-7 等, 促使细胞凋亡。

β -PGG 可降低 MPP⁺ 中 PC12 细胞死亡率, 促进 PC12 细胞存活, 而抗凋亡可促进细胞存活, 故进一步观察 PC12 细胞中常见凋亡途径主要蛋白在 β -PGG 预处理后的变化情况。实验结果显示, β -PGG 可促进 Bcl-2 的合成, 抑制 Bax、Fas 及 FasL 的合成以及抑制 caspase-3、caspase-8 及 caspase-9 活化, 其变化规律呈时间相关性。总的来说, β -PGG 通过抑制 Fas、FasL 的合成而抑制死亡受体凋亡途径, 通过升高 Bcl-2/Bax 比值抑制线粒体凋亡途径, 从而抑制了 procaspase-3、procaspase-8、procaspase-9 的剪切, 降低了 caspase-3、caspase-8、caspase-9 的

活力, 从而促进 MPP⁺中 PC12 细胞存活。

目前, β -PGG 是否能够通过血-脑屏障还不清楚, β -PGG 在活体内影响帕金森病的作用有待确定。但是, 有文献报道^[3] β -PGG 比其他任何聚苯化合物更不溶于水, 这一特点有助于吸引研究者去研究 β -PGG 是否能够通过血-脑屏障, 为将 β -PGG 应用于动物帕金森病模型甚至应用于临床提供依据。

概括来讲, 实验结果表明, 在 MPP⁺存在下的 PC12 细胞中, β -PGG 可以通过促进 Bcl-2 的合成, 抑制 Bax、Fas、FasL 的合成, 降低凋亡效应酶 caspase-3、caspase-8、caspase-9 的活力, 从而抑制 MPP⁺中 PC12 细胞凋亡, 促进 PC12 存活。由于 β -PGG 强大的抗氧化^[6]及抗凋亡能力, 它将会在以氧化应激、凋亡为重要发病机制的神经系统慢性变性疾病的应用中有很大的应用前景。

参考文献

- [1] Smith Y, Wichmann T, Factor S A, *et al.* Parkinson's disease therapeutics: new developments and challenges since the introduction of levodopa [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2012, 37(1): 213-246.
- [2] 李惠晨, 胡伟, 丁井永. 五没食子酰基葡萄糖抗肿瘤的作用研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2014, 22(9): 2255-2258.
- [3] Zhang J, Li L, Kim S H, *et al.* Anti-cancer, anti-diabetic and other pharmacologic and biological activities of penta-galloyl-glucose [J]. *Pharm Res*, 2009, 26(9): 2066-2080.
- [4] Ma H, Liu W, Frost L, *et al.* The hydrolyzable gallotannin, penta-O-galloyl- β -D-glucopyranoside, inhibits the formation of advanced glycation endproducts by protecting protein structure [J]. *Mol Biosyst*, 2015, 11(5): 1338-1347.
- [5] Cao Y, Himmeldirk K B, Qian Y, *et al.* Biological and biomedical functions of penta-O-galloyl-D-glucose and its derivatives [J]. *J Nat Med*, 2014, 68(3): 465-472.
- [6] Chen H, Li H, Cao F, *et al.* 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-glucose protects PC12 Cells from MPP(+)-mediated cell death by inducing heme oxygenase-1 in an ERK- and Akt-dependent manner [J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2012, 32(5): 737-745.
- [7] Xu H, Zhao X, Liu X, *et al.* Antitumor effects of traditional Chinese medicine targeting the cellular apoptotic pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 2735-2744.
- [8] Mollazadeh S, Fazly Bazzaz B S, Kerachian M A. Role of apoptosis in pathogenesis and treatment of bone-related diseases [J]. *J Orthop Surg Res*, 2015, 10: 15.
- [9] 赵瑞杰, 李引乾, 王会, 等. Caspase 家族与细胞凋亡的关系 [J]. *中国畜牧杂志*, 2010, 46(17): 73-78.
- [10] Tait S W, Green D R. Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(9): 621-632.
- [11] Ilmarinen P, Moilanen E, Kankaanranta H. Regulation of spontaneous eosinophil apoptosis-a neglected area of importance [J]. *J Cell Death*, 2014, 7: 1-9.
- [12] Ashkenazi A. Targeting the extrinsic apoptotic pathway in cancer: lessons learned and future directions [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(2): 487-489.
- [13] Xiong S, Mu T, Wang G, *et al.* Mitochondria-mediated apoptosis in mammals [J]. *Protein Cell*, 2014, 5(10): 737-749.
- [14] Martinou J C, Youle R J. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics [J]. *Dev Cell*, 2011, 21(1): 92-101.
- [15] Lopez J, Tait S W. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within [J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(6): 957-962.
- [16] Ho J. The regulation of apoptosis in kidney development: implications for nephron number and pattern? [J]. *Front Pediatr*, 2014, 2: 128.
- [17] Jain M V, Paczulla A M, Klonisch T, *et al.* Interconnections between apoptotic, autophagic and necrotic pathways: implications for cancer therapy development [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(1): 12-29.