

doi: 10.16104/j.issn.1673-1891.2023.02.001

灰树花多糖对谷氨酸损伤 PC12 细胞的保护作用

李红侠, 吴长昊, 聂振威, 赵 博, 毛雨晴

(宿州学院生物与食品工程学院, 安徽 宿州 234000)

摘要:通过谷氨酸诱导 PC12 细胞损伤, 建立氧化应激损伤的体外模型, 探讨灰树花多糖对细胞损伤的保护作用。试验分为模型组(谷氨酸 15 mmol/L)、治疗组(灰树花多糖 25、50、100、200 mg/L+谷氨酸 15 mmol/L)、对照组(不添加谷氨酸和灰树花多糖); MTT 法检测细胞活性; 酶标仪及检测试剂盒检测抗氧化酶(过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶)活性、抗超氧阴离子活力及丙二醛浓度; 活性氧检测试剂盒(ROS Assay Kit)检测活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平; 流式细胞仪检测细胞凋亡率。结果表明:(1)治疗组细胞存活率、抗氧化酶的活性均高于模型组, 且随着灰树花多糖质量浓度的增加呈现先上升后下降的趋势; 丙二醛浓度则相反。(2)治疗组灰树花多糖质量浓度为 100 mg/L 时, 细胞存活率最高(80.27% ± 0.82%), 过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、抗超氧阴离子活性最大(分别为 24.78 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、21.42 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、48.62 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ 、137.65 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$), 丙二醛浓度最小(0.92 nmol/mL), 且与模型组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。 (3)治疗组灰树花多糖质量浓度为 100 mg/L 和 200 mg/L 时, 随着多糖质量浓度的增加, 细胞 ROS 水平升高、细胞凋亡率增大, 但细胞 ROS 水平、凋亡率均显著低于模型组($P < 0.05$)。灰树花多糖能抑制细胞凋亡, 提高抗氧化酶活性和抗超氧阴离子的活性, 减少 ROS 和丙二醛的生成, 对谷氨酸损伤具有一定的保护作用。

关键词:灰树花多糖; 神经细胞; 抗氧化酶; 活性氧; 细胞凋亡

中图分类号:TS201.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-1891(2023)02-0001-06

Protective Effect of *Grifola frondosa* Polysaccharide Against PC12 Cell Damage Induced by Glutamate Acid

LI Hongxia, WU Changhao, NIE Zhengwei, ZHAO Bo, MAO Yuqing

(School of Biological and Food Engineering, Suzhou University, Suzhou, Anhui 234000, China)

Abstract: The in vitro model of oxidative stress injury was established by glutamate-induced PC12 cell injury, and the protective effect of *Grifola frondosa* polysaccharide on cell injury was investigated. The experiment was divided into a model group (glutamic acid 15 mmol/L), a treatment group (*Grifola frondosa* polysaccharide 25, 50, 100, 200 mg/L + glutamic acid 15 mmol/L), a control group (without glutamic acid and *Grifola frondosa* polysaccharide). Cell activity was detected by MTT assay. The activity of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase), anti-superoxide anion activity and malondialdehyde concentration were detected by microplate reader and detection kit. The level of reactive oxygen species (ROS) was detected by ROS Assay Kit. The apoptosis rate was detected by flow cytometry. The results showed that: (1) The cell survival rate and antioxidant enzyme activity in the treatment group were higher than those in the model group, and increased first and then decreased with the increase of *Grifola frondosa* polysaccharide concentration. The concentration of malondialdehyde was the opposite. (2) When the concentration of *Grifola frondosa* polysaccharide in the treatment group was 100 mg/L, the cell survival rate was the highest (80.27% ± 0.82%), the activities of catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and anti-superoxide anion were the highest (24.78 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$, 21.42 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$, 48.62 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$, 137.65 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively), and the concentration of malondialdehyde was the lowest (0.92 nmol/mL). Compared with the model group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). (3) When the mass concentration of *Grifola frondosa* polysaccharide in the treatment group was 100 mg/L

收稿日期:2023-02-08

基金项目:安徽省教育厅高校自然科学研究重点项目(KJ2021A1109);宿州学院宿州市埇桥区群富甜叶菊合作社专业合作实践教育基地(szy2023jyjf149)。

作者简介:李红侠(1971—),安徽宿州人,正高级实验师,硕士,主要研究方向:细胞生物学。

and 200 mg/L, with the increase of polysaccharide mass concentration, the level of ROS and apoptosis rate increased, but the level of ROS and apoptosis rate were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). *Grifola frondosa* polysaccharide can inhibit cell apoptosis, improve antioxidant enzyme activity and anti-superoxide anion activity, reduce the production of ROS and malondialdehyde, and has a certain protective effect on glutamate damage.

Keywords: *Grifola frondosa*; polysaccharide; neurons; antioxidant enzymes; reactive oxygen species; apoptosis

0 引言

灰树花 (*Grifola frondosa*) 又名贝叶多孔菌, 是一种食药兼用珍贵食用菌^[1]。分类学上属于担子菌非褶菌目, 多孔菌科, 其子实体具有一种特殊的香味和氧化损伤的保护作用^[2]。由于富含多种营养物质, 如氨基酸、多糖、维生素、矿物质、麦角甾醇等, 其营养价值较高^[3]。灰树花中含有的灰树花多糖具有多种生物活性和药理作用^[4], 目前研究较多的是抗肿瘤、抗病毒、抗氧化以及降血脂、血糖等^[5-11], 另外在防止胃黏膜受损, 抑菌等方面也有报道^[12], 但在神经保护方面的研究相对较少。

谷氨酸 (glutamic acid, Glu) 是中枢神经系统中主要的游离氨基酸, 也是重要的兴奋性神经递质^[13], 但释放过度时, 就会破坏细胞成分包括线粒体, 使活性氧含量升高或代谢出现障碍。Glu 大量集聚, 就会导致神经细胞退化、引起神经系统性疾病, 如缺血性中风, 帕金森病, 阿尔茨海默病等都与大脑中积累了高浓度的谷氨酸有关^[14-16]。随着环境污染, 生活压力的增大, 与神经细胞有关的一些中枢神经系统退行性疾病发病人数不断增多^[17-18]。基于此, 本试验拟通过 Glu 诱导大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤株 PC12 细胞, 建立神经细胞受损模型, 研究 Glu 损伤神经细胞后灰树花多糖对其受损的保护作用, 旨在为灰树花多糖对神经退行性疾病的治疗和应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

1) 材料: 灰树花多糖 (GFP) (纯度 95.352%, 宿州学院生物与食品工程学院食品实验室提供); PC12 细胞株 (购于中国科学院上海细胞生物学研究所)。

2) 主要试剂: DMEM (dulbecco's modified eagle medium) 高糖培养基 (南京化学试剂有限公司); MTT [3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐, 纯度 99%, Sigma 公司]; 谷氨酸 (纯度 99%, 阿拉丁试剂); 新生胎牛血清 (杭州四季青生物工程材料有限公司); 谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione per-

oxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA)、超氧阴离子及这几种物质的检测试剂盒 (南京建成生物公司); 活性氧检测试剂盒 (ROS Assay Kit) (上海碧云天生物技术有限公司); Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司)。

3) 主要仪器: 扫描酶标仪 (Sunrise, 奥地利 TECAN); CO₂ 培养箱 (Heracel, 美国 Kendro); 流式细胞仪 (C6, BD 公司); 倒置荧光显微镜 (Olympus CX-40, 日本 Olympus); 激光共聚焦显微镜 (FV1200+ IX83, 日本 Olympus)。

1.2 试验方法

1.2.1 Glu 损伤神经模型的建立

将对数生长期的 PC12 细胞 (以 2×10^4 个/mL 密度接种) 分为模型组 (谷氨酸处理组)、治疗组 (谷氨酸和灰树花多糖处理组)、对照组 (空白对照)。其中模型组的处理方式: 将细胞接种于培养器具, 待长满一层后, 加谷氨酸至终浓度 15 mmol/L^[19]; 治疗组的处理方式: 细胞加灰树花多糖培养 1 h 后 (灰树花多糖终质量浓度分别为 25、50、100、200 mg/L) 再加谷氨酸 (终浓度 15 mmol/L); 对照组既不加灰树花多糖也不加谷氨酸, 采用完全培养基进行培养。

1.2.2 灰树花多糖对神经细胞 Glu 损伤的细胞存活率

MTT 法测定神经细胞活性。按照设定好的试验分组, 取对数生长期细胞, 以 2×10^4 个/mL 密度, 将细胞培养于 96 孔板中, 每孔加入 100 μ L 细胞悬液, 置于培养箱中培养 (5% CO₂, 37 $^{\circ}$ C) 待细胞贴壁后, 治疗组每孔加入不同梯度的灰树花多糖 (药物) 100 μ L, 药物终质量浓度分别为 25、50、100、200 mg/L, 重复 6 次, 另设正常对照孔 (不加被测药) 和 Glu 组。培养 24 h, 取出细胞板, 每孔加入 15 μ L 5 mg/mL 的 MTT 溶液, 晃动混匀, 放回培养箱继续孵育, 4 h 后取板, 弃去培液, 每孔加入二甲亚砜 150 μ L, 平板摇床摇动 8~10 min。于酶标仪 490 nm 波长下测定 96 孔板每孔吸光度值, 计算细胞存活率 y 。细胞存活率 y

的计算公式如式(1)所示。

$$y = \frac{a}{b} \times 100\% \quad (1)$$

式中: a 为治疗组或模型组 A_{490} 处吸光度值; b 为对照组 A_{490} 处吸光度值。

1.2.3 灰树花多糖对 Glu 损伤神经细胞相关氧化指标的测定

分别测定对照组、模型组和治疗组细胞的 CAT、SOD、GSH-Px 活性、MDA 浓度和抗超氧阴离子的活力。取对数生长期细胞, 以 2×10^8 个/L 密度, 将细胞培养于 6 孔板中; 12 h 后, 按试验分组(分组方法同 1.2.2)给予不同处理; 24 h 后, 分别收集各组细胞液, 依照检测试剂盒的说明书操作, 酶标仪测定 OD 值, 计算各项指标值。

1.2.4 细胞内活性氧荧光强度的检测

将 PC12 细胞接种于共聚焦专用细胞培养皿中, 根据试验分组进行不同处理, 对照组、模型组、治疗组(根据 1.2.2 和 1.2.3 的结果, 灰树花多糖质量浓度分别为 100 和 200 mg/L 处理 1 h 后加谷氨酸, 至谷氨酸终浓度为 15 mmol/L), 3 次重复, 24 h 后, 弃去培养液, 采用性氧检测试剂盒检测 PC12 细胞内线粒体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平。加入终浓度为 10 μ mol/L 的活性氧荧光探针(DCFH-DA), 于 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱孵育 25 min 左右, 用不含血清的细胞培养液洗 3 遍后, 加入 1 mL DMEM 培养液, 于激光共聚焦显微镜在异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)的参数设置下, 采集荧光信号, 通过 Image J 软件进行平均荧光强度的半定量分析。

1.2.5 灰树花多糖对神经细胞 Glu 损伤细胞凋亡的影响

神经细胞 PC12 的凋亡经 Annexin V/PI 双染, 流式细胞仪检测。把生长至对数期的 PC12 细胞接种于 6 孔板(2×10^8 个/mL 细胞)中, 试验分组及处理同 1.2.4, 对照组加相同量的细胞培养基。培养结束后(24 h), 将细胞收集, 冷的磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)漂洗 2 次, 悬浮于 500 μ L Binding Buffer, 再加入 5 μ L Annexin V-FITC 和 5 μ L 碘化丙啶(PI), 轻吹打混匀, 室温避光反应 15 min, 上机检测。用 Flowjo7.6.1 (FACSCA2BUR, Becton Dickinson, USA) 软件进行数据分析及出图。

1.3 统计学分析

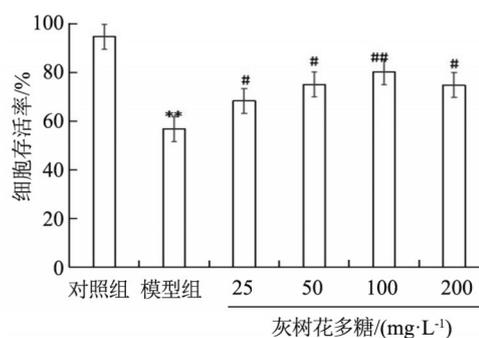
采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析, 计量数据表示为均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用单因素方差分析, 比较多组间差异, 用 t 检验进行组间比较; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有

高度统计学意义。

2 结果与分析

2.1 灰树花多糖对 PC12 细胞 Glu 损伤细胞活性的影响

MTT 法测定结果可知, 模型组和治疗组细胞存活率均低于对照组, 其中, 模型组细胞存活率最低, 为 $56.8\% \pm 0.78\%$; 不同质量浓度的灰树花多糖给药后, 细胞的存活率较模型组升高, 表明灰树花多糖能明显改善细胞损伤。灰树花多糖质量浓度为 25~100 mg/L 时, 随着多糖质量浓度的增加, 细胞存活率呈浓度依赖性, 特别是多糖质量浓度为 100 mg/L 时, 细胞的存活率最高, 为 $80.27\% \pm 0.82\%$; 当多糖质量浓度增加到 200 mg/L 时, 细胞生存率下降, 但显著高于模型组($P < 0.05$), 具体如图 1 所示。



注: ** 表示与对照组相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$); # 表示与模型组(谷氨酸组)相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); ## 表示与模型组(谷氨酸组)相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$)。

图1 灰树花多糖对PC12细胞存活率的影响

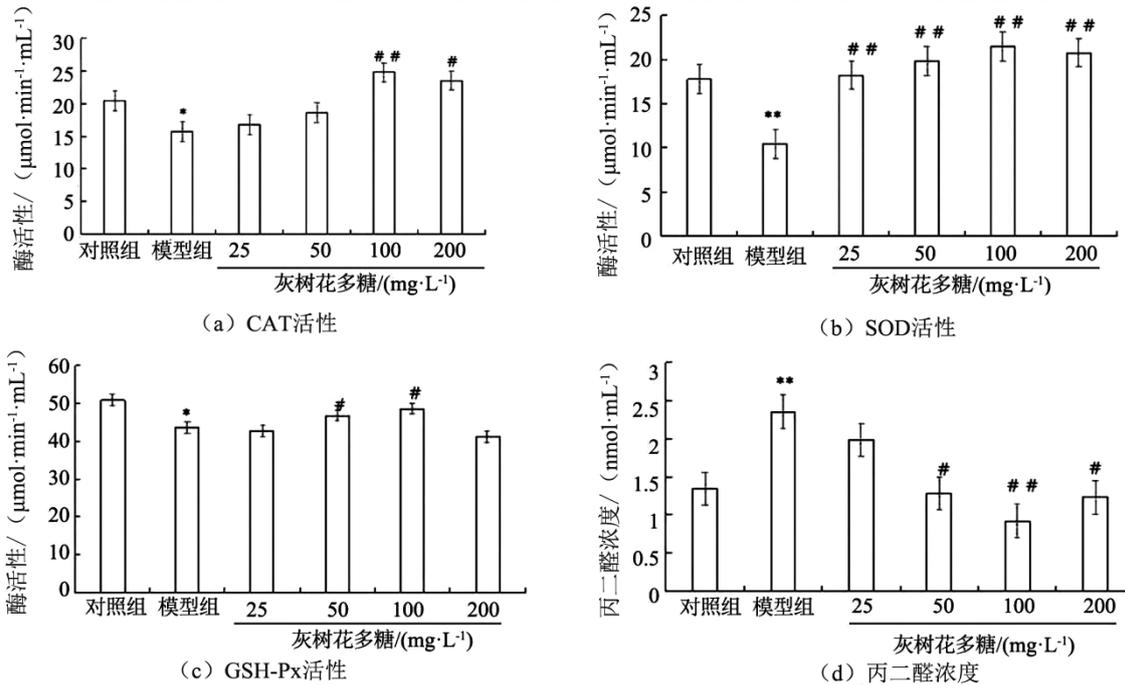
2.2 灰树花多糖对 Glu 损伤 PC12 细胞 CAT、SOD、GSH-Px 酶活性和 MDA 浓度的影响

2.2.1 灰树花多糖对 CAT 酶活性影响

模型组 CAT 活性明显低于对照组($P < 0.05$); 不同质量浓度灰树花多糖治疗后, CAT 活性均高于模型组, 且随着灰树花多糖质量浓度的增加呈现先上升后下降的趋势; 当灰树花多糖质量浓度达到 100 mg/L 时, CAT 活性最高, 且与模型组相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$); 当灰树花多糖质量浓度升至 200 mg/L 时, CAT 活性开始下降(图 2(a))。

2.2.2 灰树花多糖对 SOD 酶活性影响

模型组 SOD 酶活性与对照组相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$); 加入不同质量浓度灰树花多糖治疗后, SOD 酶活性均明显高于模型组($P < 0.01$), 且呈现先上升后下降的趋势, 在灰树花多糖



注: *表示与对照组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); **表示与对照组相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$); #表示与模型组(谷氨酸组)相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); ##表示与模型组(谷氨酸组)相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$)。

图2 灰树花多糖对PC12细胞CAT活性(a)、SOD活性(b)、GSH-Px活性(c)、丙二醛浓度(d)的影响

质量浓度为100 mg/L时达到最大(图2(b))。

2.2.3 灰树花多糖对GSH-Px酶活性影响

无论是模型组还是治疗组, 其GSH-Px酶活性都低于对照组, 其中, 模型组GSH-Px酶活性明显低于对照组($P < 0.05$); 在治疗组中, 随着灰树花多糖质量浓度的增加, GSH-Px酶活性呈现先上升后下降的趋势, 在灰树花多糖质量浓度为100 mg/L时达到最大(图2(c))。

2.3 灰树花多糖对MDA浓度影响

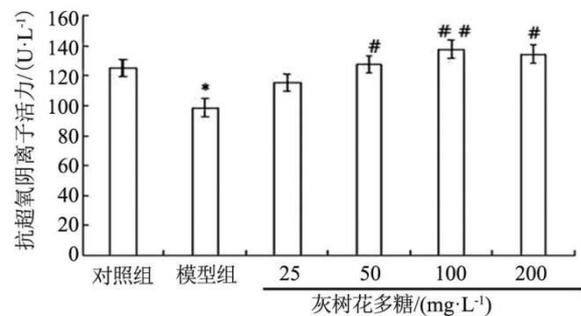
模型组MDA浓度明显高于对照组($P < 0.01$)。治疗组MDA浓度均低于模型组, 且随着灰树花多糖质量浓度的增加, MDA浓度呈现先下降后上升的趋势, 当灰树花多糖质量浓度为100 mg/L时, MDA浓度最低(图2(d))。

2.4 灰树花多糖对抗超氧阴离子的影响

模型组抗超氧阴离子的能力明显低于对照组($P < 0.05$), 治疗组抗超氧阴离子的能力均高于模型组, 且随着灰树花多糖质量浓度的增加呈现先上升后下降的趋势; 当灰树花多糖质量浓度为100 mg/L时, 抗超氧阴离子的能力最强, 且与模型组相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$)(图3)。

2.5 灰树花多糖对PC12细胞线粒体内ROS释放的影响

各组细胞内ROS的荧光图($\times 400$)如图4所示,



注: *表示与对照组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); #表示与模型组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); ##表示与模型组相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$)。

图3 灰树花多糖对PC12细胞抗超氧阴离子的影响

相对荧光强度如图5所示。模型组细胞内ROS的相对荧光强度明显高于对照组($P < 0.01$); 当加入灰树花多糖(100、200 mg/L)保护后, 细胞内ROS的相对荧光强度低于模型组, 且随着灰树花多糖质量浓度的增加呈下降趋势; 当灰树花多糖质量浓度为200 mg/L时, ROS的相对荧光强度与模型组相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$)(图5)。

2.6 细胞凋亡的变化

模型组的细胞凋亡率明显高于对照组; 治疗组(灰树花多糖质量浓度为100、200 mg/L)的细胞凋亡率明显低于模型组, 但高于对照组, 且随着灰树花

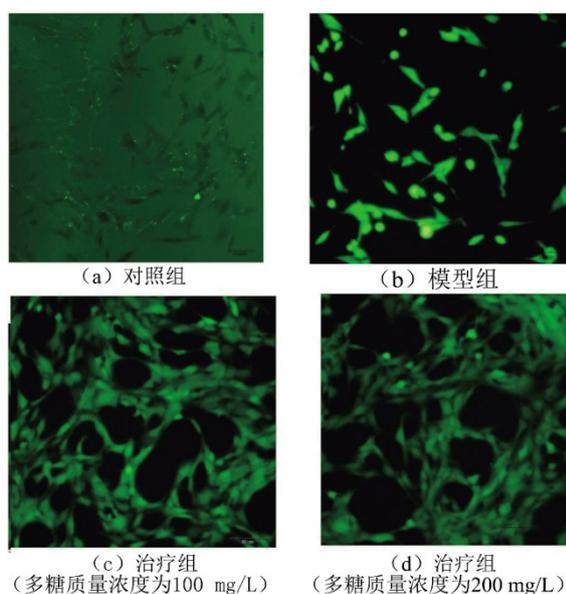
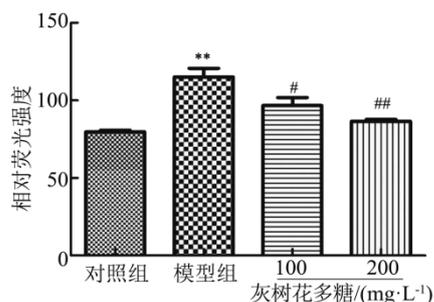


图 4 对照组、模型组、治疗组细胞内 ROS 的荧光图
($\times 400$)



注: **表示与对照组相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.05$); #表示与模型组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); ##表示与模型组相比, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$)。

图 5 对照组、模型组、治疗组细胞内 ROS 的相对荧光强度

多糖质量浓度的增加, 其细胞凋亡率呈现上升的趋势(图 6)。当灰树花多糖浓度为 100 mg/L 时, 细胞早期凋亡下降到 0.63% , 晚期凋亡下降到 8.92% 。

3 讨论与结论

Glu 是中枢神经系统中含量最高的一种神经递质, Glu 和胱氨酸经二者之比转运体进行转运, 在一些神经元退行性疾病中, 像阿尔茨海默病(能引起痴呆)、帕金森病、肌萎缩性(脊髓)侧索硬化等, 起着极其重要作用的都是 Glu。比如一些急性细胞损伤(缺血、缺氧、缺糖、创伤、昏厥等), 都能导致 Glu

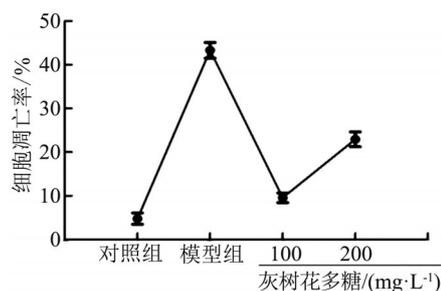


图 6 灰树花多糖对 PC12 细胞凋亡的影响

大量释放, 致使神经元受到损伤^[20-21]。Glu 参与神经元退行性疾病的发病机制与氧自由基的关系密切。

PC12 细胞的形态、结构和功能, 与神经元极其相似, 被广泛用于多种神经系统疾病研究之中。本研究利用 Glu 诱导 PC12 细胞损伤, 以观察灰树花多糖抗 Glu 诱导对神经细胞损伤的保护作用。当 Glu 损伤神经细胞后, 细胞生存率明显下降。有研究表明, 食用菌多糖能不同程度增加血清中 SOD 活性, 降低 MDA 浓度, 有较好的抗衰老作用^[22]。本试验获得了相同的结论。在本研究中, 利用 Glu 诱导 PC12 细胞凋亡, Glu 组中, 细胞液的 MDA 浓度显著下降, 且与对照组相比差异有统计生物学意义($P < 0.05$)。治疗组中, SOD、CAT 及 GSH-PX 酶活性均高于对照(谷氨酸组), 差异有统计学意义($P < 0.05$)或高度统计学意义($P < 0.01$), 抗超氧阴离子的能力随着多糖质量浓度增加($25 \sim 100 \text{ mg/L}$ 时), 逐渐升高, 当多糖质量浓度为 200 mg/L 时, 抗超氧阴离子的能力呈下降趋势, 无统计学意义, 但仍高于谷氨酸组。在正常情况下, 神经组织内活性氧(ROS)的产生和清除保持动态平衡, 但当环境因素改变或病变的情况下, 过量的谷氨酸通过细胞内反应性的积累, 损害神经元细胞, 将引起活性氧(ROS)产生过多, 进而打破了该动态平衡, 将会触发神经细胞的兴奋性毒性导致神经元细胞凋亡^[23-24]。灰树花多糖质量浓度为 $100 \sim 200 \text{ mg/L}$ 时, 能降低 Glu 引起的 PC12 细胞损伤的活性氧的生成($P < 0.05$)。经 Annexin V/PI 双染色, 通过流式细胞术检测可知治疗组的细胞凋亡率明显低于模型组, 并表现一定的量效关系。通过本试验研究表明, 灰树花多糖可能作为一种氧化保护剂, 能够对神经元细胞氧化损伤起到保护作用。

参考文献:

- [1] 王贺祥, 刘庆红. 食用菌栽培学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2016: 208.
- [2] MENG M, GUO M Z, FENG C C, et al. A water-soluble polysaccharides from Grifola Frondosa fruiting body protects against

- immunosuppression in cyclophosphamide-induced mice via JAK2/STAT3/SOCS signal transduction pathway [J]. *Food Function*, 2019, 10(8):4998–5007.
- [3] WANG X C, ZHU G Q. Study on protective effect of salvianolic acid B on glutamate-induced excitotoxicity in pheochromocytoma PC12 cells[J]. *Chinese Journal of traditional Chinese Medicine*, 2012, 37(3):353–357.
- [4] LI L, GUO W L, ZHANG W. Grifola frondosa polysaccharides ameliorate lipid metabolic disorders and gut microbiota dysbiosis in high-fat diet fed rats[J]. *Food Function*, 2019, 10(5):2560–2572.
- [5] 张文岭, 赵飞飞, 张兆波, 等. 灰树花多糖对乳腺癌细胞 MCF-7 的凋亡作用[J]. *菌物学报*, 2022, 41(12):2048–2056.
- [6] 陈沛, 刘会平, 孙娜新, 等. 灰树花多糖的分离纯化及其体外抗肿瘤活性[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(6):107–114.
- [7] 杜一峰, 郑浩, 刘进, 等. 灰树花多糖对 TNF- α /IFN- γ 诱导的 HaCaT 细胞炎症因子分泌的影响[J]. *中国麻风皮肤病杂志*, 2018, 34(7):387–390.
- [8] JIANG T, WANG L, MA A J, et al. The hypoglycemic and renal protective effects of Grifola frondosa polysaccharides in early diabetic nephropathy[J]. *Food Biochem*, 2020, 44:13515–22.
- [9] 肖建勇, 陈智超, 朱育娴, 等. 不同灰树花多糖提取及其体外抗氧化活性研究[J]. *食品工业*, 2022, 43(8):59–63.
- [10] GUO W L, DENG J C, PAN Y Y, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic activities of Grifola frondosa polysaccharides and their relationships with the modulation of intestinal microflora in diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 153:1231–1240.
- [11] BIE N N, HAN L R, WANG Y T, et al. A polysaccharide from *Grifola frondosa* fruit body induces HT-29 cells apoptosis by PI3K/AKT-MAPKs and NF- κ B-pathway[J]. *Biological Macromolecules*, 2020, 147:79–88.
- [12] 张冰茹, 邬雨季, 刘维明, 等. 灰树花多糖的制备及药理活性的研究进展[J]. *食药菌*, 2019, 27(2):99–105.
- [13] MCCUTCHEON R A, KRISTA J H, HOWES O D. Dopamine and glutamate in schizophrenia: biology, symptoms and treatment[J]. *World Psychiatry*, 2020, 19:15–33.
- [14] FRICKER M, TOLKOVSKY A M, BORUTAITE V, et al. Neuronal cell death[J]. *American Physiological Society*, 2018, 98(2):813–880.
- [15] HOLLVILLE E, ROMERO S E, DESHMUKH M. Apoptotic cell death regulation in neurons[J]. *Federation of European Biochemical Societies*, 2019, 286(17):3276–3298.
- [16] WANG M, HIDEKI H, HORINOKITA I, et al. Neuroprotective effects of Senkyunolide I against glutamate-induced cells death by attenuating JNK/caspase-3 activation and apoptosis[J]. *Biomed Pharmacoth*, 2021, 140:111696–111704.
- [17] 熊浙徽, 张惠惠, 张自清, 等. 白杨素衍生物通过抑制细胞凋亡保护谷氨酸诱导的 HT22 细胞损伤[J]. *凯里学院学报*, 2021, 39(3):73–78.
- [18] YANG C S, CHIU S C, LIU P Y, et al. Gastrodin alleviates seizure severity and neuronal excitotoxicities in the rat lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy via enhancing GABAergic transmission [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 269:113751–11361.
- [19] 吴长昊, 李红侠, 王静, 等. 白杨素衍生物通过抑制细胞凋亡保护谷氨酸诱导的神经细胞的损伤[J]. *佳木斯大学学报(自然科学版)*, 2021, 39(1):102–107.
- [20] 张宗启, 吴天祥, 刘力萍. 灰树花多糖结构特点及其生物活性研究进展[J]. *中国酿造*, 2018, 37(5):10–16.
- [21] 侯晓婷, 李玉珠, 曾常茜. Notch 信号通路神经退行性疾病[J]. *中国医药指南*, 2020, 18(12):33–34.
- [22] 高贵珍, 汪俊博, 姜芳, 等. 硫酸化茯苓多糖对 MPTP 诱导帕金森小鼠的神经保护作用研究[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(12):1699–1704.
- [23] 武海云, 蒋根灵, 李庆林. 天麻素通过抑制细胞凋亡保护谷氨酸诱导的 PC12 细胞损伤[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2012, 17(12):1361–1367.
- [24] LEE D, CHOI H G, HWANG J H, et al. Neuroprotective effect of tricyclic pyridine alkaloids from *Fusarium lateritium* SSF2, against glutamate-induced oxidative stress and apoptosis in the HT22 hippocampal neuronal cell line[J]. *Antioxidants*, 2020, 9:1115–1130.