◇ 基础研究 ◇

http://www.cjcpt.com
2026 Sep; 31(9): 1153-1161

天麻素通过调控 PI3K 信号通路并降低活性氧水平减轻 6-羟基多巴胺诱导的 PC12 细胞凋亡

张鑫宇[1]，温绍文[1]，赵　斐[2]，吴丽丽[1]，张灵璐[1]，房泽海[2]，刘红杰[1]

[1]暨南大学中医学院，广州 510632，广东；

[2]淄博职业技术大学护理学院，淄博 255300，山东

摘要　**目的：**探讨天麻及其主要活性成分天麻素对帕金森病的潜在治疗机制，重点分析其在细胞凋亡、氧化应激及磷脂酰肌醇-3-激酶（PI3K）/RAC 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶（Akt）/丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 mTOR（mTOR）信号通路中的作用。**方法：**采用 6-羟基多巴胺（6-OHDA）诱导的 PC12 细胞损伤模型，通过体外实验评估天麻素对细胞凋亡、细胞内活性氧水平及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白表达的影响。**结果：**实验结果表明，天麻素可显著改善 6-OHDA 诱导的 PC12 细胞凋亡，并对 PI3K 信号通路活性产生调控作用。此外，天麻素能够有效降低细胞内活性氧水平，该作用不依赖于 PI3K 信号通路的调控。**结论：**天麻素可能通过降低细胞内活性氧水平并调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的活性，协同发挥神经保护作用，从而减轻 6-OHDA 诱导的细胞凋亡，为其在帕金森病防治中的应用提供实验依据。

关键词　天麻；天麻素；PI3K/Akt/mTOR 信号通路；细胞凋亡

中图分类号：R285.5；R742.5；R965.2

文献标志码：A

文 章 编 号：1009-2501(2026)09-1153-09

doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2026.09.001

帕金森病（Parkinson's disease，PD）是全球最常见的神经退行性疾病之一，其发病率随着年龄的增长而稳步上升[1]。根据 2016 年全球疾病负担研究，我国 PD 的患病率约占全球 PD 人口的 23%[2]。随着我国人口老龄化的持续加剧，预计到 2030 年，我国的 PD 的患病率约占全球 PD 负担的 60%。然而，尽管 PD 的流行病学负担日益加重，其发病机制及潜在病理过程仍未得到完全阐明。

PD 的主要神经病理学特征是中脑黑质致密部（substantia nigra pars compacta，SNpc）区域内的多巴胺（dopamine，DA）神经元的退行性死亡[3]。目前普遍认为，PD 的发生发展与线粒体功能障碍密切相关[4-6]，其中氧化应激[7-8]、细胞凋亡[9]被视为关键病理环节。研究发现依赖活性氧（reactive oxygen species，ROS）生成的氧化应激可能通过诱导多巴胺能神经元凋亡，进而影响多巴胺的合成与传递[10-11]。然而，ROS 依赖性氧化应激在神经元凋亡中的具体作用机制仍需进一步探讨。

在临床治疗方面，PD 目前仍以对症治疗为主，主要依赖多巴胺能替代疗法，尤其是左旋多巴的应用。然而，长期使用左旋多巴常伴随疗效逐渐减弱及不良反应发生率增加等问题[12]。因此，亟需探索能够减轻左旋多巴副作用的联合治疗方案或开发新的靶向 PD 的治疗策略。

近年来，中药因其多成分、多靶点协同作用的特点，在神经退行性疾病的防治研究中受到广泛关注。大量临床与基础研究表明，中医药在改善 PD 症状及延缓疾病进展方面具有一定疗效[13-14]。在中医学中，PD 被认为属于“颤证”范畴，其主要临床表现为静止性震颤[15]。天麻为兰科植物天麻（*Gastrodia elata* Blume）的干燥块茎，历来用于治疗眩晕、震颤等神经系统相关疾病。中医认为，天麻具有息风止痉、平抑肝阳、通络活血等功效，因此被认为具有干预 PD 的潜在价值。现代药理学研究表明，天麻的主要活性成分包括天麻素（gastrodin，GSD）、4-羟基苄基醇及香兰素等[16-17]，

2025-08-15 收稿　2026-01-20 修回

国家自然科学基金面上项目（82074306）；第五批全国中医临床优秀人才研修项目（国中医药人教函[2022]239 号）

张鑫宇，博士在读，从事中医脑病学研究。

E-mail: yxjcsbt@163.com

刘红杰，通信作者，博士，副教授，主要从事中医脑病学研究。

E-mail: hongjie_liu@jnu.edu.cn

其中 GSD 的含量常作为天麻质量评价的关键指标[18]。近年来的研究显示，天麻及其活性成分可通过多靶点途径发挥神经保护、神经营养、抗炎及改善认知功能等药理作用[19]，其机制主要涉及抑制氧化应激反应、调节离子通道及相关信号通路等。值得注意的是，GSD 在体内吸收迅速、分布广泛，能够穿越血脑屏障[20]，且多项临床前研究已证实其在中枢神经系统疾病中的潜在治疗价值[21]。然而，GSD 治疗 PD 的具体作用机制仍未完全明确。

氧化应激及磷脂酰肌醇-3-激酶（PI3K）/RAC 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶（Akt）/丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 mTOR（mTOR）信号通路是调控细胞存活与凋亡的重要经典通路之一，其激活可通过调节下游凋亡相关因子抑制细胞凋亡[22]。研究发现，PD 患者 SNpc 区域中 Akt 及磷酸化 Akt 的表达水平显著降低，提示 Akt 在 PD 相关信号转导过程中发挥重要作用[23]。此外，课题组前期研究发现，GSD 可能是天麻发挥神经保护作用的关键活性成分，其作用过程可能与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的调控有关[24]。基于上述研究基础及 PD 相关病理学特征，本研究进一步将 PI3K/Akt/mTOR 信号通路作为重点研究对象，并在后续实验中对相关作用机制加以验证。

本研究采用 6-羟基多巴胺（6-hydroxydopamine，6-OHDA）诱导的 PC12 细胞损伤模型进行实验验证。通过对细胞进行活性成分预处理，检测细胞活力、凋亡水平、相关蛋白表达及 ROS 生成情况，从而系统评估 GSD 对 PD 细胞模型的保护作用及其可能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验药物 实验所用天麻素来自源叶公司，货号：S31318，规格：1 g/瓶、相对分子质量：286.28，分子式：$C_{13}H_{18}O_7$。将 GSD 用纯水配制为 100 μL/支分装标记后放置在−20℃ 冰箱。使用前提前放置在 4℃ 冰箱解冻。

1.2 细胞 大鼠嗜铬细胞瘤细胞系（PC12 细胞）购自江苏凯基生物科技公司（目录号 KG111）。

1.3 试剂 PI3K 兔多克隆抗体（4263S，CST，美国）、Akt 兔多克隆抗体（9272S，CST，美国）、mTOR 兔多克隆抗体（2983T，CST，美国）、凋亡调节因子 BAX（Bax）兔多克隆抗体（2272S，CST，美国）、凋亡调节因子 BCL-2（BCL-2）兔多克隆抗体（BA0412，Dr. Biotech，中国）、Caspase-3 兔多克隆抗体（ab49822，Abcam，英国）、过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG（as006，Asbio，中国）、6-OHDA（H4381，Sigma，美国）、MTT 检测盒（M5655，Sigma，美国）、LY294002（9901S，CST，美国）、N-乙酰-L-半胱氨酸（L-NAC）（A7250，Sigma，美国）、Annexin V-FITC/PI 双重染色凋亡检测试剂盒（KGA105，凯基生物，中国）、DCFH-DAROS 检测试剂盒（S0033S，碧云天，中国）。

1.4 细胞培养 复苏后的 PC12 细胞加入预先配制的 DMEM 完全培养基中以调整细胞密度，随后接种于培养瓶内，置于 37℃、饱和湿度、CO_2 体积分数为 5% 的恒温培养箱中培养。待细胞稳定培养约 2 周后，选取处于对数生长期的细胞用于后续实验。将细胞均匀消化、分散后接种于 96 孔板中，每孔设 6 个复孔。接种完成后，将培养板置于恒温培养箱中培养 24 h 以促进细胞黏附。细胞完全贴壁后，以不同浓度的 6-OHDA 替换原完全培养基，并继续培养 24 h，用于后续细胞活力、细胞凋亡及 GSD 干预相关检测。

1.5 细胞干预 将细胞分为以下 4 组：空白对照组、模型组、治疗组和治疗对照组。空白对照组不进行任何处理；模型组采用 60 μmol/L 6-OHDA 处理 24 h；治疗组先以 100 μmol/L GSD 预处理 1 h，随后加入 60 μmol/L 6-OHDA 共培养 24 h；治疗对照组以 100 μmol/L GSD 单独处理 24 h。采用 MTT 法检测各组细胞活力；采用 Annexin V-FITC/PI 双染色结合流式细胞术检测细胞凋亡率；采用荧光探针 DCFH-DA 结合流式细胞术检测细胞内 ROS 水平；并通过 Western blot 方法检测各组细胞中 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白的表达水平。

为进一步探讨 PI3K 信号通路在 GSD 作用中的参与机制，细胞另设以下 5 组：空白对照组、模型组、治疗组、阻断干预组和阻断对照组。空白对照组不进行任何处理；模型组采用 60 μmol/L 6-OHDA 处理 24 h；治疗组先以 100 μmol/L GSD 预处理 1 h，随后加入 60 μmol/L 6-OHDA 共培养 24 h，不加入 PI3K 抑制剂；阻断干预组先以 50 μmol/L PI3K 抑制剂 LY294002 预处理 1 h，再以 100 μmol/L GSD 预处理 1 h，最后加入 60 μmol/L 6-OHDA 培养 24 h；阻断对照组先以 50 μmol/L LY294002 预处理 1 h，随后加入 100 μmol/L GSD 培养 24 h，不加入 6-OHDA，用以观察抑制剂与 GSD 联合处理对细胞的影响。采用 Annexin V-FITC/PI 双染色结

合流式细胞术检测各组细胞凋亡率，并通过 Western blot 方法检测 PI3K 信号通路相关蛋白的表达变化。

为探讨 ROS 与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路之间的关系，细胞另设抗氧化干预实验。采用抗氧化剂 L-NAC 处理 PC12 细胞以降低细胞内 ROS 水平，随后通过 Western blot 方法检测 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白的表达水平。

1.6　MTT 法检测细胞活力　药物干预结束后，每孔加入 15 μL MTT 溶液，置于 CO_2 培养箱中孵育 4 h。孵育结束后，采用酶联免疫吸附测定（ELISA）读数仪在 490 nm 和 570 nm 波长下测定各孔吸光度值（OD 值）。扣除空白背景值后，分别计算各处理组与空白对照组的比值，用以反映不同组别细胞活力的变化情况。

1.7　Annexin V-PI 双染色法检测细胞凋亡　药物干预完成后，收集细胞并进行消化处理，PBS 洗涤 2 次，2 000 r/min 离心 5 min。弃上清后，将细胞重悬于 200 μL 结合缓冲液中，分别加入 2 μL Annexin V-FITC 和 2 μL PI，轻柔混匀。于室温避光孵育 5 ~ 15 min 后，使用流式细胞仪在 1 h内完成检测。检测时，激发波长设为 Ex=488 nm，发射波长设为 Em=530 nm。

1.8　蛋白提取和免疫印迹法　收集处理后的 PC12 细胞，用 PBS 洗涤后，根据细胞数量加入适量 RIPA 细胞裂解液，在冰上裂解 30 min，并于 4℃ 条件下震荡裂解 15 min。离心后取蛋白上清，采用 BCA 法构建标准曲线测定蛋白浓度。按比例将蛋白样品与上样缓冲液混合，煮沸 5 min 后分装并保存于−20℃。制备 10% SDS-PAGE 凝胶进行电泳，上样后以 80 V 电压电泳 30 min，随后以 120 V 电压电泳 1 h。电泳结束后，将蛋白转移至 PVDF 膜上，5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h，4℃ 孵育一抗过夜，随后于室温孵育相应二抗 2 h。采用凝胶成像系统进行显影，并使用 Image-Pro Plus 软件对蛋白条带进行灰度值分析。

1.9　流式细胞术检测细胞内 ROS 水平　取对数生长期 PC12 细胞接种于 24 孔板中，待细胞贴壁后更换为含不同药物的培养基继续培养。干预结束后，采用不含 EDTA 的胰蛋白酶消化细胞并收集。细胞以无血清 DMEM 培养基洗涤 2 次后，加入以无血清培养基稀释的 DCFH-DA 荧光探针（1:1 000），置于细胞培养箱中避光孵育 30 min。孵育结束后再次洗涤以去除未结合探针，采用流式细胞仪检测细胞内 ROS 水平。检测时，首先绘制前向散射（FSC）与侧向散射（SSC）散点图，对主要细胞群体进行门控以排除细胞碎片，并在 FITC 通道下采集 DCFH-DA 荧光信号

1.10　数据统计与分析　采用 SPSS 20.0 统计软件对实验数据进行分析。所有实验均至少重复 3 次，计量资料以均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结 果

2.1　GSD 可减轻 6-OHDA 诱导的细胞凋亡　课题组前期研究表明，GSD 可能通过调控 PI3K 信号通路磷酸化水平参与神经细胞凋亡过程[24]。在此基础上，本研究进一步采用 6-OHDA 诱导的 PC12 细胞模型进行机制验证。结果显示，在不同浓度 6-OHDA 处理 24 h 后，细胞活力逐渐下降（Fig.1A）。此外，6-OHDA 表现出浓度依赖性地抑制 PC12 细胞的生长。60 μmol/L 6-OHDA 组与 0 μmol/L 组相比，细胞活力的平均比值为 58.36%。因此，选择 60 μmol/L 6-OHDA 浓度进行后续建模。用不同浓度的 GSD 干预 PC12 细胞后，在 140 μmol/L 以下浓度时，GSD 对细胞活力无显著影响（$P>0.05$）（Fig.1B）。然而，与 6-OHDA 干预结合时，细胞活力随着 GSD 浓度的升高而增加。值得注意的是，当 GSD 浓度超过 100 μmol/L 时，细胞活力趋于稳定，与 100 μmol/L 时的细胞活力水平相当（Fig.1C）。

通过流式细胞术评估不同细胞组的凋亡率。结果显示，6-OHDA 显著诱导了细胞凋亡。此外，与 6-OHDA 组相比，6-OHDA+GSD 组的凋亡率显著降低（Fig.1D）。BCL-2、Bax 和 Caspase-3 作为细胞凋亡的经典标志物。通过免疫印迹分析检测各组细胞中以上三种蛋白的表达水平。结果表明（Fig.1F），与空白对照组相比，Bax 和 Caspase-3 的蛋白表达水平升高，而 BCL-2 的蛋白表达水平下降。此外，与 6-OHDA 组相比，在 6-OHDA+GSD 组中，Bax 和 Caspase-3 的蛋白表达水平降低，而 BCL-2 的蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。初步实验结果表明，GSD 预处理 PC12 细胞可以部分减轻 6-OHDA 诱导的凋亡。Fig.1G-I 展示了蛋白带强度的定量分析。

2.2　抑制 PI3K 可阻断 GSD 的治疗作用　由于观察到 GSD 对 6-OHDA 诱导的 PC12 细胞凋亡具有显著抑制作用，本研究进一步探讨 PI3K 信号

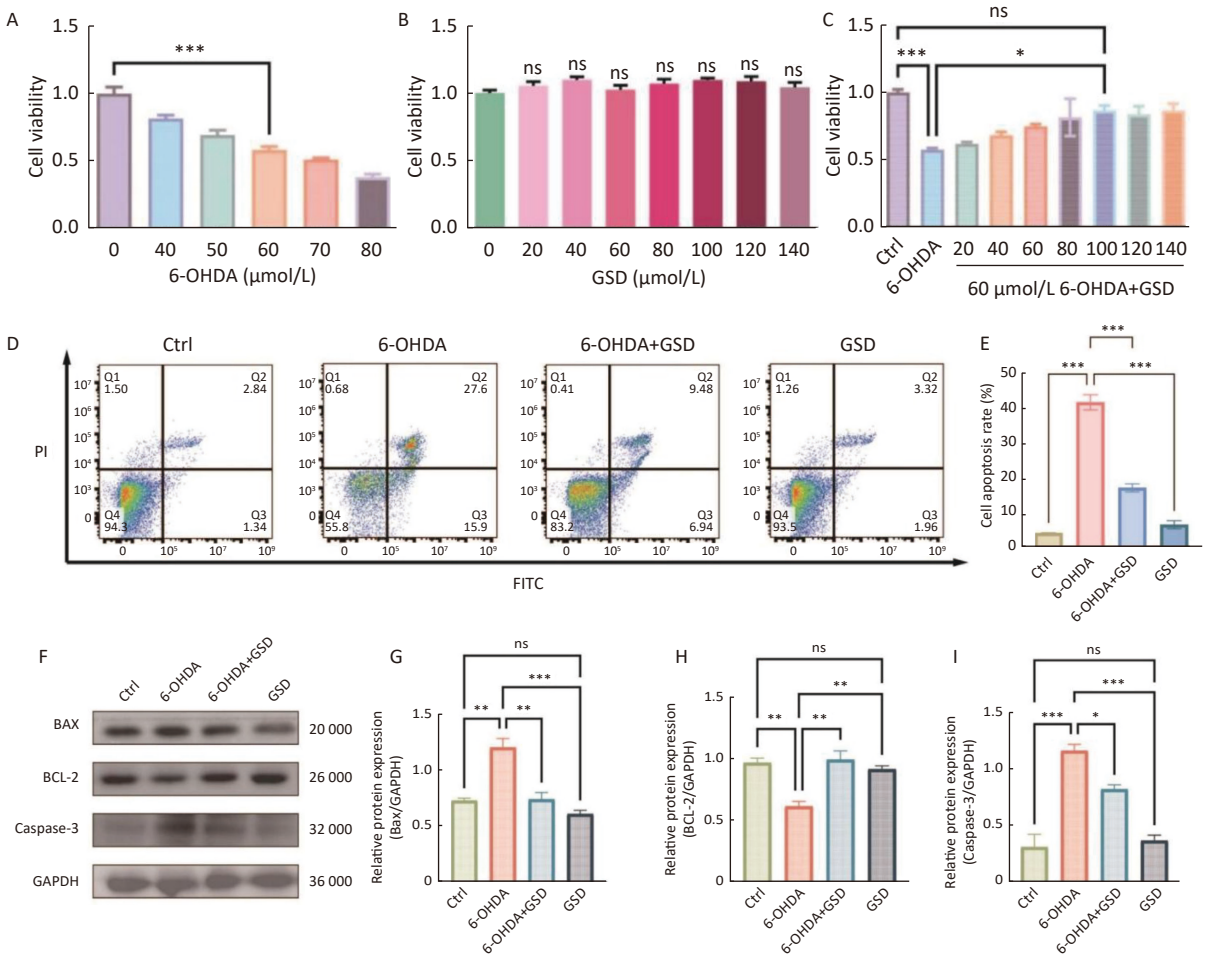


Fig.1 Effect of gastrodin on apoptosis of PC12 cells

A: cell viability of PC12 cells treated with different concentrations of 6-OHDA. B: cell viability of PC12 cells treated with different concentrations of gastrodin (GSD). C: effects of gastrodin at different concentrations on the viability of PC12 cells exposed to 60 μmol/L 6-OHDA. Cell viability in panels (A–C) was assessed using the MTT assay. D–E: flow cytometric analysis of apoptosis. F: Western blot analysis of Bax, BCL-2, and Caspase-3 protein expression in PC12 cells. G–I: quantitative analysis of Bax, BCL-2, and Caspase-3 protein levels. Protein bands were quantified by densitometric analysis and normalized to GAPDH. Data are presented as mean±SEM. For panels (A–C), n=5–6; for panels (F–I), n=3. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

通路在其中的作用。结果显示，6-OHDA+GSD 组的凋亡率显著低于 6-OHDA 组。此外，6-OHDA+LY294002+GSD 组的凋亡率相比 6-OHDA+GSD 组显著增加(Fig.2)，表明 LY294002 阻碍了 GSD 的抗凋亡作用。LY294002 和 GSD 联合处理未导致凋亡率与对照组相比有显著变化，提示 LY294002 本身并未引起明显的细胞凋亡。

免疫印迹分析显示，在 6-OHDA 诱导后，BCL-2 的蛋白表达水平下降，而 Bax 和 Caspase-3 的蛋白表达水平显著上升。GSD 逆转了 BCL-2、Bax 和 Caspase-3 的这些变化。然而，与 6-OHDA+GSD 组相比，6-OHDA+LY294002+GSD 组未能逆转凋亡蛋白的表达变化，表明 LY294002 能够阻断 GSD 对凋亡蛋白的调节作用(Fig.3)。

2.3 GSD 激活 PI3K 信号通路，防止细胞凋亡

免疫印迹结果显示，6-OHDA 组的 PI3K、Akt 和 mTOR 表达水平显著低于空白对照组。GSD 在 PC12 细胞模型中的处理则引起了 PI3K、Akt 和 mTOR 表达的升高。此外，当 LY294002 和 GSD 联合处理时，PI3K、Akt 和 mTOR 的表达水平并未出现显著下降(Fig.4A-D)。这些结果表明，GSD 通过激活 PI3K/Akt/mTOR 通路可能缓解了 6-OHDA 诱导的 PC12 细胞凋亡。

为探讨 GSD 抑制 6-OHDA 诱导 PC12 细胞凋亡的可能机制，进一步检测了各组细胞内 ROS 水平。结果显示，与空白对照组相比，6-OHDA 显著提高了 PC12 细胞内的 ROS 水平，这一点从 ROS 荧光强度的显著增加可以得到验证。经过

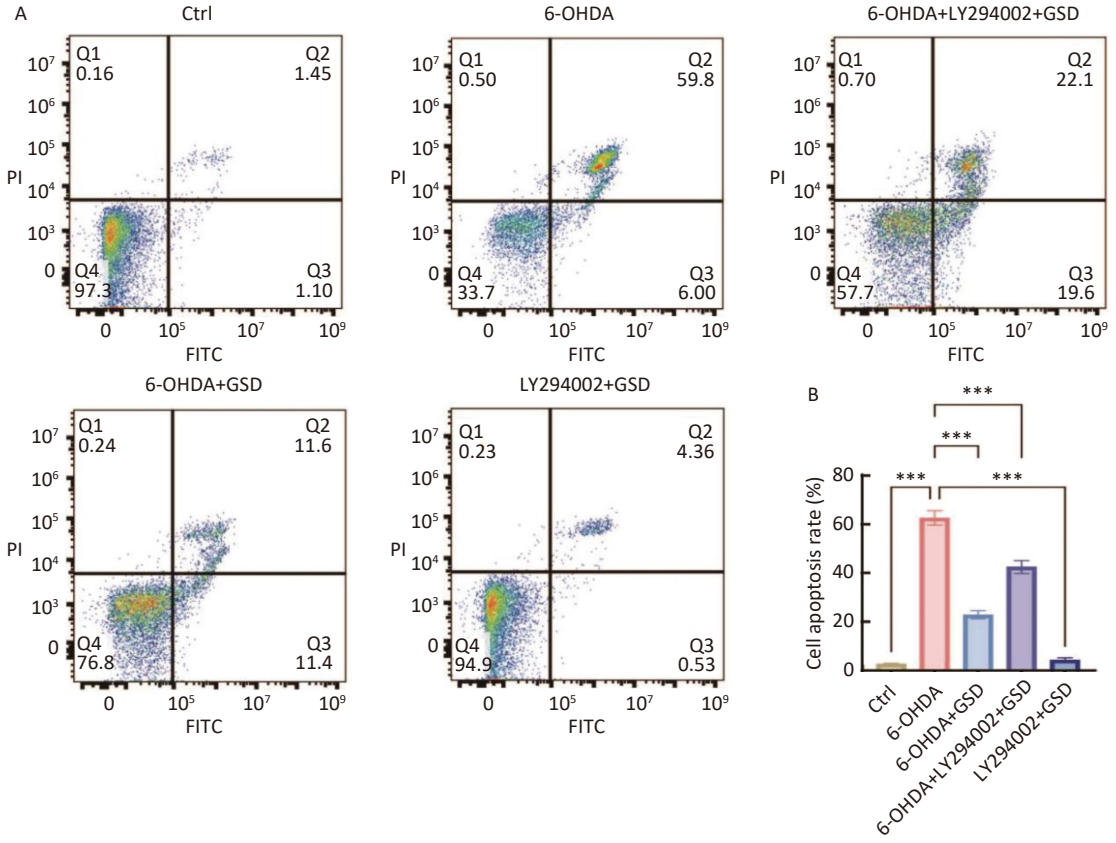


Fig.2　Effects of gastrodin on apoptosis of PC12 cells while adding LY294002

A–B: representative flow cytometric analysis of cell apoptosis. Data are presented as mean±SEM, n=3. ***P<0.001.

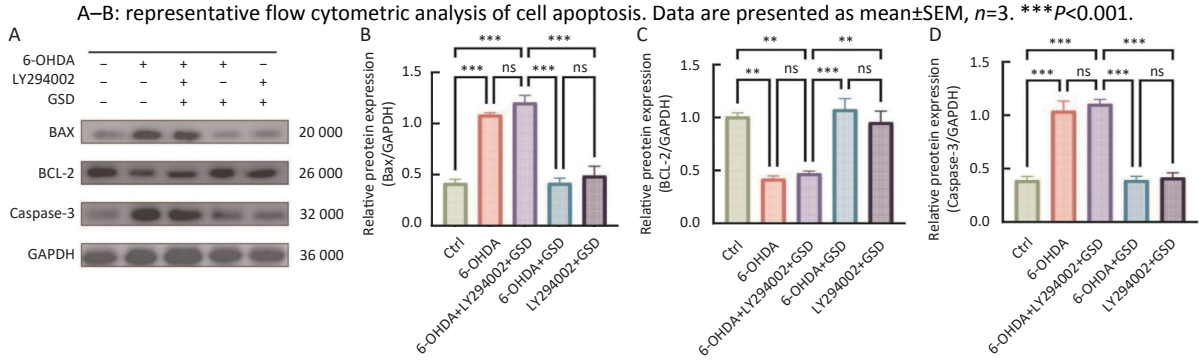


Fig.3　Effects of gastrodin on Bax, BCL-2 and Caspase-3 protein expression of PC12 cells while adding LY294002

A: Western blot analysis of Bax, BCL-2, and Caspase-3 protein expression in PC12 cells. B–D: quantitative analysis of Bax, BCL-2, and Caspase-3 protein levels. Protein bands were quantified by densitometric analysis and normalized to GAPDH. Data are presented as mean±SEM, n=3. **P<0.01, ***P<0.001.

GSD 干预后，6-OHDA 诱导的细胞 ROS 水平明显降低。值得注意的是，在 6-OHDA+GSD 组和 6-OHDA+LY294002+GSD 组之间，ROS 水平没有显著差异。这表明，通过 GSD 减少 6-OHDA 诱导的 ROS 升高可能不受 PI3K 信号通路的调控。该观察结果得到了 GSD 在细胞模型中有效降低 ROS 水平的支持，并且这一效应不受 PI3K 或 LY294002 的抑制。

2.4　GSD 通过抑制 ROS 激活 PI3K 信号通路　为进一步明确 ROS 与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路之间的关系，在去除细胞内 ROS 后检测了 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白的表达水平。免疫印迹分析显示，与 6-OHDA 组相比，6-OHDA+L-NAC 组在 L-NAC 预处理后 PI3K、Akt 和 mTOR 的表达水平显著增加（Fig.5A-D）。6-OHDA 诱导了细胞内 ROS 水平的升高，并激活了 PI3K/Akt/mTOR 通路，而这种效应可以通过添加抗氧化剂来对抗。结合 GSD 对 ROS 的 PI3K 非依赖性调控作用及其对 PI3K/Akt/mTOR 通路活性的影响，提示 ROS 可能位于该信号通路

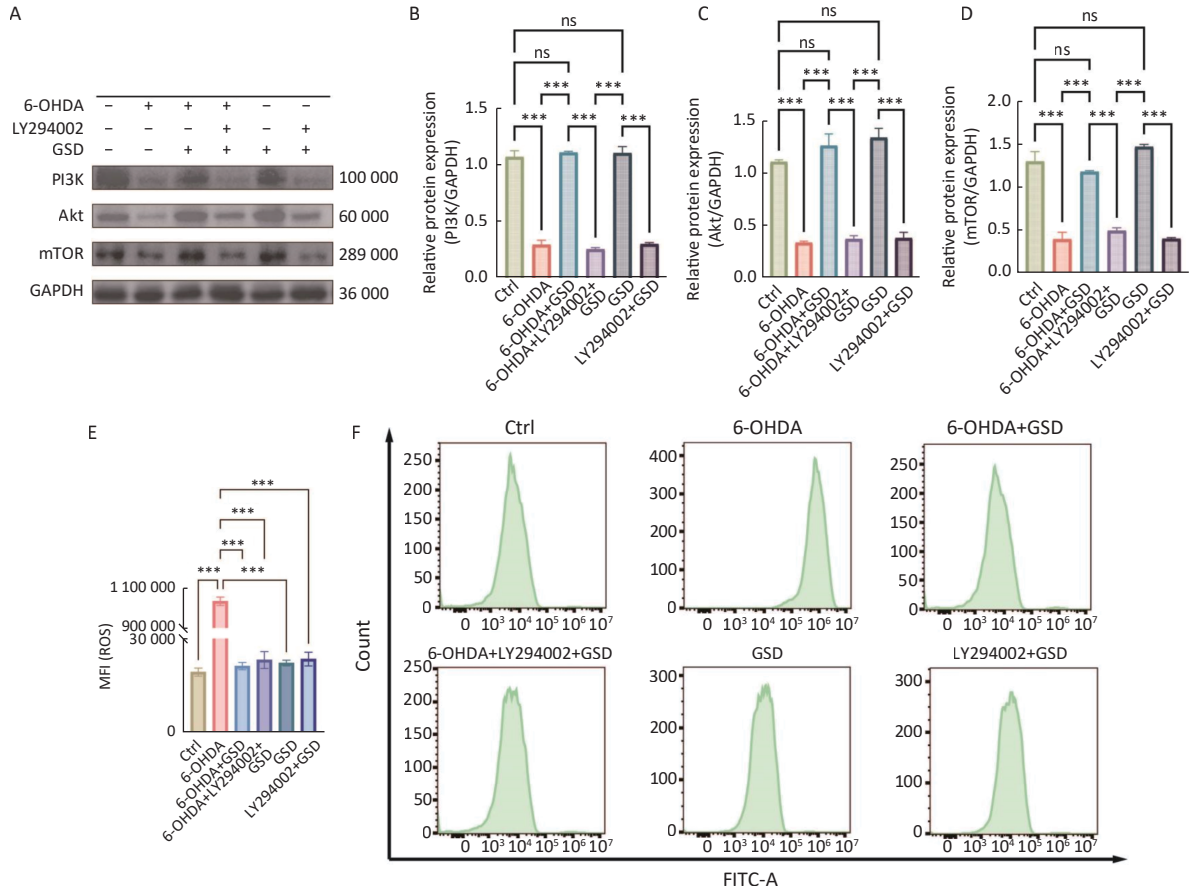


Fig.4 Effect of gastrodin on the protein expression of PI3K, Akt and mTOR

A: Western blot analysis of PI3K, Akt, and mTOR protein expression in PC12 cells. B–D: quantitative analysis of PI3K, Akt, and mTOR protein levels. Protein bands were quantified by densitometric analysis and normalized to GAPDH. E–F: representative flow cytometric fluorescence intensity profiles. Data are presented as mean±SEM, n=3. ***P<0.001.

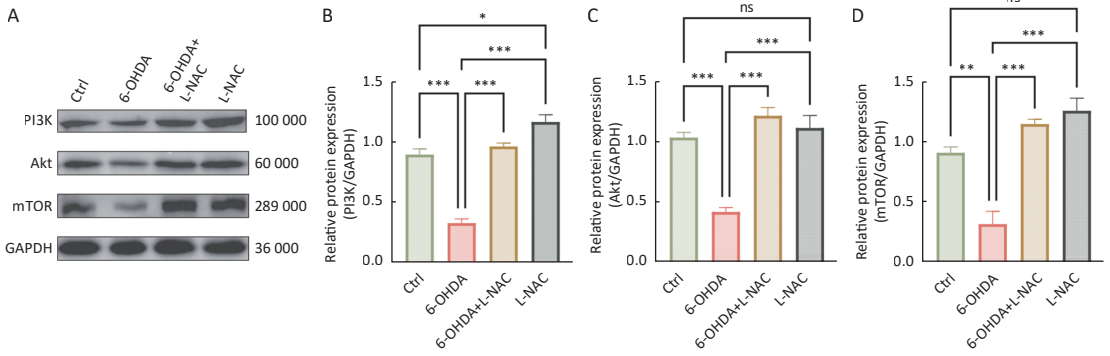


Fig.5 The level of ROS production under the intervention of gastrodin

A: Western blot analysis of PI3K, Akt, and mTOR protein expression in PC12 cells. B–D: quantitative analysis of PI3K, Akt, and mTOR protein levels. Protein bands were quantified by densitometric analysis and normalized to GAPDH. Data are presented as mean±SEM, n=3. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

的上游，并在 6-OHDA 诱导的细胞凋亡中发挥重要作用。

3 讨 论

PD 是目前最常见的慢性中枢神经系统疾病之一，且由于其病因尚未完全明确，导致该病的发病率和流行率呈稳步上升趋势。截至 2019 年，中国的 PD 患者约占全球总患者数的 33.37%，使其成为全球病例数最多的国家。一些学者预测，到 2030 年，中国 PD 患者的比例可能将达到全球总患者数的 57%[25]。

中药天麻在临床实践中常用于治疗 PD 等神

经系统疾病[26]。然而，天麻是一种复杂的化合物，其具体的药效成分及其作用机制尚不完全清楚。研究表明，天麻可能通过多种靶点和信号通路发挥其治疗 PD 的作用。研究表明，天麻的主要成分 GSD 可能通过调节细胞内的 ROS 水平诱导细胞凋亡，进而抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路，从而为治疗 PD 提供潜在的治疗途径。

GSD 对多种靶点显示出较高的亲和力。硫内酯、丁香酸、香草醇和原儿茶醛也与相关靶点具有较高的结合亲和力。具体而言，苏胆内酯在减少 HeLa 细胞 Aβ42 水平方面表现出一定作用，可能有助于改善认知功能[27]。丁香酸在大鼠模型中显示了减缓 PD 进展的能力[28]。香草醇对 PD 细胞模型具有保护作用[29]。原儿茶醛具有神经保护作用，由抗氧化应激反应和抵抗线粒体功能障碍介导[30]。GSD 作为一种酚类化合物，能够迅速通过肠道吸收并穿越血脑屏障[31]。在中枢神经系统退行性疾病的治疗中，GSD 可以通过抗炎反应保护神经细胞，抗氧化应激，并抑制细胞凋亡[20]。此外，GSD 具有可负担性和低毒性的优势[32]，使其成为治疗 PD 的潜在治疗方法[33]。然而，GSD 对抗 PD 的具体机制尚需进一步研究。

细胞凋亡是由基因调控的细胞死亡过程。在凋亡信号的激活下，凋亡相关基因被激活，促进细胞内多种促凋亡蛋白酶的合成，导致细胞变性、坏死并最终被巨噬细胞清除[34]。BCL-2 蛋白家族调控这一过程，包括促凋亡蛋白如 Bax、Bcl-Xs、Bad、Bid 与抗凋亡蛋白如 BCL-2、Bcl-XL、Bcl-W 等[35]。在 PD 的病理过程中，BCL-2 与 Bax 的相互作用是调节 ROS 水平和细胞凋亡的关键[36]。BCL-2 位于线粒体、内质网和核包膜中，这也是产生 ROS 的部位。它可以决定线粒体外膜中各种通道的开放程度。BCL-2 与 Bax 的比值可作为调节 ROS 和细胞凋亡的“可变电阻器”[37]。同时，在 PD 中，神经退行性变过程中凋亡通路的一个关键因素是 Caspase-3 的激活[35]。因此，检测细胞中 Caspase-3、Bax 和 BCL-2 的蛋白表达已成为研究细胞凋亡机制的常用方法。线粒体参与了细胞 ROS 的产生和细胞凋亡的诱导，线粒体损伤已被确定为 PD 的中心机制[38]。此外，多巴胺神经元的凋亡被认为是 PD 的一个主要病理特征[39]。因此，细胞凋亡在 PD 的发病机制中起着至关重要的作用，抑制多巴胺神经元的死亡是治疗 PD 的关键。本研究发现，6-OHDA 浓度依赖性地抑制了 PC12 细胞的生长，并诱导了细胞凋亡。经过 GSD 处理后，BCL-2 表达上调，Caspase-3 和 Bax 下调，细胞凋亡率显著降低，表明 GSD 对神经元具有保护作用。

PI3K/Akt/mTOR 信号通路是经典的细胞凋亡调控通路之一。该通路的激活能够调节细胞凋亡因子，抑制细胞死亡[40]。研究表明，PD 患者的黑质中 Akt 及其磷酸化形式的水平显著下降，表明 Akt 在 PD 信号转导中的重要作用[22]。mTOR 是神经发育、突触可塑性以及记忆储存等多项重要神经生物学过程中的关键调节因子[23]。PI3K/Akt/mTOR 通路的激活能够促进多巴胺能神经元的存活与生长，抑制神经元凋亡，从而防止 PD 的发生。此外，该信号通路还参与自噬的调节，提升神经元的生存能力[41]。本研究表明，GSD 可以通过降低细胞的凋亡率，增强 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白的表达。PI3K 抑制剂 LY294002 的使用则有效阻止了这些效果，表明 GSD 可能通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路发挥神经保护作用，而 PI3K 是 GSD 保护作用的一个靶点。

6-OHDA 能够引起 PC12 细胞内 ROS 水平的升高，ROS 来源于线粒体内膜的呼吸链，是细胞代谢过程中产生的副产物。ROS 的过度积累会导致突触可塑性障碍、神经元凋亡、神经毒性等问题[42]。PD 患者黑质中的 ROS 水平显著高于健康个体，ROS 的积累导致了多巴胺神经元的凋亡。此外，ROS 的过度积累可导致 Akt 失活[43]。本研究表明，GSD 能够降低 6-OHDA 诱导的 ROS 水平，而 LY294002 并不能抑制这一作用。通过 L-NAC 处理后，PI3K、Akt 和 mTOR 的表达水平显著上升，提示 ROS 可能位于 PI3K/Akt/mTOR 通路的上游。GSD 可能通过降低 ROS 水平，调节 PI3K/Akt/mTOR 通路，发挥神经保护作用。

综上所述，GSD 作为天麻的主要活性成分，能够通过降低细胞内的 ROS 水平来缓解 PD 的病理进程。ROS 水平的减少激活了 PI3K/Akt/mTOR 信号通路，从而抑制了 6-OHDA 诱导的 PC12 细胞凋亡。本研究存在缺乏体内实验等局限性，未来还需进一步探讨 GSD 的其他途径和成分的作用。

参考文献

[1] Abbas MM, Xu Z, Tan LCS. Epidemiology of Parkinson's disease-east versus west [J]. Mov Disord Clin Pract, 2018, 5(1): 14-28.

[2] Collaborators GN. Global, regional, and national bur-

den of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. Lancet Neurol, 2019, 18(5): 459-480.
[3] Narkiewicz J, Giachin G, Legname G. In vitro aggregation assays for the characterization of α-synuclein prion-like properties [J]. Prion, 2014, 8(1): 19-32.
[4] Winklhofer KF, Haass C. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1802(1): 29-44.
[5] Wright R. Mitochondrial dysfunction and Parkinson's disease [J]. Nat Neurosci, 2022, 25(1): 2.
[6] 刘娟, 李彦杰, 秦合伟, 等. 线粒体质量控制系统失调介导帕金森病的作用机制 [J]. 实用医学杂志, 2024, 40(11): 1479-1482.
[7] Meredith GE, Totterdell S, Potashkin JA, et al. Modeling PD pathogenesis in mice: advantages of a chronic MPTP protocol [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2008, 14 Suppl 2(Suppl 2): S112-S115.
[8] Kalyanaraman B, Cheng G, Hardy M. Gut microbiome, short-chain fatty acids, alpha-synuclein, neuroinflammation, and ROS/RNS: relevance to Parkinson's disease and therapeutic implications [J]. Redox Biol, 2024, 71: 103092.
[9] Schwienbacher C, Foco L, Picard A, et al. Plasma and white blood cells show different miRNA expression profiles in Parkinson's disease [J]. J Mol Neurosci, 2017, 62(2): 244-254.
[10] Poewe W, Seppi K, Tanner CM, et al. Parkinson disease [J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3: 17013.
[11] Guo QQ, Wang SS, Jiang XY, et al. Mitochondrial ROS triggers mitophagy through activating the DNA damage response signaling pathway [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2025, 122(40): e2502841122.
[12] Chou KL, Stacy M, Simuni T, et al. The spectrum of "off" in Parkinson's disease: What have we learned over 40 years ? [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2018, 51: 9-16.
[13] Zhang G, Xiong N, Zhang Z, et al. Effectiveness of traditional Chinese medicine as an adjunct therapy for Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis [J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0118498.
[14] 韩欣园, 刘翼骁, 肖依彤, 等. 中药多糖治疗帕金森病的研究进展 [J]. 中华神经医学杂志, 2025, 24(5): 524-31.
[15] Leite Silva ABR, Gonçalves De Oliveira RW, Diógenes GP, et al. Premotor, nonmotor and motor symptoms of Parkinson's disease: a new clinical state of the art [J]. Ageing Res Rev, 2023, 84: 101834.
[16] 姬之翼, 刘鸿高, 李杰庆, 等. 天麻化学成分、药理活性及质量标志物研究进展 [J]. 特产研究, 2025: 1-12.
[17] 中华人民共和国药典 2020 版 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
[18] 杨飞, 王信, 马传江, 等. 天麻加工炮制、成分分析与体内代谢研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(11): 2207-2215.
[19] Xia C, Zhou H, Xu X, et al. Identification and investigation of miRNAs from gastrodia elata blume and their potential function [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 542405.
[20] Dai Y, Ban W, Yang Z. Gastrodin, a promising natural small molecule for the treatment of central nervous system disorders, and its recent progress in synthesis, pharmacology and pharmacokinetics [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(17): 9540.
[21] He X, Chen X, Yang Y, et al. The role of gastrodin in the management of CNS-related diseases: underlying mechanisms to therapeutic perspectives [J]. Phytother Res, 2024, 38(11): 5107-5133.
[22] Luo S, Kang SS, Wang ZH, et al. Akt phosphorylates NQO1 and triggers its degradation, abolishing its antioxidative activities in Parkinson's disease [J]. J Neurosci, 2019, 39(37): 7291-7305.
[23] Payne JM, Haebich KM, Mitchell R, et al. Brain volumes in genetic syndromes associated with mTOR dysregulation: a systematic review and meta-analysis [J]. Mol Psychiatry, 2025, 30(4): 1676-1688.
[24] 张炅璐. 天麻活性成分治疗帕金森病作用机制的网络药理学预测及实验研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2021.
[25] Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, et al. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030 [J]. Neurology, 2007, 68(5): 384-386.
[26] Liu HJ, He TZ, Zhang JL, et al. [Systematic review and screening of basic Chinese herbs for traditional Chinese medicine compounds combined with levodopa medicine in treatment of Parkinson's disease] [J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2020, 45(24): 6043-6052.
[27] Chun YS, Kim J, Chung S, et al. Protective roles of monsonia angustifolia and its active compounds in experimental models of Alzheimer's disease [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(15): 3133-3140.
[28] Ogut E, Armagan K, Gül Z. The role of syringic acid as a neuroprotective agent for neurodegenerative disorders and future expectations [J]. Metab Brain Dis, 2022, 37(4): 859-880.
[29] Kim IS, Choi DK, Jung HJ. Neuroprotective effects of vanillyl alcohol in Gastrodia elata Blume through suppression of oxidative stress and anti-apoptotic activity in toxin-induced dopaminergic MN9D cells [J]. Molecules, 2011, 16(7): 5349-5361.
[30] Hu D, Qing G, Liu X, et al. A study and in vitro evaluation of the bioactive compounds of broad bean sprouts for the treatment of Parkinson's syndrome [J].

Molecules, 2024, 29(21): 5107.
[31] Xiao G, Tang R, Yang N, et al. Review on pharmacological effects of gastrodin [J]. Arch Pharm Res, 2023, 46(9/10): 744-770.
[32] Guo H, Li C, Zhao J, et al. Mechanism of gastrodin against neurotoxicity based on network pharmacology, molecular docking and experimental verification [J]. Biomed Pharmacother, 2024, 180: 117611.
[33] Zhan HD, Zhou HY, Sui YP, et al. The rhizome of Gastrodia elata Blume-An ethnopharmacological review [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 189: 361-385.
[34] Liao W, Dong A, Hafeez F, et al. Celastrol protected the MPTP-injected mice Parkinson's disease model via redox regulation of CDC37 [J]. Phytomedicine, 2025, 145: 157067.
[35] Yuan J, Ofengeim D. A guide to cell death pathways [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024, 25(5): 379-395.
[36] Czabotar PE, Garcia-saez AJ. Mechanisms of BCL-2 family proteins in mitochondrial apoptosis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023, 24(10): 732-748.
[37] Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(3): 175-193.
[38] Kaur S, Sehrawat A, Mastana SS, et al. Targeting calcium homeostasis and impaired inter-organelle crosstalk as a potential therapeutic approach in Parkinson's disease [J]. Life Sci, 2023, 330: 121995.
[39] Nixon RA. Autophagy-lysosomal-associated neuronal death in neurodegenerative disease [J]. Acta Neuropathol, 2024, 148(1): 42.
[40] Yu L, Wei J, Liu P. Attacking the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway for targeted therapeutic treatment in human cancer [J]. Semin Cancer Biol, 2022, 85: 69-94.
[41] Goyal A, Agrawal A, Verma A, et al. The PI3K-AKT pathway: a plausible therapeutic target in Parkinson's disease [J]. Exp Mol Pathol, 2023, 129: 104846.
[42] Yang S, Lian G. ROS and diseases: role in metabolism and energy supply [J]. Mol Cell Biochem, 2020, 467(1/2): 1-12.
[43] Song J, Wang Y, Yuan X, et al. Stretching magnitude-dependent inactivation of AKT by ROS led to enhanced p53 mitochondrial translocation and myoblast apoptosis [J]. Mol Biol Cell, 2019, 30(10): 1182-1197.

Gastrodin attenuates 6-hydroxydopamine-induced apoptosis in PC12 cells by modulating the PI3K signaling pathway and reducing reactive oxygen species levels

ZHANG Xinyu[1], WEN Shaowen[1], ZHAO Fei[2], WU Lili[1], ZHANG Jionglu[1], FANG Zehai[2], LIU Hongjie[1]

[1] School of Traditional Chinese Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China; [2] School of Nursing, Zibo Polytechnic University, Zibo 255300, Shandong, China

ABSTRACT **AIM**: To investigate the potential therapeutic mechanisms of *Gastrodia elata* and its main active component gastrodin (GSD) in Parkinson's disease (PD), focusing on apoptosis, oxidative stress, and the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. **METHODS**: A 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-induced PC12 cell damage model was used to evaluate the effects of GSD on cell apoptosis, intracellular reactive oxygen species (ROS) levels, and the expression of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway-related proteins *in vitro*. **RESULTS**: GSD significantly attenuated 6-OHDA-induced apoptosis in PC12 cells and modulated the activity of the PI3K signaling pathway. In addition, GSD effectively reduced intracellular ROS levels, and this effect was independent of PI3K pathway regulation. **CONCLUSION**: Gastrodin may exert neuroprotective effects by reducing intracellular ROS levels and modulating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway, thereby alleviating 6-OHDA-induced apoptosis in PC12 cells. These findings provide experimental evidence supporting the potential application of GSD in PD therapy.

KEYWORDS *Gastrodia elata* Blume; Gastrodin; PI3K/Akt/mTOR signaling pathway; cell apoptosis