

# 番茄红素抑制棒曲霉素诱导的AML12细胞凋亡

张百刚\*, 付炳钢, 杨家珺, 焦禄, 李阳  
(兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730050)

**摘要:** 为了研究番茄红素对棒曲霉素诱导的细胞凋亡的抑制作用, 以小鼠正常肝细胞 AML12 为模型, 经不同方式处理细胞后, 采用 CCK-8 检测细胞存活率, 采用乳酸脱氢酶释放检测番茄红素对细胞膜的保护作用, 检测 ROS 水平及 SOD 水平, 通过荧光显微镜观察细胞形态学的变化, Annexin V-EGFP/PI 标记检测细胞凋亡率, Western Blot 测定凋亡相关蛋白 Chop、Grp78、Caspase-12、Caspase-9、Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 的表达水平。CCK-8 结果显示, 番茄红素可显著抑制棒曲霉素诱导的 AML12 细胞凋亡。6  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  PAT 处理后的细胞存活率为 57.09%。先用 LYC 孵育 24 h, 再用 6  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  PAT 处理细胞存活率为 73.84%。番茄红素预处理细胞 LDH 释放量较棒曲霉素单独孵育降低 29.25%, 番茄红素能有效保护细胞膜完整性。AV/PI 结果显示, 棒曲霉素诱导细胞凋亡和坏死率为 38.24%, 加入番茄红素诱导细胞凋亡和坏死率为 25.57%, 晚期凋亡细胞降低 9.37%。细胞氧化还原系统指标的检测显示, 番茄红素能抑制棒曲霉素造成的 SOD 活力下降, 进而减轻 ROS 过量。结果表明, 番茄红素通过调节内质网应激途径显著抑制棒曲霉素诱导的小鼠正常肝细胞 AML12 凋亡。该研究为番茄红素的肝保护机制提供了理论基础。

**关键词:** 番茄红素; 棒曲霉素; 肝损伤; 氧化应激; 细胞凋亡  
**文章编号:** 1673-9078(2026)03-1-8 **DOI:** 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.3.1825

## Lycopene Inhibits Patulin-induced AML12 Cell Apoptosis

ZHANG Baigang\*, FU Binggang, YANG Jiajun, JIAO Lu, LI Yang

(College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

**Abstract:** We used AML12 normal mouse liver cells as a model to investigate the ameliorating effect of lycopene on patulin-induced apoptosis. Control and treated cells were subjected to CCK-8 assays, and the protective effect of lycopene on cell membranes was detected by lactate dehydrogenase (LDH) release assays. Levels of reactive oxygen species (ROS) and superoxide dismutase (SOD) were also measured. Cell morphological changes were observed via fluorescence microscopy. Apoptosis rates were detected via Annexin V-EGFP/PI staining, and expression levels of apoptosis-related proteins, including Chop, Grp78, Caspase-12, Caspase-9, Caspase-3, Bcl-2, and Bax, were determined via Western blotting. CCK-8 assay results revealed that patulin-induced apoptosis of AML12 cells could be significantly inhibited by lycopene. Cell viability was 57.09% after treatment with 6  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  patulin. When cells were pre-incubated with lycopene for 24 hours and treated with 6  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  patulin, cell viability was 73.84%. LDH release by cells pretreated with lycopene was 29.25% lower than that of cells incubated with patulin alone, indicating that cell membrane integrity can be effectively protected by lycopene. Annexin V-EGFP/PI staining showed that lycopene could reduce the patulin-induced apoptosis and necrosis rate from 38.24% to 25.57%, with the prevalence of late-stage apoptotic cells decreasing by 9.37%. Cell redox system index measurements showed that the SOD activity decline caused by patulin could be inhibited by lycopene, thereby reducing excessive ROS production. These results demonstrate that patulin-induced apoptosis of AML12 normal

引文格式:

张百刚,付炳钢,杨家珺,等.番茄红素抑制棒曲霉素诱导的AML12细胞凋亡[J].现代食品科技,2026,42(3):1-8.

ZHANG Baigang, FU Binggang, YANG Jiajun, et al. Lycopene inhibits patulin-induced AML12 cell apoptosis [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(3): 1-8.

收稿日期: 2024-12-08 ; 修回日期: 2025-04-08 ; 接受日期: 2025-04-09  
基金项目: 国家自然科学基金项目 (31760495)  
作者简介: 张百刚 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 2160693904@qq.com

mouse liver cells could be significantly inhibited by lycopene through modulation of the endoplasmic reticulum stress pathway.

These finding provide a theoretical foundation for lycopene's hepatoprotective mechanism.

**Key words:** lycopene; patulin; liver injury; oxidative stress; apoptosis

棒曲霉素 (Patulin, PAT) 是曲霉属和青霉属等共 3 属 16 种真菌产生的有毒的次生代谢产物<sup>[1,2]</sup>, 是一种广谱的杀虫剂<sup>[3]</sup>。世界卫生组织 (WHO) 和联合国粮农组织 (FAO) 对 PAT 在食品中的检测限量都做出了严格规定, 50  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  为 PAT 在食品中的安全限量<sup>[4]</sup>。各国也纷纷制订了相应的 PAT 检测标准, 我国国标 [GB 2761-2017] 中规定棒曲霉素限量为 50  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ <sup>[5]</sup>。然而, PAT 引起食品污染的事件仍常有报道<sup>[6]</sup>, 易受 PAT 污染的食品有水果及其制品, 尤其是苹果、山楂、梨、桃子和苹果汁<sup>[7]</sup>。目前, 对棒曲霉素的研究主要集中在快速检测及脱毒技术方面<sup>[8-10]</sup>。既往研究已经证明棒曲霉素对动物和人类健康产生多种不良影响, 包括免疫毒性、神经毒性、肝毒性和肾毒性等<sup>[11-13]</sup>。研究表明 PAT 会导致肝组织损伤, 显著提升谷草转氨酶 (AST) 及谷丙转氨酶 (ALT) 的活性<sup>[14]</sup>。然而现有技术无法完全消除 PAT, 残留的 PAT 将继续对人类健康构成威胁<sup>[15,16]</sup>。

番茄红素 (Lycopene, LYC) 是公认的强效抗氧化剂, 它可以有效地参与调节体内的氧化还原平衡, 防止由自由基引起的细胞损伤<sup>[17,18]</sup>。这种独特的抗氧化机制在预防心血管疾病、肿瘤、以及神经退行性疾病等多种疾病中发挥着关键作用<sup>[19-22]</sup>。此外, 番茄红素还具有调节代谢、保护视力、保护皮肤等作用<sup>[23-26]</sup>。番茄红素作为一种具有广泛健康益处的天然化合物, 有望成为未来健康促进和疾病预防治疗的重要工具<sup>[27]</sup>。

随着对番茄红素作用机制的进一步了解和应用技术的不断进步, 人们期待用番茄红素来改善生活质量和预防疾病。本研究旨在通过体外实验, 研究番茄红素是否能抑制棒曲霉素诱导的小鼠正常肝细胞损伤, 以及调控氧化应激和细胞凋亡的作用, 为防治 PAT 诱导的肝损伤和基于番茄红素的药物、保健品以及功能性食品的开发应用提供方向。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 细胞株及试验试剂

小鼠正常肝细胞株 AML12 系购自上海中科院实验

室。棒曲霉素标准品 (CAS:149-29-1) 购自上海哈灵生物科技有限公司; 番茄红素 (CAS:502-65-8) 购自 AbMole 公司; 青霉素、链霉素、棒曲霉素购自 Sigma 公司; 胎牛血清购自 Hyclone 公司; DMEM 培养基、胰蛋白酶购自 Gibco 公司; CCK-8、Hoechst33342、LDH 细胞毒性检测试剂盒、Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒、活性氧 (ROS) 检测试剂、超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒均购于碧云天生物技术研究; 其他试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 主要仪器设备

CP-50A CO<sub>2</sub> 培养箱, 湖南湘仪生物设备有限公司; BD Accuri C6 plus 流式细胞分析仪, 美国 BD Biosciences 公司; ChemiScope 6100 化学发光成像系统, 上海勤翔科学仪器有限公司; 3-18KS 高速冷冻离心机, 美国 Sigma 公司; M200pro 多功能酶标仪, 瑞士 TECAN 公司; PA53 FS6 生物荧光显微镜, 麦克奥迪实业集团有限公司; EVos F1 倒置荧光显微镜, 美国 LIFE 公司。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 细胞培养

AML12 细胞接种于 50 cm<sup>2</sup> 培养瓶, 10% (体积分数) 的胎牛血清 DMEM 培养液 (青霉素、链霉素各 100 U·L<sup>-1</sup>) 在 5% (体积分数) CO<sub>2</sub>, 37 °C 的条件下进行培养, 待细胞长至 80%~90% (覆盖培养瓶表面比例) 满时, 质量浓度为 2.5 g·L<sup>-1</sup> 胰蛋白酶消化传代, 每 3 d 传代一次。实验所用的细胞均处于对数生长期生长良好的细胞。

### 1.2.2 AML12细胞增殖抑制试验

取状态良好, 处于对数生长期的 AML12 细胞, 用胰酶消化, 收集细胞, 细胞计数板计数后将细胞浓度调整至每毫升  $5\times 10^4$  个, 接种于 96 孔培养板, 每孔 100  $\mu\text{L}$  细胞悬液中含 5 000 个细胞。

(1) 待细胞贴壁后, 将培养基更换为 0、10、20、30、40、50、60、70、80、100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  不同 LYC 浓度的培养液, 培养 24 h, 按照 CCK-8 检测试剂盒说明进行检测。

(2) 待细胞贴壁后, 将培养基更换为 2、4、6、8、10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  不同 PAT 浓度的培养液, 培养 24 h 后按照

CCK-8 检测试剂盒说明进行检测。

(3) 待细胞贴壁后, 将培养基更换为  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  PAT 培养液培养 24 h 后更换为 5、10、20、 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC 培养液培养 24 h, 进行 CCK-8 检测。

(4) 待细胞贴壁后, 将培养基更换为 5、10、20、 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC 分别和  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  PAT 培养液共同培养 24 h, 进行 CCK-8 检测。

(5) 待细胞贴壁后, 将培养基更换为 5、10、20、 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC 培养液培养 24 h 后将培养基更换为  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  PAT 培养液培养 24 h, 进行 CCK-8 检测。

### 1.2.3 细胞凋亡形态检测

取对数生长期的 AML12 细胞, LYC 组细胞用  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC 孵育 24 h, PAT 组细胞用  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  PAT 孵育 24 h, LYC+PAT 组细胞用  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC 处理 24 h 后更换为  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  PAT 培养液培养 24 h, 在进行染色前, 胰酶消化细胞, 细胞计数, 将细胞浓度调整至每毫升  $5\times 10^4$  个, 将细胞接入到 24 孔板, 每孔 2.5 万个细胞, 待细胞贴壁用 PBS 冲洗孔板, 3.7% (质量分数) 多聚甲醛固定细胞 15 min。用 PBS 洗涤 3 次。将 Hoechst 33342 荧光染液加入 24 孔板中染色后, 用 PBS 漂洗、荧光显微镜观察。

### 1.2.4 细胞凋亡率检测

取对数生长期的 AML12 细胞, 按 1.2.3 的方法处理 LYC 组、PAT 组和 LYC+PAT 组细胞, 培养完毕后吸出细胞培养液, PBS 洗涤细胞一次, 加入适量质量浓度为  $2.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的胰酶细胞消化液消化细胞。吸除胰酶细胞消化液。加入收集的细胞培养液, 稍混匀后转移到离心管内,  $1\,000 \text{ g}$  离心 5 min, 弃上清, 收集细胞, 按照 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒说明进行细胞凋亡率检测。

### 1.2.5 LDH释放检测

实验设计包括未经药物处理的对照细胞孔 (样品对照孔), 未经药物处理且用于确定最大酶活性的细胞孔 (样品最大酶活性对照孔), 以及接受药物处理的细胞孔 (包括 PAT 组和 LYC+PAT 组)。药物处理完成后, 将培养基更换为无血清培养基, 继续孵育 2 h。根据操作说明加入试剂,  $490 \text{ nm}$  波长下测定吸光度。

### 1.2.6 SOD检测

SOD 在生物体中发挥着重要作用, 能够清除自由基<sup>[28]</sup>。按 1.2.3 的方法处理 LYC 组、PAT 组和 LYC+PAT 组细胞, 药物处理后, 收集细胞, 用  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  PBS 洗涤 1 遍。冰浴将沉淀的细胞用细胞裂解液裂解,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  离心并取上清作为待测样品。同时取部分上

清 BCA 测定蛋白浓度, 用于后续计算。根据说明书将试剂加入样品, 室温孵育 0.5 h。孵育好后, 在  $450 \text{ nm}$  波长下测吸光度。

### 1.2.7 ROS水平测定

对细胞内活性氧 (ROS) 水平进行检测, 使用 DCFH-DA 作为荧光探针, 用无血清培养基中稀释 DCFH-DA 1000 倍。设置对照组、LYC 组、PAT 组和 LYC+PAT 组, 按 1.2.3 的方式处理细胞。孵育完毕后用 PBS 清洗待测细胞, 清除孔板中残留的外源性物质后加入稀释好的 DCFH-DA 溶液, 放入培养箱中孵育 20 min, 使探针与细胞的充分接触。孵育完毕后吸除 DCFH-DA 溶液并收集细胞。使用流式细胞仪检测刺激前后荧光的变化。

### 1.2.8 凋亡相关蛋白表达检测

取对数生长期细胞, 按 1.2.3 的方法处理 LYC 组、PAT 组和 LYC+PAT 组细胞, 收集细胞,  $16\,000 \text{ g}$ ,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  离心 20 min, 取上清液待用。BCA 法测定蛋白浓度<sup>[29]</sup>, 上清液与蛋白缓冲液 loading buffer 以 4:1 比例混合。沸水浴加热 5 min, 冰水浴 1 min, 重复 3 次, 获得待测样品,  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

SDS-PAGE 电泳, 配置 10% (质量分数) 分离胶及浓缩胶, 根据蛋白浓度计算上样量, 加入样品后进行电泳、转膜和封闭, 使用 Bax、Bcl-2、Caspase-3、Caspase-9、Caspase-12、Chop 和 Grp78 等抗体检测蛋白表达水平。用凝胶材料成像设备曝光蛋白条带, 用 Image J 软件进行灰度分析, 将目的条带与内参条带的比值作为结果, 并将结果进行可视化。

### 1.2.9 数据分析

采用 Microsoft Office Excel 2021 统计学软件进行数据处理。实验数据用平均值  $\pm$  标准差表示。采用 Graphpad Prism 9.5.0 分析软件进行单因素方差分析, 并使用 Student's *t*-test 检验进行组间差异比较。 $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 LYC、PAT对AML12细胞增殖的影响

各种浓度的 LYC 对 AML12 细胞存活率的影响如图所示, 由图 1 可见,  $0\sim 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC 对 AML12 细胞的生长无抑制作用。 $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC 和  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC 作用下 AML12 细胞存活率略低于对照组, 但无显著性差异。

由图 2 所示, PAT 能抑制 AML12 细胞生长, 且随着浓度增大抑制作用加强, 具有浓度依赖性。

4~10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 PAT 对 AML12 细胞的抑制率分别为 26.71%、42.91%、56.95%、71.69%。细胞半数存活时所对应的 PAT 浓度在 6~8  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  之间。浓度接近半数抑制浓度有助于深入了解药物对细胞的毒性作用机制, 后续实验中, PAT 的使用浓度确定为 6  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

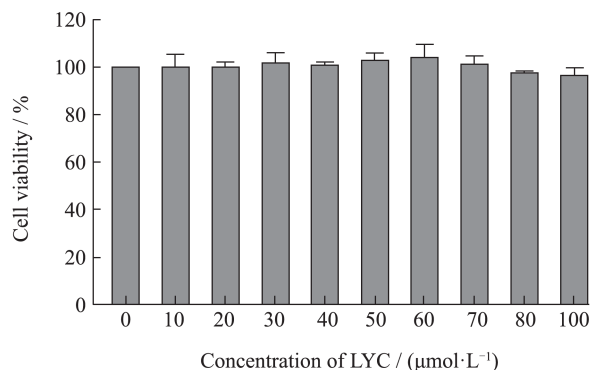


图 1 不同浓度 LYC 对 AML12 细胞存活率的影响

Fig.1 Effect of different concentrations of LYC on AML12 cell viability

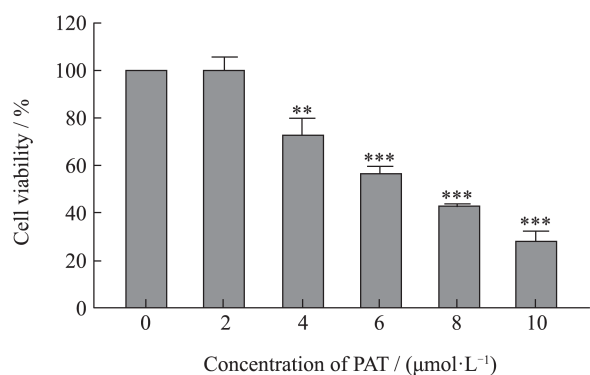


图 2 不同浓度 PAT 对 AML12 细胞存活率的影响

Fig.2 Effect of different concentrations of PAT on AML12 cell viability

注: \*\* $P<0.01$ ; \*\*\* $P<0.001$ 。

## 2.2 不同处理方式对 AML12 细胞增殖抑制试验

如图 3 所示, CCK-8 测得细胞存活率表明: 图 3a 先构建 PAT 损伤模型再用 LYC 修复与图 3b 同时添加 PAT 和 LYC 孵育, 都无法提升 AML12 细胞存活率; 而图 3c 先用 LYC 孵育 24 h, 再用 PAT 孵育, 当 LYC 浓度超过 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时细胞存活率显著上升, 20  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC 使细胞存活率上升 23.13%。实验结果表明 LYC 能抑制 PAT 造成的细胞损伤, 从而发挥保肝作用, 通过三幅图的对比可以看出图 3c 的细胞处理方式使细胞存活率最高, 后续实验采用图 3c 相同处理方式。同时, 图 3c 中 20  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  与 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC 对细胞存活率的影响无显著性差异, 后续实验确定 LYC 浓度为 20  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

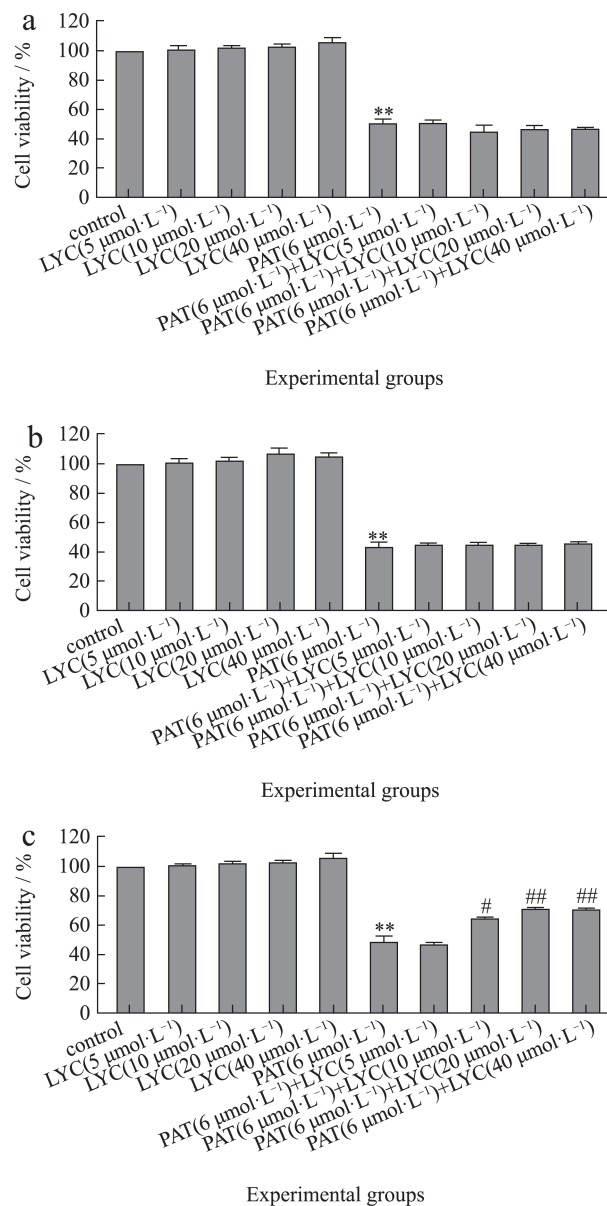


图 3 不同处理方式对细胞存活率的影响

Fig.3 Effect of different treatments on cell viability

注: \*\* $P<0.01$  vs control; # $P<0.05$  vs PAT 6  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; ### $P<0.01$  vs PAT 6  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。a 为 PAT 损伤后加入 LYC 培养的细胞存活率, b 为 PAT 与 LYC 共同孵育 24 h 的细胞存活率, c 为 LYC 孵育 24 h 后, 添加 PAT 孵育 24 h。

## 2.3 Hoechst33342 检测细胞凋亡形态

为了深入了解 LYC 对 PAT 诱导的细胞凋亡抑制作用, 使用番茄红素对细胞进行预处理, 然后与棒曲霉素一起孵育。通过 Hoechst33342 荧光染色显示出, 对照组中的细胞具有完整的细胞核形态和清晰的边缘。LYC 组荧光染色结果与对照组差异不大, 但在 PAT 浓度为 6  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 以片段形式致密染色的细胞比例增加。凋亡小体和致密浓染, 代表细胞凋亡或细胞坏死。与 PAT 组相比, LYC+PAT 组的碎片致密染色比例显

著降低, 虽然部分细胞核萎缩, 但形态仍完好, 凋亡小体减少。由 PAT 诱导产生的诸如细胞皱缩、细胞核呈亮蓝色以及出现凋亡小体等明显的形态学异常可被 LYC 缓解 (图 4)。

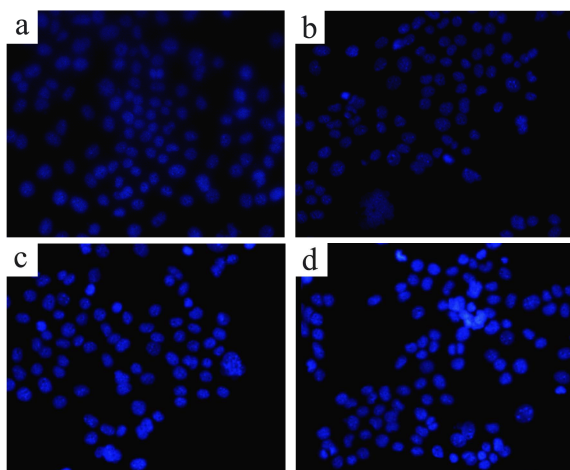


图 4 Hoechst33342 观察 LYC 对 AML12 细胞凋亡的抑制作用  
Fig.4 LYC on apoptosis of AML12 cells observed by Hoechst33342  
注: a 为 control, b 为  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC, c 为  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  LYC+ $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  PAT, d 为  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  PAT。

## 2.4 AnnexinV-FITC/PI双染检测结果

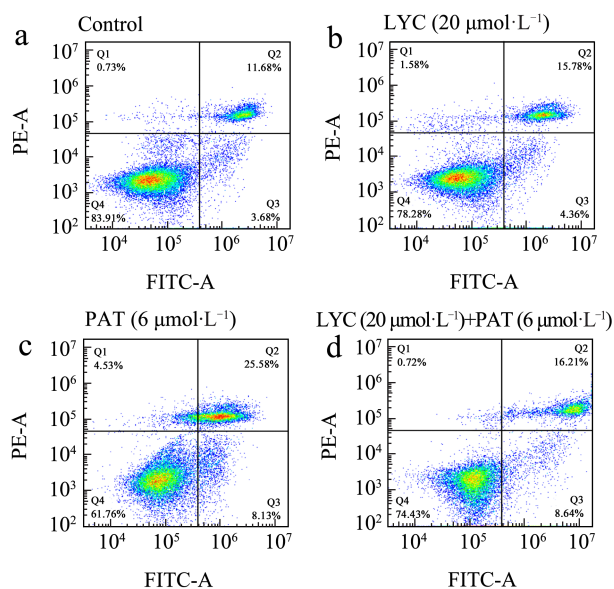


图 5 Annexin V-FITC 测定细胞凋亡率

Fig.5 Apoptosis rate determined by Annexin V-FITC

如图 5 所示, LYC ( $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 组与对照组相比各部分的细胞占比差距不大, 早期凋亡和坏死细胞上升比例为 0.58%, 对照组活细胞占 83.91%、LYC 组活细胞占 78.28%, 晚期凋亡比例上升可能由于检测先后顺序导致 LYC 组时间较对照组略长。PAT ( $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 组的活细胞数量仅为 61.76%, 晚期凋亡

或坏死的细胞比例达到 25.58%。LYC ( $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) +PAT ( $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 混合组的活细胞数量较 PAT 组上升了 12.67%; 晚期凋亡或坏死的细胞数量下降了 9.37%。说明 LYC 对 PAT 诱导的细胞凋亡有明显的抑制作用。

## 2.5 LDH释放检测

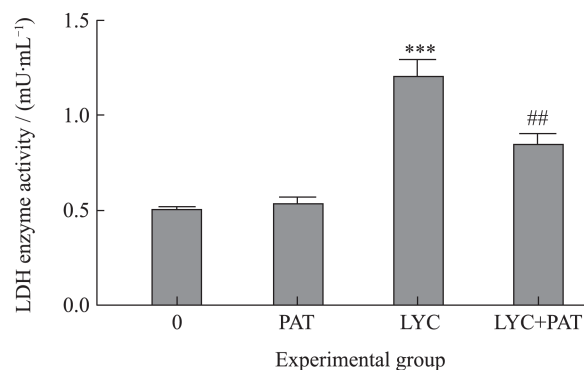


图 6 不同处理方式对 AML12 细胞 LDH 释放的影响

Fig.6 Effects of different treatments on LDH release from AML12 cells

注:  $***P<0.001$  vs 0;  $##P<0.01$  vs PAT。0 为对照组, LYC 为 LYC 浓度  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , PAT 为 PAT 浓度  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , LYC+PAT 为 LYC 浓度  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ +PAT 浓度  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。各处理下同。

通过检测细胞培养液中 LDH 的含量, 反映细胞的损伤或死亡情况如图 6 所示, 与对照组相比, PAT ( $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 组 LDH 细胞释放量大幅增加, 正常细胞 LDH 释放量仅为  $0.51 \text{ mU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。与 PAT 组相比, PAT ( $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和 LYC ( $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 混合组 LDH 细胞释放量下降了  $0.36 \text{ mU}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 具有显著性差异, 表明番茄红素可有效抑制棒曲霉素对 AML12 细胞的损伤, 对 AML12 细胞起保护作用。

## 2.6 SOD检测

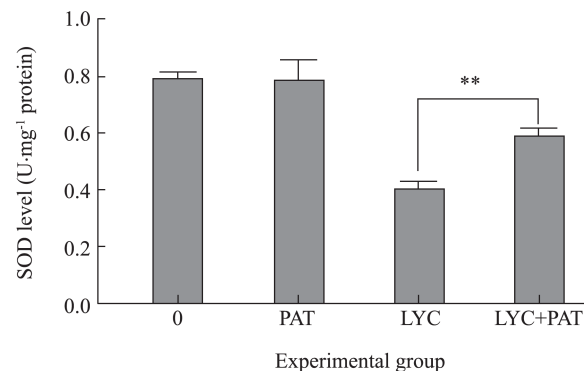


图 7 不同处理方式对 AML12 细胞 SOD 水平的影响

Fig.7 Effects of different dosing methods on SOD levels

注:  $**P<0.01$ 。

如图 7 所示,与对照组相比, PAT 诱导使细胞 SOD 活力由  $0.79 \text{ mU}\cdot\text{mL}^{-1}$  下降至  $0.43 \text{ mU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。与 PAT ( $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 组相比, PAT ( $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) +LYC ( $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 混合组 SOD 活力水平为  $0.58 \text{ mU}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 较棒曲霉素组有显著性差异。综合比较四组不同处理方式的 AML12 细胞的 SOD 活力, 可知番茄红素处理能显著降低棒曲霉素造成的氧化应激。

2.7 ROS水平测定

图 8 所示, PAT 组与对照组和 LYC 组相比荧光强度增加, ROS 水平提高了近 10 倍。LYC 组的 ROS 水平与对照组相比有所上升。LYC 和 PAT 的混合组的 ROS 水平比 PAT 组的 ROS 水平下降很多。由 PAT 诱导产生的 SOD 活力降低可被 LYC 缓解, 进而清除过量的 ROS。

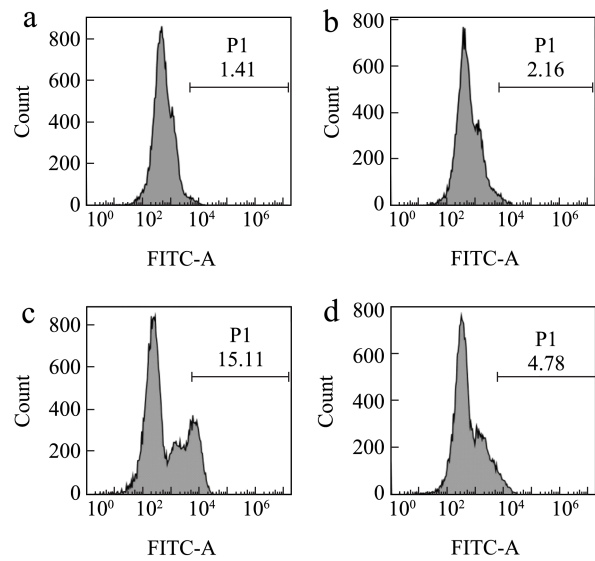


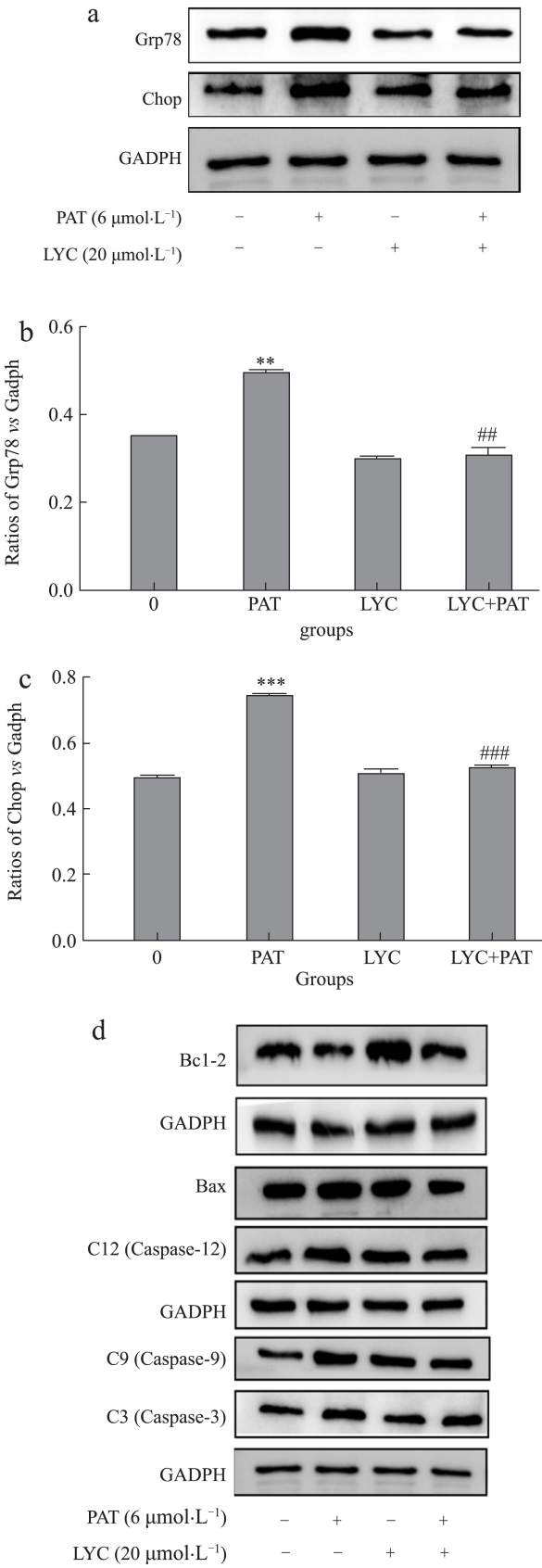
图 8 不同处理方式对 AML12 细胞 ROS 含量的影响  
Fig.8 Effects of different treatments on ROS content in AML12 cells AML12

注:a 为对照组,b 为 LYC 组,c 为 PAT 组,d 为 LYC+PAT 组。

2.8 Western Blot检测结果

Caspase-3、Caspase-9、Caspase-12、Bax 和 Bcl-2 是凋亡相关蛋白; Grp78、Caspase-3、Caspase-9 和 Caspase-12 与内质网应激相关, 严重的内质网应激可以促进促凋亡蛋白的表达, 如 Chop。如图 9 所示, 与对照组相比, PAT 上调了 Chop、Grp78、Caspase-3、Caspase-9、Caspase-12 和 Bax 的蛋白表达量, 而 PAT 诱导过后的 Bcl-2 表达水平显著降低。而 PAT 诱导的蛋白过表达仅在 LYC 预处理后被抑制。同时, PAT 下调 Bcl-2 的蛋白表达仅在 LYC 预处理后被抑制。说明番茄红素通过 Bcl-2、Bax 信号通路抑制了棒曲霉素诱导的肝损伤<sup>[30]</sup>。而在 AML12 细胞内质网途径中重

要的 Grp78 和 Chop 蛋白受棒曲霉素影响表达量显著上升, 加入番茄红素后, 番茄红素能下调 Grp78 和 Chop 的蛋白表达量, 从而阻止内质网进应激, 进而减少细胞凋亡, 抑制肝脏损伤<sup>[31]</sup>。



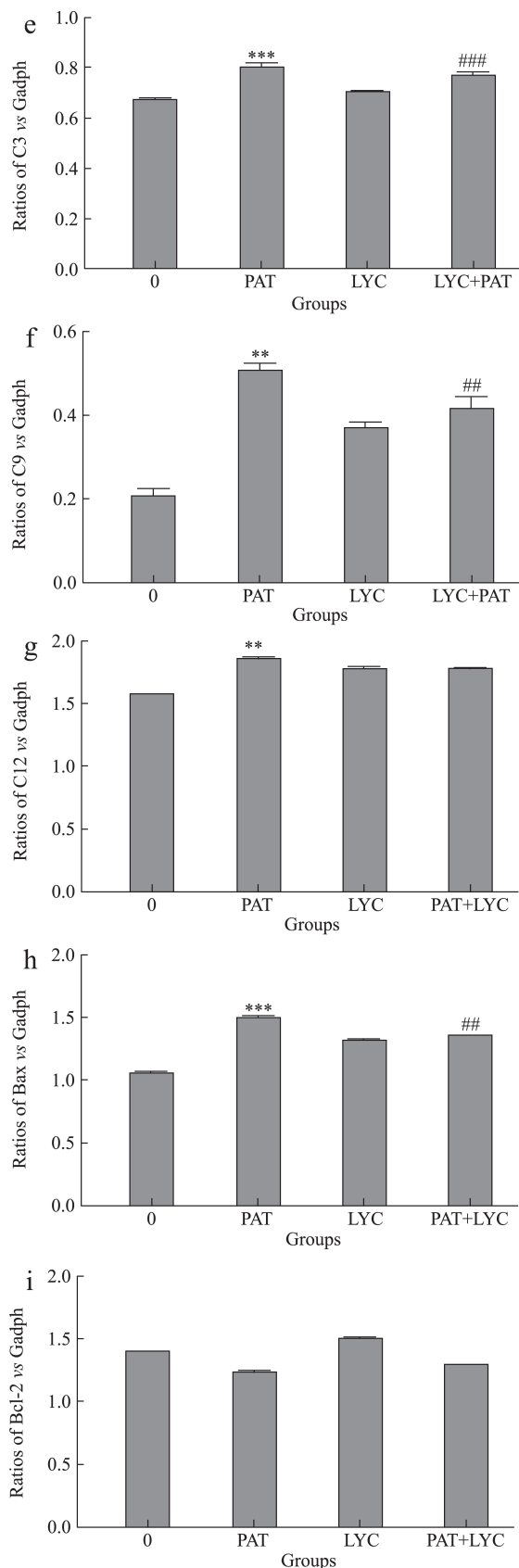


图9 AML12 细胞蛋白表达水平

Fig.9 Protein expression level of AML12 cells

注: \*\* $P < 0.01$  vs 0; \*\*\* $P < 0.001$  vs 0; ### $P < 0.01$  vs PAT; #### $P < 0.001$  vs PAT。

### 3 结论

番茄红素会抑制棒曲霉素造成的细胞发生形态学改变,抑制 AML12 细胞凋亡。番茄红素能抑制由棒曲霉素引起的 AML12 细胞 LDH 释放量增加,降低棒曲霉素对细胞造成的损伤,保护细胞膜,减少胞内物质流出,维持细胞稳态平衡。SOD 检测结果显示,与空白对照组相比,当 PAT 诱导 AML12 细胞时,细胞抗氧化指标 SOD 水平下降,细胞内过氧化氢含量升高,从而引起细胞的凋亡和坏死。LYC 预处理使 SOD 水平上升,清除自由基,从而抑制细胞凋亡和坏死。ROS 分析结果显示, PAT 使细胞氧化应激,活性氧产物累积,导致细胞凋亡; LYC 通过抑制 PAT 诱导产生过量的 ROS 来抑制细胞凋亡。Western-blotting 实验表明 PAT 处理后,促凋亡蛋白 Bax 上调,抗凋亡蛋白 Bcl-2 下调。PAT 处理细胞后引起细胞内质网应激相关蛋白 Grp78、Chop、Caspase-12、Caspase-9、Caspase-3 表达上调,内质网应激诱导促凋亡信号通路 Chop、Caspase-12 被激活,被 PAT 诱导激活的 Caspase-9 会激活 Caspase-3,从而启动 Caspase 级联反应,该反应通过对底物的特定裂解导致细胞凋亡。LYC 处理后 Bax 和 Caspase-9 的过表达受到抑制, Bcl-2 的蛋白表达增加。Bcl-2 蛋白家族与 caspase-9 介导的细胞毒性死亡信号之间的级联反应不能传递给 Caspase-3,使番茄红素阻断凋亡信号从而抑制 PAT 诱导的损伤 LYC 通过下调 Grp78 和 Chop 来阻止促凋亡过程,保护 AML12 细胞。

本研究通过体外细胞实验探究了番茄红素的保肝作用机理与效果,为后续深入开展体内保肝研究提供了一定实验室基础,也为番茄红素对棒曲霉素肝毒的防控提供了初步思路。

### 参考文献

- [1] KARA M, ZAH E, JANNUZZI A T, et al. Oxidative stress mediated cardiac apoptosis[J]. Journal of Pharmacy of Istanbul University, 2015, 45(2): 217-232.
- [2] QUI Y, CHEN Y L, ZHANG X C, et al. Effects of selenium nanoparticles on preventing patulin-induced liver, kidney and gastrointestinal damage[J]. Foods, 2022, 11: 749.
- [3] ZHANG B G, HUANG C H, LU Q K, et al. Involvement of caspase in patulin-induced hepatotoxicity *in vitro* and *in vivo*[J]. Toxicon, 2022, 206: 64-73.
- [4] 刁恩杰,刘巍,王月,等.苹果汁中棒曲霉素臭氧脱毒设备的设计与应用[J].农业工程学报,2018,34(12):282-287.
- [5] 张亚健,刘阳,邢福国.我国浓缩苹果汁生产现状及棒曲霉素对其品质的危害[J].食品科技,2009,34(11):54-57.
- [6] GUO X, DONG Y. Patulin induces pro-survival functions via autophagy inhibition and p62 accumulation[J]. Cell Death and

- Disease, 2013, 4(10): e822.
- [7] CHEN F, XUE C Y, MA J Y, et al. The combination of deoxynivalenol and zearalenone at permitted feed concentrations causes serious physiological effects in young pigs [J]. Journal of Veterinary Science, 2008, 9(1): 39-44.
- [8] WEI C, YU L, QIAO N, et al. The characteristics of patulin detoxification by *Lactobacillus plantarum* 13M5 [J]. Food and Chemical Toxicology, 2020, 146 (prepublish): 111787.
- [9] 杨佳毅,孙淑敏,李佳骏,等.二氧化钛/石墨氮化碳复合材料对棒曲霉素的吸附与光催化降解作用研究[J].食品安全质量检测学报,2023,14(20):260-268.
- [10] ZHANG Y, WU X, YIN L, et al. Competitive binding strategy for reliable signal-off surface enhanced Raman scattering sensing in protecting apples from patulin without external interference [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 139: 107052.
- [11] MANEL B, INTIDHAR B S, ALEXANDRE P, et al. Patulin induces apoptosis through ROS-mediated endoplasmic reticulum stress pathway [J]. Toxicological Sciences An Official Journal of the Society of Toxicology, 2015, 2: 328.
- [12] ZHONG Y, JIN C, GAN J, et al. Apigenin attenuates patulin induced apoptosis in HEK293 cells by modulating ROS mediated mitochondrial dysfunction and caspase signal pathway [J]. Toxicon, 2017, 137: 106-113.
- [13] CHEN J H, CAO J L. T-2 toxin-induced apoptosis involving Fas, p53, Bcl-xL, Bcl-2, Bax and caspase-3 signaling pathways in human chondrocytes [J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2008, 9(6): 455-463.
- [14] TING Z, MIN Y, CHONG X H, et al. Identification of mouse metabolic variations related to patulin-induced acute and subacute hepatotoxicity by ultra-high-performance liquid chromatography high-resolution mass spectrometry [J]. Food Research International, 2023, 166: 112546.
- [15] BUSBEE D, BARHOUNI R, BURGHARDT C. Protection from glutathione depletion by a glyconutritional mixture of saccharides [J]. Journal of the American Aging Association, 1999, 22: 159-165.
- [16] PATTONO D, GROSSO A, STOCCO P P, et al. Survey of the presence of patulin and ochratoxin A in traditional semi-hard cheeses [J]. Food Control, 2013, 33: 54-57.
- [17] LU X, ZHANG E, YIN S, et al. Methylseleninic acid prevents patulin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via the inhibition of oxidative stress and inactivation of p53 and MAPKs [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(26): 5299-5305.
- [18] XU X, HUANG C, XU Z, et al. The strategies to reduce cost and improve productivity in DHA production by *Aurantiochytrium* sp.: from biochemical to genetic respects [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104: 1-15.
- [19] SAHIN K, ORHAN C, TUZCU M, et al. Orally administered lycopene attenuates diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats by modulating Nrf-2/HO-1 and Akt/mTOR pathways [J]. Nutrition and Cancer, 2014, 66(4): 590-598.
- [20] BOUSSABBEH M, BEN S I, BELGUESMI F, et al. Tissue oxidative stress induced by patulin and protective effect of crocin [J]. NeuroToxicology, 2016, 53: 343-349.
- [21] ISMAIEL A, PAPENBROCK J. Effect of patulin from *penicillium vulpinum* on the activity of glutathione-s-transferase and selected antioxidative enzymes in maize [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2017, 14(7): 825.
- [22] AYED-BOUSSEMA I, ABASSI H, BOUAZIZ C, et al. Antioxidative and antigenotoxic effect of vitamin E against patulin cytotoxicity and genotoxicity in HepG2 cells [J]. Environmental Toxicology, 2013, 28(6): 299-306.
- [23] 路文婷.番茄红素对人肝癌细胞增殖和凋亡的影响与机制分析[J].健康之路,2018,17(4):3.
- [24] WANG Y. The role of lycopene in human health: a review [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2021, 70(5): 709-711.
- [25] MA S. Lycopene and age-related macular degeneration: a review [J]. International Journal of Ophthalmology, 2018, 32(6): 3193-3214.
- [26] 孙青,姜迎,高源,等.番茄红素对小鼠酒精性肝损伤的拮抗作用[J].中国食品卫生杂志,2017,29(2):145-148.
- [27] 李琳,吴永娴,曾凡坤.番茄红素的研究进展[J].食品科学,2000, 5:8-11.
- [28] 张笑天,郑晓瑛.氧化自由基清除剂超氧化物歧化酶与疾病[J].中国公共卫生,2014,30(10):1349-1352.
- [29] 胡勇,纪德铭,詹骞,等.人血浆中纤维蛋白溶酶原纯化工艺样品蛋白含量改良BCA检测方法的建立及验证[J].中国生物制品学杂志,2021,34(5):595-601.
- [30] CHU-CHIAO W, SUNHEE L, SRINIVAS M, et al. The Apaf-1 apoptosome induces formation of caspase-9 homo- and heterodimers with distinct activities [J]. Nature Communications, 2016, 7(1): 13565.
- [31] RUI G, BIN L, FEI J P, et al. Inhibition of caspase-9 aggravates acute liver injury through suppression of cytoprotective autophagy [J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 32447.