

雨生红球藻破壁孢子粉对紫外线B诱导光损伤的保护作用

谢晓岑¹, 符启俊¹, 张凯², 张勇³, 郑云剑³, 沈琮荟¹, 谢曦¹, 王蓉¹, 宋彦廷¹, 张英霞¹, 胡文婷^{1*}

(1. 海南大学, 热带生物资源教育部重点实验室, 药学院, 海南海口 570228)

(2. 康芝药业股份有限公司, 海南海口 570331) (3. 爱尔发生物科技(嘉兴)有限公司, 浙江嘉兴 314400)

摘要: 为探究雨生红球藻破壁孢子粉对紫外线 B (UVB) 引起光损伤的保护作用。通过 UVB 辐照诱导构建 HaCaT 细胞损伤模型, 并以雨生红球藻破壁孢子粉进行干预, 采用 CCK8 法检测细胞的增值, 比色法检测细胞中的超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) 活性和丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量; 以 UVB 辐照引起斑马鱼损伤, 测量添加雨生红球藻破壁孢子粉对尾鳍面积的影响, 并以吖啶橙染色确定细胞凋亡情况。结果显示, 质量浓度为 12.5、25.0 和 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 的雨生红球藻破壁孢子粉将辐照后 HaCaT 细胞的存活率分别提高至 84.47%、89.44% 和 96.30%, 其中质量浓度为 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 时细胞中 SOD 活力提高了 35.48%, MDA 含量水平降低至 23.05%; 质量浓度为 0.125 和 0.187 5 mg/mL 的雨生红球藻破壁孢子粉使 UVB 损伤斑马鱼的尾鳍面积分别增加 20.07% 和 31.04%, 细胞凋亡率分别减少 72.15% 和 74.59%。因此, 雨生红球藻破壁孢子粉具有显著的光保护功效, 可改善 UVB 诱导的氧化损伤, 减少细胞凋亡, 研究结果为进一步的功能活性探索和开发应用提供了依据。

关键词: 雨生红球藻; HaCaT 细胞; 斑马鱼; 光损伤; 紫外线 B

文章编号: 1673-9078(2026)01-1-8

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.1.1486

Protective Effect of *Haematococcus pluvialis* Broken-cell Spore Powder Against UVB-induced Photodamage

XIE Xiaocen¹, FU Qijun¹, ZHANG Kai², ZHANG Yong³, ZHENG Yunjian³, SHEN Conghui¹, XIE Xi¹,

WANG Rong¹, SONG Yanting¹, ZHANG Yingxia¹, HU Wenting^{1*}

(1.Hainan University, Key Laboratory of Tropical Biological Resources and Ministry of Education, School of Pharmaceutical Sciences, Haikou 570228, China) (2.Honz Pharmaceutical Co. Ltd., Haikou 570331, China)

(3.Alphy Biotech (Jiaxing) Co. Ltd., Jiaxing 314400, China)

Abstract: The protective effect of *Haematococcus pluvialis* broken-cell spore powder against ultraviolet B (UVB)-induced photodamage was explored. A UVB-irradiated HaCaT cell damage model was established, and *H. pluvialis* broken-cell spore powder was used for intervention. Cell proliferation was assessed using the CCK8 assay, and the activity of superoxide dismutase (SOD) and the content of malondialdehyde (MDA) in the cells were measured using colorimetric methods. UVB irradiation was used to induce damage in zebrafish, and the effect of adding *H. pluvialis* spore powder on the tail fin area was measured using acridine orange

引文格式:

谢晓岑,符启俊,张凯,等.雨生红球藻破壁孢子粉对紫外线B诱导光损伤的保护作用[J].现代食品科技,2026,42(1):1-8.

XIE Xiaocen, FU Qijun, ZHANG Kai, et al. Protective effect of *Haematococcus pluvialis* broken-cell spore powder against UVB-induced photodamage [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(1): 1-8.

收稿日期: 2024-10-09; 修回日期: 2025-01-16; 接受日期: 2025-01-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32460929); 海南大学全健康协同创新中心项目 (XTCX2022JKB08); 海南省自然科学基金项目 (322RC590)

作者简介: 谢晓岑 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 藻类资源开发利用, E-mail: 1301513580@qq.com

通讯作者: 胡文婷 (1981-), 女, 博士, 正高级实验师, 研究方向: 生物资源开发利用, E-mail: huwt_0@hainanu.edu.cn

staining to determine the extent of cell apoptosis. The results showed that treatment with *H. pluvialis* spore powder at concentrations of 12.5, 25.0, and 50.0 $\mu\text{g/mL}$ increased HaCaT cell survival rates to 84.47%, 89.44%, and 96.30%, respectively. Treatment with *H. pluvialis* spore powder at a mass concentration of 50.0 $\mu\text{g/mL}$ increased the SOD activity by 35.48% and reduced the MDA content to 23.05%. When the mass concentration of *H. pluvialis* spore powder was 0.125 and 0.1875 mg/mL , the tail fin area of UVB-damaged zebrafish increased by 20.07% and 31.04%, and the apoptosis rate decreased by 72.15% and 74.59%, respectively. Therefore, *H. pluvialis* spore powder exhibited significant photoprotective effects, improving UVB-induced oxidative damage and reducing cell apoptosis. The results provide evidence for further exploration of the functional activity and applications of *H. pluvialis* broken-cell powder.

Key words: *Haematococcus pluvialis*; HaCaT cells; zebrafish; photodamage; ultraviolet B

长期或频繁暴露于紫外线 B (UVB) 对生物体有明显的毒害作用, 是导致皮肤损伤的主要原因之一^[1]。UVB 辐照引起细胞中活性氧 (ROS) 的过量堆积, 氧化性损伤 DNA、蛋白质和脂质等大分子, 启动细胞凋亡程序, 促使皮肤产生红斑、老化, 并可能导致日光性角化病、基底细胞癌、黑素细胞癌等病变^[2,3]。目前, 除物理防护外, 抗光损伤产品主要包括维甲酸类、雌激素类、细胞因子类的药物, 以及一些口服或局部使用的合成和天然抗氧化剂^[4,5]。由于受到存在副作用、效果有限和价格昂贵等因素的影响, 现有的抗光损伤产品使用情况并不理想, 开发安全有效的新措施一直是该研究领域重点关注的问题^[6]。

雨生红球藻 (*Haematococcus pluvialis*) 是一种属于绿藻门中红球藻属的单细胞藻类, 在环境不利时形成厚壁孢子, 细胞内积累大量虾青素, 是食用天然虾青素的主要来源^[7]。研究表明, 雨生红球藻中虾青素的含量为 1%~5%, 含藻多糖 6%~10%, 还含有其他活性物质, 如类胡萝卜素、蛋白质、不饱和脂肪酸和维生素等, 这些成分共同赋予其显著的保健价值^[8-11]。虾青素具有很强的抗氧化能力, 可以抵抗紫外线诱导的光损伤, 同时还具有抗炎、调节免疫的活性, 能够延缓皮肤老化、抑制肿瘤发生^[12-15]。当前, 雨生红球藻的人工规模化培养仍主要用于获取虾青素, 对资源的开发利用尚不充分。作为新资源可食用藻类, 雨生红球藻是一种优质的天然食品原料。一些研究已经表明, 雨生红球藻中的多糖、藻蛋白、多酚、植物甾醇等活性物质, 具备抗氧化、抗衰老和增强免疫等功能^[16]。由于雨生红球藻厚壁孢子的次生细胞壁结构坚韧, 进行破壁处理是提高活性物质利用率的重要手段^[17]。关于雨生红球藻破壁孢子粉的功效研究显示, 适量补充能够促进机体健康, 提高抗氧化能力, 对糖尿病、高脂血症、酒精性肝损伤等疾病具有改善作用, 作为功能性食品添加剂和天然治疗剂极具开发价值和应用前景^[18,19]。

将雨生红球藻破壁孢子粉用于抗光损伤的研究仍鲜有报道, 对其 UVB 辐照保护作用需进行深入研究和功效验证。本研究采用 UVB 辐照分别诱导 HaCaT 细胞和斑马鱼构建光损伤模型, 从细胞水平和动物水平评估雨生红球藻破壁孢子粉的保护作用, 探讨对氧化应激和细胞凋亡的影响, 为其在抵抗光损伤方面的应用及相关功能性食品的开发提供基础和依据。

1 材料与方法

1.1 材料

HaCaT 细胞, 海南大学药学院生化药物实验室保存; 斑马鱼, AB 系, 购自山东一溪月生物科技有限公司, 动物实验获得海南大学动物伦理委员会批准 (HPIACUC2024084); 雨生红球藻破壁孢子粉, 由爱尔发生物科技 (嘉兴) 有限公司提供, 依据前期研究方法^[20]获得; 虾青素 (货号: SA8730, 纯度 $\geq 97\%$), 北京索莱宝科技有限公司; DMEM 培养基, Gibco; 胎牛血清, NEWZERUM; CCK-8 试剂盒 (货号: C0042), 上海碧云天生物技术有限公司; 0.25% 胰蛋白酶消化液、青链霉素混合液、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 检测试剂盒 (货号: G4300-976), 武汉赛维尔生物科技有限公司; 超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) 检测试剂盒 (货号: A001-3-2), 南京建成生物工程研究所; BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (货号: BL521A), Biosharp; 吡啶橙 (货号: A121748), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 仪器

SW-CJ-1D 超净工作台, 上海沪净医疗器械有限公司; LT-CPS 立式压力蒸汽灭菌器, 立德泰勃 (上海) 科学仪器有限公司; UVB-313nm 灯管 (8 W), 佛山市皓润照明科技有限公司; SW-CJ-1D 二氧化碳培养箱,

天津莱玻特瑞仪器设备有限公司; SHIM-SN 酶标仪, 美国 Agilent; DM3000 LED 生物显微镜, 德国 Leica; CYT5MPW-SN 细胞成像系统, 美国 Agilent; HT165R 低温高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; ZXSD-A1090 生化培养箱, 上海智城分析仪器制造有限公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞毒性检测

参考文献^[22]方法略有改动, 取对数生长期的 HaCaT 细胞, 用胰酶消化, 加入含有体积分数 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 以细胞密度每孔 1.8×10^4 个接种于 96 孔板, 在 37°C 含 $\varphi=5\%$ CO_2 的条件下培养 48 h。各组细胞弃培养上清液, 加入用含有体积分数 10% 血清 DMEM 培养基配制的不同质量浓度雨生红球藻破壁孢子粉 (25、50、100、200、400 $\mu\text{g/mL}$), 共同孵育 24 h, 用 CCK-8 测定细胞存活率。

1.3.2 UVB诱导HaCaT细胞损伤模型的建立

参考文献^[22]方法略有改动, 取对数生长期的 HaCaT 细胞, 用胰酶消化后以细胞密度为每孔 1.8×10^4 个接种于 96 孔板, 培养 48 h 后弃上清液, 加入 100 μL 的 PBS, 使用 UVB 紫外线灯照射, 照射距离 5 cm, 以 40、80、120、160 mJ/cm^2 的辐照剂量 UVB 照射细胞, 同时设置对照组 (CON), 照射完后弃去 PBS 加入培养基, 继续培养细胞 24 h, 选择适宜的 UVB 辐照强度, 建立光损伤模型。

1.3.3 雨生红球藻破壁孢子粉对UVB损伤HaCaT细胞的保护作用

将对数生长期的 HaCaT 细胞接种于 96 孔板, 细胞密度为每孔 1.8×10^4 个。细胞随机分为对照组 (CON)、模型组 (MOD)、雨生红球藻破壁孢子粉 (HP) 处理组 (质量浓度分别为 12.5、25.0、50.0 $\mu\text{g/mL}$) 和虾青素 (AST) 处理组 (质量浓度为 50.0 $\mu\text{g/mL}$)。模型组和各药物处理组以 80 mJ/cm^2 的 UVB 照射细胞。弃去细胞上清液, 各药物处理组分别加入含相应质量浓度药物的无血清培养基, 对照组和模型组添加无血清培养基, 继续培养 24 h。

1.3.4 CCK8法检测细胞活力

将接种于 96 孔板中的各组细胞上清液去掉, 加入含体积分数 10% 的 CCK8 溶液的 DMEM 培养基 100 μL (无血清), $\varphi=5\%$ CO_2 、 37°C 条件下孵育 2 h, 酶标仪检测 450 nm 处吸光度, 空白组、对照组和实验组的吸光度值分别记为 OD_0 、 OD_1 和 OD_2 , 按照公式 (1) 计算细胞存活率。

$$C = \frac{OD_1 - OD_0}{OD_2 - OD_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

C ——细胞存活率, %;

OD_0 ——空白组吸光值;

OD_1 ——实验组吸光值;

OD_2 ——对照组吸光值。

1.3.5 检测细胞中SOD活性和MDA含量

取对数期 HaCaT 细胞, 细胞密度为每孔 4×10^5 个接种于 6 孔板, 按“1.3.3”项下方法进行随机分组并处理, 收集各组细胞, 按照试剂盒说明书操作, 检测 SOD 活性和 MDA 含量。

1.3.6 斑马鱼存活率测试

实验一: 将斑马鱼雌雄分缸饲养于水温 28°C 、pH 值 7.1, 脱氯自来水饲养^[23], 光照/黑暗周期为 14 h:10 h。斑马鱼按雌雄 1:2 配对, 交配产卵后收集鱼卵, 放置培养箱 28°C 培养。挑选受精后 6 h 的健康斑马鱼置于 6 孔板中, 每孔 20 尾。使用标准稀释水^[24]配制质量浓度为 0.062 5、0.125、0.187 5、0.25 mg/mL 的雨生红球藻破壁孢子粉处理斑马鱼, 同时设置空白对照组 (CON)。将斑马鱼置于生化培养箱继续 28°C 孵育, 监测 72 h 的存活率。

实验二: 将 2 dpf 的斑马鱼于 6 孔板中, 每孔 20 尾, 随机分为对照组 (CON) 和雨生红球藻破壁孢子粉处理组。以辐照剂量为 600 mJ/cm^2 的 UVB 照射, 照射完毕后, 加入质量浓度为 0.062 5、0.125、0.187 5、0.25 mg/mL 的雨生红球藻破壁孢子粉。将斑马鱼置于生化培养箱继续培养至 5 dpf, 记录每组死亡情况计算存活率。

1.3.7 斑马鱼尾鳍损伤观察

参考文献^[25]方法略有改动, 挑选 2 dpf 的斑马鱼于 6 孔板中, 每孔 15 尾, 随机分为对照组 (CON)、模型组 (MOD) 和雨生红球藻破壁孢子粉处理组 (质量浓度分别为 0.062 5、0.125、0.187 5 mg/mL)。将斑马鱼以 600 mJ/cm^2 的 UVB 照射, 对照组不进行 UVB 辐照处理。照射完毕后, 各给药组进行雨生红球藻破壁孢子粉干预。5 dpf 时, 每组随机选取 10 尾斑马鱼, 在显微镜下观察尾鳍的损伤情况并拍摄。使用图像处理软件 ImageJ 计算尾鳍面积。模型组和雨生红球藻破壁孢子粉处理组的尾鳍面积分别记为 S_1 和 S_2 , 按照公式 (2) 计算尾鳍损伤修复率。

$$R = \frac{S_2 - S_1}{S_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

R ——损伤修复率, %;

S_1 ——模型组斑马鱼尾鳍面积;

S_2 ——实验组斑马鱼尾鳍面积。

1.3.8 斑马鱼细胞凋亡检测

参考文献^[26]方法,挑选 2 dpf 的斑马鱼于 6 孔板中,按“1.3.7”项方法分组并进行 UVB 辐照处理。照射完毕后,各给药组进行雨生红球藻破壁孢子粉干预,3 h 后从每组随机选取 10 尾斑马鱼,加入质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 吖啶橙溶液,置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 1 h,用 PBS 将斑马鱼清洗 3 遍,进行荧光拍照,用 ImageJ 软件分析计算相对荧光强度。

1.4 数据统计与分析

采用 SPSS 23 软件进行实验数据的统计分析,数据表示为平均值 $\pm$ 标准差,利用 one way-ANOVA 进行单因素方差分析,两两比较利用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有显著性意义。

2 结果与讨论

2.1 雨生红球藻破壁孢子粉对 HaCaT 细胞的毒性作用及 UVB 损伤保护作用

采用 CCK8 试验研究雨生红球藻破壁孢子粉对 HaCaT 细胞活力的影响,结果如图 1a。与正常组相比,雨生红球藻破壁孢子粉质量浓度在 0.0~400.0 $\mu\text{g/mL}$ 时,HaCaT 细胞存活率与对照组相比无显著性差异 ($P > 0.05$),无明显的细胞毒性。因此,可在此范围内选择处理 HaCaT 细胞的雨生红球藻破壁孢子粉浓度。

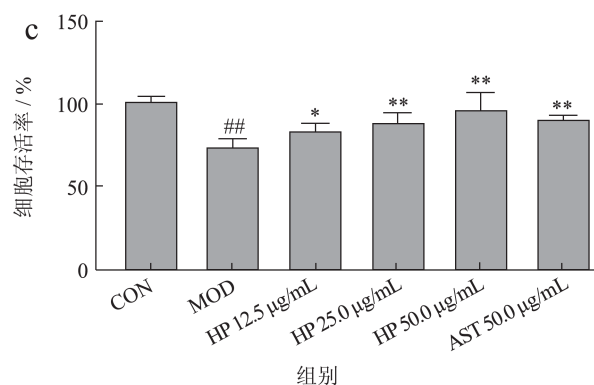
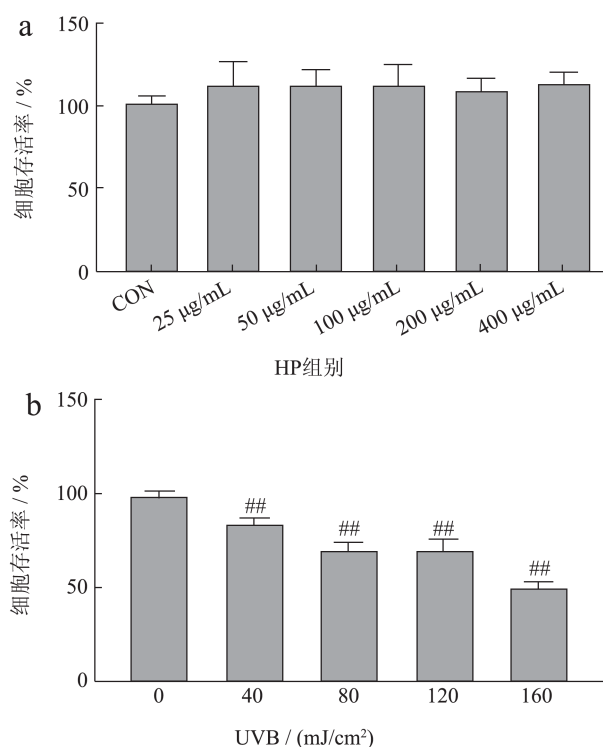


图 1 雨生红球藻破壁孢子粉对 UVB 损伤 HaCaT 细胞的保护作用

Fig.1 The protective effect of *Haematococcus pluvialis* broken wall spore powder on UVB-induced damage in HaCaT cells

注:a 为雨生红球藻破壁孢子粉对 HaCaT 细胞存活率的影响;b 为 UVB 照射处理对 HaCaT 细胞存活率的影响;c 为雨生红球藻破壁孢子粉对 UVB 损伤 HaCaT 细胞存活率的影响。与 CON 组相比, $^{##}P < 0.01$; 与 MOD 组相比, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

以对照组、40、80、120、160 mJ/cm^2 的 UVB 照射 HaCaT 细胞,结果如图 1b 所示,随着 UVB 强度的升高,细胞活力逐渐下降。与对照组相比,当 UVB 强度为 80 mJ/cm^2 时细胞存活率显著降低,为 71.15% ($P < 0.01$),可诱导细胞损伤。在随后实验,选择 80 mJ/cm^2 的 UVB 照射诱导 HaCaT 细胞损伤。

雨生红球藻破壁孢子粉对 UVB 辐照 HaCaT 细胞的保护作用如图 1c。与对照组相比,UVB 处理的模型组细胞存活率显著降低 ($P < 0.01$),仅为 74.36%。经不同剂量雨生红球藻破壁孢子粉或虾青素的干预,细胞存活率均不同程度地增加,与模型组呈显著性差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),表明能有效地抵御 UVB 辐照损伤。雨生红球藻破壁孢子粉质量浓度为 12.5、25.0 和 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞存活率分别为 84.47%、89.44% 和 96.30%。使用质量浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 虾青素处理后的 HaCaT 细胞存活率为 89.90%。虾青素是雨生红球藻中的重要抗氧化物质,在医药、功能食品和化妆品等领域有广泛的研究与应用^[14]。Chintong 等^[12]的研究表明,虾壳中天然虾青素具有较强的抗氧化活性,对真皮成纤维细胞没有细胞毒性。Chou 等^[27]采用超临界流体提取从雨生红球藻中获得富含虾青素的提取物,提取物对佛波酯诱导的原代人表皮成纤维细胞损伤表现保护作用。在本研究中,当雨生红球藻破壁孢子粉质量浓度为 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 时,对 UVB 损伤 HaCaT 细胞的保护作用优于相等浓度虾青素处理的效果。刘杨等^[28]报道了雨生红球藻中提取的多糖具有清除 DPPH 和羟自由基的作用。另外,雨生红球藻中藻蛋

白含量丰富,藻蛋白的结构相似性决定了其具有潜在的清除自由基和抗氧化作用^[29]。因此,雨生红球藻破壁孢子粉对 HaCaT 细胞 UVB 损伤的保护作用可能是其中的虾青素、多糖、蛋白及其他多种活性成分协同作用的结果。

2.2 雨生红球藻破壁孢子粉对UVB损伤HaCaT细胞SOD活性和MDA含量的影响

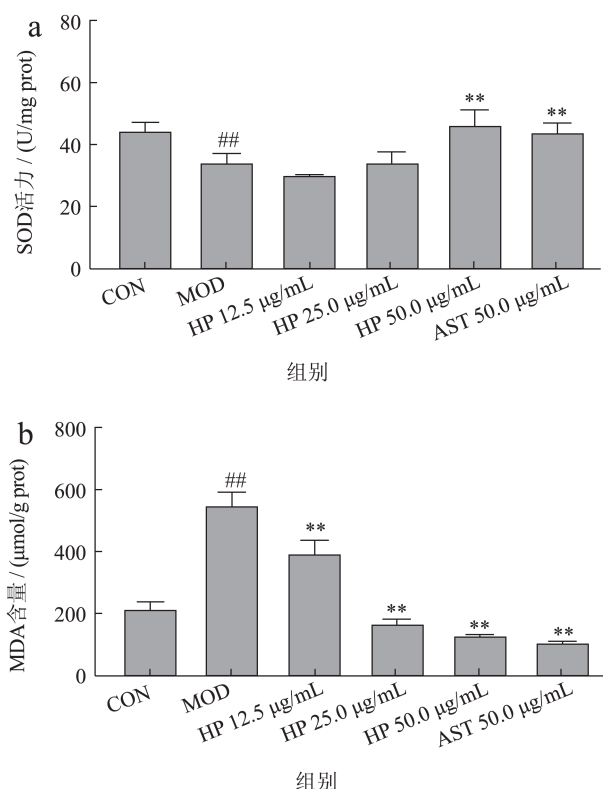


图2 雨生红球藻破壁孢子粉对 UVB 处理 HaCaT 细胞中 SOD 活力 (a)、MDA 含量 (b) 的影响

Fig.2 Effects of *Haematococcus pluvialis* spore powder on SOD activity (a) and MDA content (b) of UVB-injured HaCaT cells

注:与 CON 组相比,### $P<0.01$;与 MOD 组相比,** $P<0.01$ 。

SOD 是细胞内防御系统中重要的抗氧化酶,清除细胞内过高水平的氧自由基以减轻氧化损伤^[30]。MDA 用于评估细胞内脂质过氧化水平,可反映出细胞受到 ROS 攻击后的氧化损伤程度^[30]。通过检测抗氧化酶 SOD 活性和脂质过氧化产物 MDA 含量,评价雨生红球藻破壁孢子粉对 UVB 诱导 HaCaT 细胞氧化应激的缓解作用。由图 2 可见,与对照组相比,UVB 照射诱导损伤组的细胞内 SOD 活力显著降低 ($P<0.01$),MDA 含量显著增加 ($P<0.01$)。在质量浓度为 12.5~50.0 µg/mL 的范围内,随着雨生红球藻破壁孢子

粉浓度增加,各给药组细胞内 SOD 活力逐渐增强。经质量浓度为 50.0 µg/mL 雨生红球藻破壁孢子粉处理后,细胞内 SOD 活力显著增加 ($P<0.01$),比模型组提高 35.48%,细胞 MDA 含量显著下降 ($P<0.01$),为模型组的 23.05%。虾青素处理组(质量浓度为 50.0 µg/mL)的细胞内 SOD 活性比模型组提高 28.79%,MDA 水平下降为模型组的 19.02%。一些研究表明,降低氧化应激是减轻 UVB 对 HaCaT 细胞氧化损伤的重要机制^[21]。在本研究中,雨生红球藻破壁孢子粉处理增强了 HaCaT 细胞抗氧化能力抵御氧化应激,有效改善 UVB 所引起的细胞损伤。

2.3 雨生红球藻破壁孢子粉对斑马鱼存活率及 UVB 尾鳍损伤修复作用的影响

将斑马鱼用不同质量浓度的雨生红球藻破壁孢子粉处理,观察记录存活情况。如图 3a 所示,当雨生红球藻破壁孢子粉质量浓度在 0.062 5~0.187 5 mg/mL 时,未观察到幼鱼出现明显异常。当雨生红球藻破壁孢子粉质量浓度增大至 0.25 mg/mL,斑马鱼幼鱼存活率为 75.00%,显著低于对照组 ($P<0.05$)。斑马鱼幼鱼用 UVB 诱导建立光损伤模型,随后加入不同质量浓度雨生红球藻破壁孢子粉培养至 5 dpf,存活率如图 3b 所示,当雨生红球藻质量浓度在 0.062 5~0.25 mg/mL 时,对斑马鱼幼鱼无明显影响,且与对照组相比无显著性差异 ($P>0.05$)。因此,后续实验中雨生红球藻破壁孢子粉的处理剂量控制在质量浓度为 0.187 5 mg/mL 及以下。

斑马鱼对紫外线的吸收能力强,具有繁殖周期短、易于操作等优点,是筛选对 UVB 保护药物的理想模式生物^[31,32]。用斑马鱼模型评价了雨生红球藻提取物破壁孢子粉抗 UVB 损伤的体内作用。雨生红球藻破壁孢子粉对 UVB 照射导致斑马鱼皮肤损伤的修复能力如图 3c 和 3d 所示。未经 UVB 照射的对照组斑马鱼尾鳍完整,而暴露于 UVB 使模型组的斑马鱼尾鳍呈现出粗糙和褶皱。模型组斑马鱼的尾鳍面积比对照组显著减小 ($P<0.01$),仅为对照组尾鳍面积的 66.14%。经质量浓度为 0.062 5、0.125 和 0.187 5 mg/mL 的雨生红球藻破壁孢子粉处理,对斑马鱼尾鳍的修复率分别为 2.29%,20.07% 和 31.04%。其中,质量浓度为 0.187 5 mg/mL 的雨生红球藻破壁孢子粉处理后,斑马鱼尾鳍无明显损伤。数据表明,雨生红球藻破壁孢子粉对斑马鱼皮肤 UVB 照射损伤有显著的修复作用。

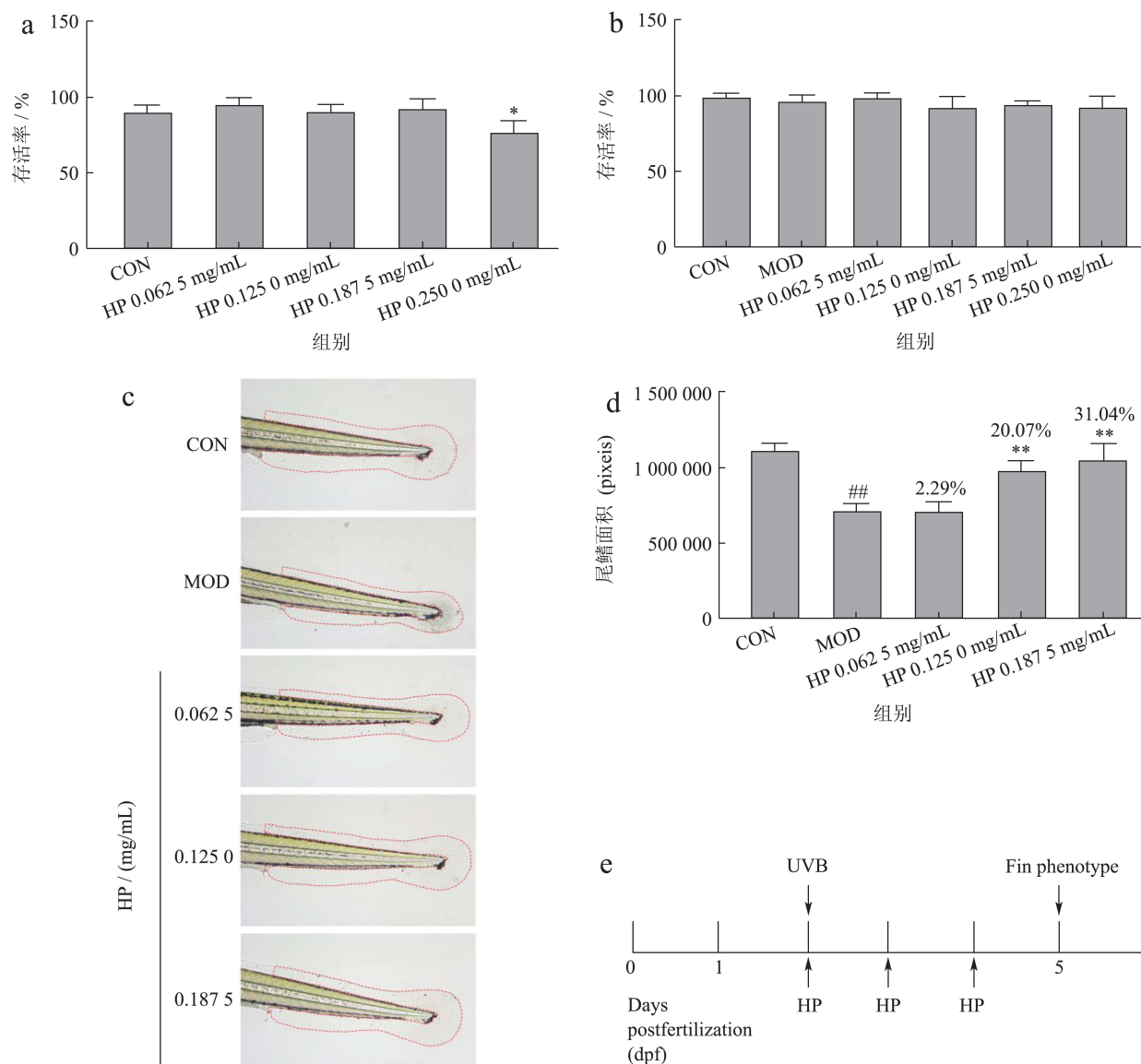


图3 雨生红球藻破壁孢子粉对斑马鱼存活率及 UVB 损伤斑马鱼鱼鳍的保护作用

Fig.3 The protective effect of *Haematococcus pluvialis* microencapsulated spore powder on zebrafish survival rate and UVB-induced damage to zebrafish fins

注: a 为雨生红球藻对斑马鱼存活率的影响; b 为雨生红球藻破壁孢子粉在 UVB 损伤模型条件下对斑马鱼存活率的影响; c 为雨生红球藻修复 UVB 导致的斑马鱼尾鳍损伤; d 为使用 Image J 软件分析斑马鱼的尾鳍面积; e 为斑马鱼实验方案示意图。与 CON 组相比, $^{##}P<0.01$; 与 MOD 组相比, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

2.4 雨生红球藻破壁孢子粉对UVB引起斑马鱼细胞凋亡的影响

UVB 辐照能够直接诱导 DNA 损伤, 对细胞凋亡有强烈的触发作用^[33]。利用吖啶橙染色检测斑马鱼细胞凋亡程度, 结果如图 4 所示。模型组斑马鱼出现大量凋亡细胞, 整体的绿色荧光强度显著增强 ($P<0.01$)。与模型组比较, 质量浓度为 0.062 5、0.125 和 0.187 5 mg/mL 的雨生红球藻破壁孢子粉处理后,

荧光强度分别减少 55.57%、72.15%、74.59% ($P<0.01$)。Yoshihisa 等^[34]探讨虾青素对紫外线诱导的 HaCaT 细胞凋亡的保护作用, 表明了其治疗效果与抗凋亡特性之间的关联。Salucci 等^[35]证实了抗氧化化合物褪黑素、肌酸和羟基酪醇下调 HaCaT 细胞中被 UVB 激活的凋亡通路, 细胞凋亡数量显著减少。在本研究中, 雨生红球藻破壁孢子粉减少了 UVB 引起的斑马鱼细胞凋亡。

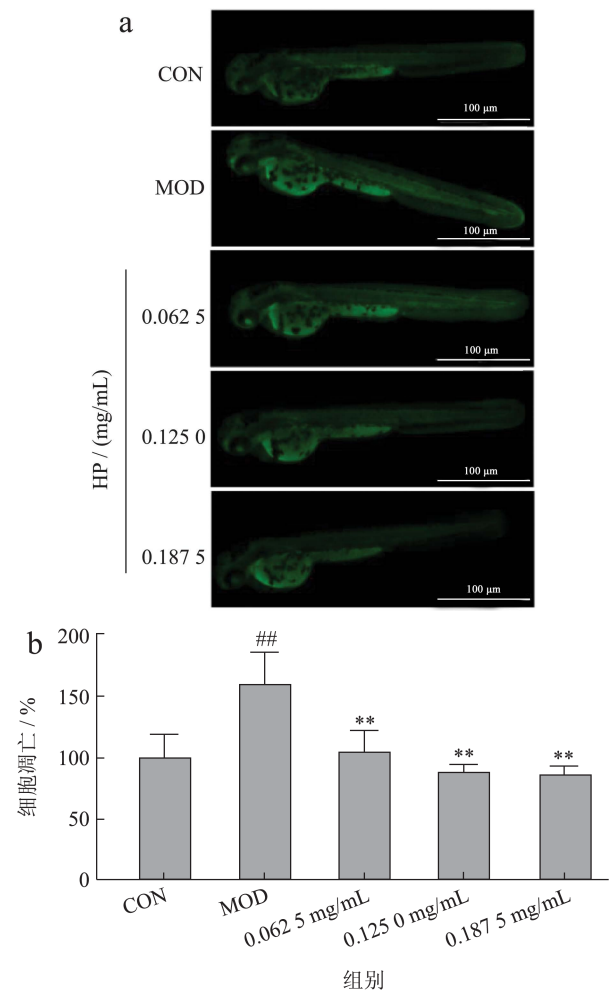


图 4 雨生红球藻破壁孢子粉对 UVB 诱导斑马鱼细胞凋亡的保护作用

Fig.4 The protective effect of *Haematococcus pluvialis* spore powder against UVB-induced apoptosis in zebrafish

注：a 为雨生红球藻修复 UVB 导致的斑马鱼细胞凋亡；b 为使用 Image J 软件测定斑马鱼的相对荧光强度。与 CON 组相比，^{##}*P*<0.01；与 MOD 组相比，^{**}*P*<0.01。

3 结论

雨生红球藻破壁孢子粉在质量浓度 400.0 μg/mL 的范围内，在体外对 HaCaT 细胞无明显毒性。对受到 UVB 诱导产生光损伤的 HaCaT 细胞，雨生红球藻破壁孢子粉能够显著提高细胞生存率，增强细胞抗氧化防御能力、降低脂质过氧化水平。体内实验结果显示，雨生红球藻破壁孢子粉在质量浓度 0.187 5 mg/mL 的范围内不影响斑马鱼的存活率。证实了雨生红球藻破壁孢子粉减轻 UVB 照射诱导的斑马鱼尾鳍损伤，减少细胞凋亡。本研究结果显示了雨生红球藻破壁孢子粉具有良好的体外和体内抵御 UVB 辐照作用，为进一步探索其缓解光损伤的作用机制奠定了基础，并为相关功能产品的开发提供了参考依据。

参考文献

[1] HU S, HUANG J, PEI S, et al. Ganoderma lucidum polysaccharide inhibits UVB-induced melanogenesis by antagonizing cAMP/PKA and ROS/MAPK signaling pathways [J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(5): 7330-7340.

[2] TONG L, WU S. The Mechanisms of carnosol in chemoprevention of ultraviolet b-light-induced non-melanoma skin cancer formation [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 3574.

[3] MA Q, LIU Q, YUAN L, et al. Protective effects of LSGYGP from fish skin gelatin hydrolysates on UVB-induced MEFs by regulation of oxidative stress and matrix metalloproteinase activity [J]. Nutrients, 2018, 10(4): 420.

[4] GRIMES P E, NELSON D B. Evaluation of an advanced antioxidant and double-conjugated retinoid/AHA cream in participants with FST IV-V [J]. Journal of Cosmetic Dermatology, 2024, 23(4): 1291-1297.

[5] LIU W, WANG F, LI C, et al. Silibinin treatment protects human skin cells from UVB injury through upregulation of estrogen receptors [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2021, 216: 112147.

[6] TANVEER M A, RASHID H, TASDUQ S A. Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: A comprehensive review [J]. Heliyon, 2023, 9(3): e13580.

[7] LI F, CAI M, LIN M, et al. Enhanced biomass and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* by a cell transformation strategy with optimized initial biomass density [J]. Marine Drugs, 2020, 18(7): 341.

[8] 陈涛, 沼泽彻, 杨福梅, 等. 雨生红球藻中天然虾青素的应用研究[J]. 农业工程技术, 2023, 43(15): 76-77.

[9] 藏颖, 梁钟文, 刘松, 等. 化学修饰对雨生红球藻多糖体外抗肿瘤活性的影响[J]. 食品科技, 2024, 49(2): 203-210.

[10] KIM B, YOUN L S, LAKSHMI N A, et al. Cell disruption and astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis*: Recent advances [J]. Bioresour Technol, 2022, 343: 126124.

[11] LI X, WANG X Q, DUAN C L, et al. Biotechnological production of astaxanthin from the microalga *Haema-tococcus pluvialis* [J]. Biotechnology Advances, 2020, 43: 107602.

[12] CHINTONG S, PHATVEJ W, RERK-AM U, et al. *In vitro* antioxidant, antityrosinase, and cytotoxic activities of astaxanthin from shrimp waste [J]. Antioxidants, 2019, 8(5): 128.

[13] 李福民, 刘媛, 廖金凤, 等. 虾青素脂质体对小鼠皮肤紫外线损伤干预机制的初步研究[J]. 四川大学学报(医学版), 2018, 49(5): 712-715.

[14] PATIL A D, KASABE P J, DANDGE P B. Pharmaceutical and nutraceutical potential of natural bioactive pigment: astaxanthin [J]. Natural Products and Bioprospecting, 2022, 12(1): 25.

[15] SANDGRUBER F, GIELSDORF A, BAUR AC, et al. Variability in macro- and micronutrients of 15 commercially available microalgae powders [J]. Marine Drugs, 2021, 19(6): 310.

- [16] MOTA G C P, MORAES L B S, OLIVEIRA C Y B, et al. Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*: processes, applications, and market [J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2022, 52(5): 598-609.
- [17] 黄浦俊,朱巧巧,颜美秋,等.破壁、未破壁雨生红球藻粉体外抗氧化活性及体内抗衰老作用及比较研究[J].中药药理与临床,2018,34(2):83-87.
- [18] 李勇超,赵健,任超,等.雨生红球藻破壁孢子粉对II型糖尿病大鼠血糖及血脂的干预作用[J].中国食品学报,2018,18(10):31-37.
- [19] 魏芬芬,王文娟,贺青华,等.雨生红球藻破壁孢子粉对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J].食品工业科技,2019,5:270-274.
- [20] 张勇,王天黎,王琦,等.雨生红球藻细胞破壁方法:中国, CN201410716791.8[P]2017-07-18.
- [21] 朱恒杏,邵孟茹,洪天畅,等.黑枸杞花青素、EGCG对波紫外线诱导HaCaT细胞氧化损伤的协同保护作用[J].现代食品科技,2024,40(8):106-115.
- [22] 高扬,易若琨,宋家乐.竹叶总黄酮对UVB诱导HaCaT细胞氧化损伤的保护作用[J].南京中医药大学学报,2015,31(2):165-169.
- [23] 熊关庆,冯杨,杨玉涔,等.厚朴酚对斑马鱼(Danio rerio)的急性毒性病理损伤评估[J].四川农业大学学报,2020,38(1):105-112.
- [24] 中华人民共和国生态环境部.GB/T 13267水质 物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法[S].北京:中国环境出版集团,2019.
- [25] CHEN B, YU L, WU J, et al. Effects of collagen hydrolysate from large hybrid sturgeon on mitigating Ultraviolet B-induced photodamage [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2022, 10: 1-16.
- [26] WANG L, JAYAWARDENA T U, HYUN J, et al. Antioxidant and anti-photoaging effects of a fucoidan isolated from *Turbinaria ornata* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 225: 1021-1027.
- [27] CHOU H Y, LEE C, PAN J L, et al. Enriched astaxanthin extract from *Haematococcus pluvialis* augments growth factor secretions to increase cell proliferation and induces MMP1 degradation to enhance collagen production in human dermal fibroblasts [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(6): 955.
- [28] 刘杨,王诗卉,刘云.3种方法提取的雨生红球藻多糖的理化性质及抗氧化活性比较[J].食品科学,2015,36(6):161-168.
- [29] 邱月,赵晓燕,刘红开,等.雨生红球藻中蛋白质的研究进展及开发利用现状[J].粮油食品科技,2018,26(5):42-47.
- [30] DOSSENA S, MARINO A. Cellular oxidative stress [J]. Antioxidants, 2021, 10(3): 399.
- [31] 刘杰,郭凤娟,郑康帝,等.番红花花提取物对紫外线损伤斑马鱼鱼鳍的保护作用[J].日用化学品科学,2019,42(9):26-29.
- [32] CHEN Y H, WEN C C, LIN C Y, et al. UV-induced fin damage in zebrafish as a system for evaluating the chemopreventive potential of broccoli and cauliflower extracts [J]. Toxicology Mechanisms and Methods, 2011, 21(1): 63-69.
- [33] SALUCCI S, BURATTINI S, BATTISTELLI M, et al. Ultraviolet B (UVB) irradiation-induced apoptosis in various cell lineages *in vitro* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14(1): 532-546.
- [34] YOSHIHISA Y, REHMAN MU, SHIMIZU T. Astaxanthin, a xanthophyll carotenoid, inhibits ultraviolet-induced apoptosis in keratinocytes [J]. Experimental Dermatology, 2014, 23(3): 178-183.
- [35] SALUCCI S, BURATTINI S, CURZI D, et al. Antioxidants in the prevention of UVB-induced keratinocyte apoptosis [J]. J Photochem Photobiol B, 2014, 141: 1-9.