

麝香酮对 H_2O_2 诱导人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用及机制研究

杜晨曦¹, 魏乐乐¹, 席俊丽², 权赫秀², 罗云^{1*}

¹江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室; ²江西中医药大学中医学院, 南昌 330004

摘要: 研究麝香酮对 H_2O_2 诱导的人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)氧化损伤的保护作用及机制。采用 MTS 法检测麝香酮对 HUVECs 细胞增殖活性的影响; 伊红染色法观察细胞形态变化; 绿色荧光探针测定细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平; 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)试剂盒检测 HUVECs 细胞内抗氧化酶活力; 流式细胞术检测细胞凋亡率; Western blot 分别检测剪切的半胱天冬酶-3(cleaved cysteine-aspartic protease 3, cleaved Caspase-3)、B 细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, BCL-2)及 B 细胞淋巴瘤 2 相关 X(BCL-2 associated X protein, BAX)蛋白的表达情况。结果显示麝香酮(0.9~9 $\mu\text{g/mL}$)对 HUVECs 细胞生长无任何影响, H_2O_2 诱导 HUVECs 细胞发生氧化损伤的最佳条件是 400 $\mu\text{mol/L}$ 作用 2 h, 与 H_2O_2 组比较, 麝香酮(1.125~4.5 $\mu\text{g/mL}$)可以抑制 H_2O_2 对 HUVECs 细胞形态的改变, 增加细胞成活率($P < 0.001$), 提高 SOD 和 CAT 活性($P < 0.001$, $P < 0.05$), 降低细胞凋亡率和 ROS 水平($P < 0.01$, $P < 0.001$), 使 BCL-2 蛋白表达升高($P < 0.01$), Cleaved Caspase-3 和 BAX 蛋白表达减少($P < 0.01$, $P < 0.01$)。结果表明, 麝香酮对 H_2O_2 诱导的 HUVECs 细胞损伤具有保护作用, 作用机制可能与清除 ROS、改善细胞内抗氧化酶活性、抑制细胞凋亡等有关。

关键词: 麝香酮; 人脐静脉内皮细胞; 氧化应激; 细胞凋亡

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-6880(2026)9-1980-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2026.9.012

CSTR: 32307.14.1001-6880.2026.9.012

Protective effect and mechanism of muscone on human umbilical vein endothelial cells induced by H_2O_2

DU Chen-xi¹, WEI Le-le¹, XI Jun-li², QUAN He-xiu², LUO Yun^{1*}

¹Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi

University of Chinese Medicine; ²School of Chinese Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: This study aims to investigate the protective effect and mechanism of muscone on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) induced by H_2O_2 . The impacts on HUVECs cell proliferation vitality were evaluated through MTS assay; The morphology of HUVECs was observed by eosin staining method; The intracellular reactive oxygen species (ROS) levels were detected by green fluorescent probes; Intracellular antioxidant enzyme activity in HUVECs was assessed by the superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) kits; flow cytometry was used to detect cell apoptosis rate; Western blot was used to detect the expression of Cleaved Caspase-3, B-cell lymphoma-2 (BCL-2), and BCL-2 associated X protein (BAX) proteins. The results indicated that muscone (0.9-9.0 $\mu\text{g/mL}$) had no effect on the growth of HUVECs. The optimal concentration of H_2O_2 for inducing oxidative damage in HUVECs was 400 $\mu\text{mol/L}$ for 2 hours. Compared with the H_2O_2 group, muscone (1.125-4.5 $\mu\text{g/mL}$) inhibited the morphological changes of HUVECs induced by H_2O_2 . Cell morphology was improved, cell viability was increased ($P < 0.001$), the activities of SOD and CAT were enhanced ($P < 0.001$, $P < 0.05$), and the apoptosis rate and ROS levels were decreased by muscone ($P < 0.01$, $P < 0.001$). Western blot showed that the protein expressions of BCL-2 in muscone group were higher ($P < 0.01$), while the expressions of Cleaved Caspase-3 and BAX were lower than that in H_2O_2 group

收稿日期: 2026-01-07 接受日期: 2026-03-31

基金项目: 国家自然科学基金(82160824)

* 通信作者 Tel: 86-791-87119027; E-mail: luoyunn@163.com

($P < 0.01$, $P < 0.01$). These findings suggested that muscone exhibited a protective effect against H_2O_2 -induced HUVECs damage, potentially through the mechanisms involving the clearance of ROS, improvement of intracellular antioxidant enzyme activity, and inhibition of apoptosis.

Key words: muscone; human umbilical vein endothelial cells; oxidative stress; apoptosis

心血管疾病已成为全球范围内威胁人类健康的主要公共卫生问题之一,其发病率与死亡率居高不下^[1]。血管内皮细胞作为血管壁的重要组成部分,在维持血管稳态和完整、调节血管张力以及抗血栓形成等方面发挥着关键作用^[2,3]。人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)常被用作研究血管内皮细胞功能的重要体外模型,当 HUVECs 受到氧化应激时,会引发一系列病理生理变化,这与心血管疾病的发生发展密切相关^[4]。 H_2O_2 常作为氧化应激诱导剂,易穿透细胞膜,生成高度毒性的羟自由基,诱导细胞氧化应激,破坏细胞内的氧化还原平衡,进而导致细胞凋亡、炎症反应等不良后果,被广泛应用于构建体外细胞损伤模型以模拟体内氧化应激相关的病理状态^[5]。因此,通过抑制氧化应激损伤保护 HUVECs 对治疗心血管疾病具有重要意义。

目前对心血管疾病的治疗,包括药物治疗、介入治疗、外科治疗等,其中药物治疗是基础,是最为重要和首选的方法,而中医药的发展源远流长,其独特的“多靶点、多途径、多成分”的作用机制,能够有效调节细胞的氧化应激,在防治心血管疾病方面具有显著的特色和优势^[6,7]。麝香是来自林麝、马麝、原麝等鹿科动物成体雄性腹部香囊中的干燥分泌物,具有开窍醒神、活血通经、消肿止痛等功效^[8]。麝香酮是麝香的主要活性成分,研究表明其具有显著的抗氧化作用,能够有效缓解心血管系统相关疾病的病情^[9,10]。课题组前期研究也证实麝香对 H_2O_2 诱导的 HUVECs 细胞氧化损伤具有保护作用^[11],然而,麝香成分复杂,主要成分麝香酮对 HUVECs 细胞的氧化损伤是否具有保护作用及其潜在机制尚未完全明确。因此,本研究旨在利用 H_2O_2 损伤 HUVECs 构建内皮细胞损伤模型,探讨麝香酮对 HUVECs 细胞氧化应激损伤的影响及其可能作用机制,有望为心血管疾病的防治提供新的科学依据。

1 材料与方法

1.1 细胞

HUVECs (批号: XSSK2024012901, 上海赛百慷生物技术股份有限公司)。

1.2 主要试剂与仪器

麝香酮(批号: 110719-202117, 纯度 > 98%, 中国药品食品检定研究院); ECM 内皮细胞培养基(批号: 1001, 美国 ScienCell 公司); 胎牛血清(批号: FSP500, 苏州依科赛生物科技股份有限公司); 乙酰半胱氨酸(*N*-acetylcysteine, NAC)(批号: A9165, 纯度 > 98%, 美国 MCE 公司); 30% H_2O_2 (批号: 1000764, 西陇科学股份有限公司); PBS 溶液、青霉素-链霉素溶液(100 ×)、胰蛋白酶、DMSO、RIPA 组织/细胞裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、伊红染料(批号: P1022、P1400、T8150、D8371、R0020、PC0020、G1100, 北京索莱宝科技有限公司); 4% 多聚甲醛(批号: PS0261, 赛默飞世尔科技公司); MTS 细胞增殖试剂盒(批号: G3582, 美国 Promega 公司); 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒(批号: A001-3、A007-1-1、E004-1-1, 南京建成生物公司); FITC-Annexin V/PI 细胞凋亡试剂盒(批号: 40302ES20, 苏州优逸兰迪生物科技有限公司); 剪切的半胱天冬酶-3(cleaved cysteine-aspartic protease 3, Cleaved Caspase-3)抗体(批号: 9664T, 美国 Cell Signaling Technology 公司); B 细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, BCL-2)抗体(批号: T40056S, 上海艾比玛特医药科技有限公司); B 细胞淋巴瘤 2 相关 X(BCL-2 associated X protein, BAX)抗体(批号: A7626, 武汉爱博泰克生物科技有限公司); 兔抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号: YM3029, 美国 Immunoway 公司); 鼠、兔二抗(批号: TA373082、TA373083, 美国 Origene 公司)。

3111 型细胞培养箱(赛默飞世尔科技公司); IX53 型倒置显微镜(奥林巴斯公司); 5804R 型高速冷冻离心机(德国艾本德股份公司); Varioskan Flash 型多功能酶标仪微孔板检测仪(赛默飞世尔科技公司); Attune NxT 型声波聚焦流式细胞仪(赛默飞世尔科技公司); Tanon EPS-200 型凝胶电泳仪(上海天能科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养、给药与分组

于 37 ℃、5% 浓度 CO₂、95% 空气饱和湿度条件的细胞培养箱中,用 ECM 完全培养基(含 93% ECM 培养基 + 5% 胎牛血清 + 1% 双抗 + 1% 内皮因子)对 HUVECs 进行培育,特性为贴壁生长。待细胞呈对数增长时期,密度达到 80% ~ 90% 时,用 PBS 洗涤细胞,含有 EDTA 的胰酶进行消化以 1:2 的比例传代。麝香酮溶解于 DMSO 中,给药组缓冲液中含 0.05% 的 DMSO,对照细胞组用等量的 DMSO 进行平行处理。

不同阶段的实验分组如下:(1)在麝香酮对 HUVECs 细胞活力影响与筛选麝香酮给药浓度实验中,将 HUVECs 细胞分为多组,正常对照组(control, Con;无任何处理)、模型组(H₂O₂组)、阳性对照组(1 000 μmol/L NAC 组 + H₂O₂)、给药组(麝香酮不同浓度 + H₂O₂,浓度范围为 0.9 ~ 9 μg/mL)。(2)在机制验证实验中,将 HUVECs 细胞分为 6 组,Con 组、模型组(H₂O₂组)、阳性对照组(1 000 μmol/L NAC + H₂O₂组)、给药组(麝香酮 1.125 μg/mL + H₂O₂、麝香酮 2.25 μg/mL + H₂O₂、麝香酮 4.5 μg/mL + H₂O₂)。

1.3.2 HUVECs 细胞存活率测定

采用 MTS 细胞增殖试剂盒测定细胞存活率。HUVECs 细胞于 96 孔板内生长,当细胞密度达到 90% 以上时,给药组进行预处理 1 h。吸掉上清,换用含 H₂O₂ 和 NAC 的药物培养液继续处理 2 h,弃上清液,PBS 洗涤一遍细胞,接着每孔加含 10% MTS 的培养液于 37 ℃培养箱孵育 2 h。取出震荡 5 min,选择 490 nm 波长,酶标仪测定光密度值。

1.3.3 HUVECs 细胞伊红染色

采用伊红染色观察细胞存活比例。HUVECs 细胞于 96 孔板内生长,细胞密度为 1 × 10⁴/孔,细胞给药处理同“1.3.2”,处理完成后,去除上清液,PBS 洗涤一遍细胞,4% 多聚甲醛固定细胞,5% 伊红染色液染色,PBS 洗后在倒置显微镜下观察。

1.3.4 HUVECs 细胞内 ROS 含量测定

采用荧光探针法检测细胞中 ROS 水平。HUVECs 细胞于 96 孔板内生长,细胞密度为 1 × 10⁴/孔,药物处理同“1.3.2”,给药 2 h 结束后,保留上清,每孔加入现配的 10% MTS,酶标仪波长 490 nm,测吸光度,记录数值计算存活率。用 PBS 清洗每个孔,收集细胞到 1.5 mL 离心管中,用 PBS 洗涤 2

次,1 000 r/min,5 min,吸净上清,用 1 mL PBS 重悬细胞,放置 1 μL 的 10 mM DCFH-DA 探针,37 ℃避光孵育 20 min 后(中途每隔 2 ~ 3 min 颠倒混匀一下),1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,用 PBS 洗涤 1 次,离心收集细胞沉淀,再次将细胞沉淀用 PBS 重悬,激发波长 488 nm,发射波长 525 nm 检测荧光值。荧光值/细胞存活率即为 ROS 水平。

1.3.5 SOD 活性和 CAT 活性的测定

采用比色法检测细胞的 SOD 和 CAT 水平。HUVECs 于 6 孔板内对数生长,培养密度达到 90% 以上时进行药液预处理 2 h,2 h 后换用含 H₂O₂ 的药液继续培养 2 h。收集每组待测细胞,裂解后 4 000 r/min 离心 10 min,取上清,用 BCA 法测定蛋白质浓度,严格按照测定试剂盒说明书依次加入检测试剂,酶标仪测定吸光度值,计算 SOD 和 CAT 活力水平。

1.3.6 细胞凋亡检测

流式细胞术采用 Annexin V/PI 法检测 HUVECs 细胞的凋亡率。HUVECs 细胞接种于 6 孔板内,细胞密度为 4 × 10⁵/孔,用不同浓度的麝香酮和 400 μmol/L H₂O₂ 处理细胞 2 h,收集各组上清液,PBS 充分洗涤细胞 1 次,用不含 EDTA 的胰酶消化各组细胞,加各组的上清液终止消化,1 000 r/min 离心 5 min 收集细胞沉淀,按照试剂盒说明书进行 Annexin V-FITC/PI 双染,流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.3.7 Western blot 检测凋亡相关蛋白 Cleaved Caspase-3、BAX、BCL-2 表达

弃上清,PBS 洗涤细胞,收集各组细胞,用含 1% PMSF 和 1% 磷酸蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液于冰上裂解 30 min,4 ℃、4 000 r/min 离心 10 min 保留上清总蛋白,用 BCA 蛋白定量试剂盒测定上清液的蛋白浓度,将 5 × loading buffer 与蛋白样品混匀后 100 ℃加热 5 min 变性,每孔等量上样 30 μg。经 SDS-PAGE 电泳后,转至 PVDF 膜,用 5% BSA 封闭液封闭 1 h,再用 1 × TBST 洗 3 次(每次 10 min),加入一抗 Cleaved Caspase-3 (1:1 000)、BAX (1:10 000)、BCL-2 (1:1 000)、GAPDH (1:3 000),4 ℃下孵育过夜,洗膜后,加入对应的二抗(1:5 000)室温孵育 1 h,再次洗膜后,采用 ECL 化学发光显色,化学发光成像系统获取图像,ImageJ 软件分析条带灰度值,以 GAPDH 为内参计算各指标相对表达量,蛋白相对表达量 = 目的蛋白灰度值/相应 GAPDH 蛋白灰度值。

1.3.8 统计学处理

本实验所得各组数据均用平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用统计软件 GraphPad 9.5.0 进行统计

学分析和绘图,多组间比较采用单因素方差分析,事后检验采用了 Tukey HSD 进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度麝香酮对 HUVECs 细胞活性的影响

为观察麝香酮对 HUVECs 细胞有无毒性作用,设置 5 个麝香酮浓度(0.9、1.125、2.25、4.5、9 $\mu\text{g/mL}$)和 3 个作用时间(1 h、2 h、4 h),采用 MTS 法检测各组细胞存活率,结果表明麝香酮在上述浓度与时间范围内,对 HUVECs 的生长无显著差异($P > 0.05$),说明麝香酮在该浓度与时间范围内具有较高的安全性,后续预给药选择 2 h 进行实验。

2.2 麝香酮对 H₂O₂ 损伤 HUVECs 细胞存活率的影响

为筛选氧化损伤模型制备的最佳 H₂O₂ 浓度和时间,设置 5 个 H₂O₂ 浓度(150、200、300、400、500 $\mu\text{mol/L}$)和 3 个作用时间(1、2、4 h),采用 MTS 法检测细胞存活率。结果如图 1 所示,随着 H₂O₂ 浓度

的增加,每个时间段的细胞存活率逐渐降低,并显示出浓度依赖性。与 Con 组相比,各 H₂O₂ 浓度组细胞存活率均有显著降低($P < 0.05$),500 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ 作用 2 h 和 4 h 后,细胞出现过度损伤,在浓度为 400 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞平均存活率为 64%、54%、50%,其中 83% (45/54) 的孔达到了预期的损伤水平,考虑到在不产生明显细胞毒性的情况下进行细胞氧化损伤诱导,故初步确定选择 400 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ 处理 HUVECs 细胞 2 h 作为后续实验的标准造模条件。

为筛选最佳有效药物浓度,首先麝香酮(0.9 ~ 9 $\mu\text{g/mL}$)预处理 2 h 后,换含有 400 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ 的不同浓度麝香酮作用 2 h,测定各组吸光值,计算存活率。结果显示 1.125、2.25 和 4.5 $\mu\text{g/mL}$ 麝香酮对 HUVECs 细胞存活率显著提升($P < 0.001$),其中 4.5 $\mu\text{g/mL}$ 浓度存活率提升最高,而在 9 $\mu\text{g/mL}$ 时药效不明显,可能与麝香小剂量兴奋,大剂量抑制的双向调节作用有关,见图 2。

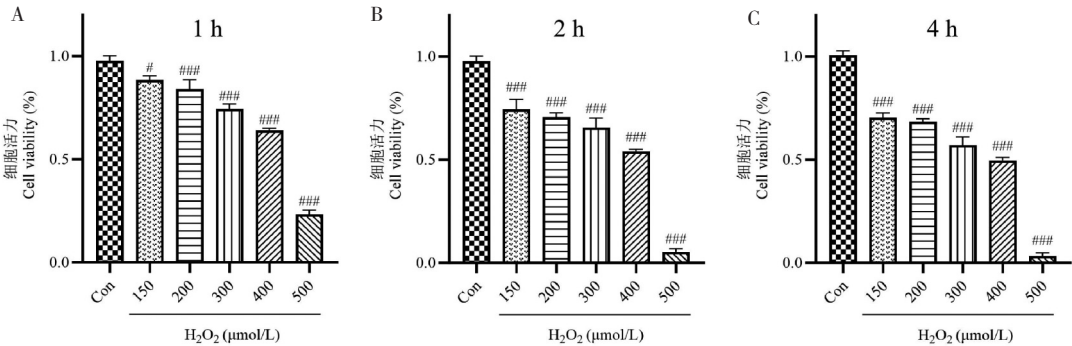


图 1 不同浓度 H₂O₂ 诱导 HUVECs 细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effect of different concentrations H₂O₂ on the survival rate of HUVECs($\bar{x} \pm s, n = 3$)

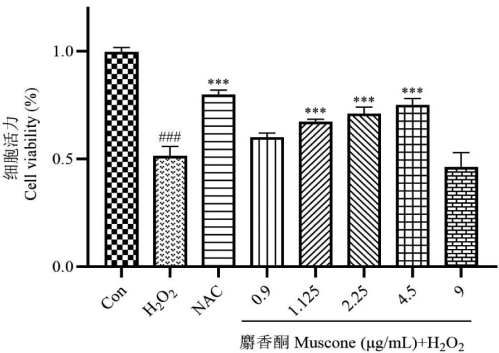


图 2 不同浓度麝香酮对 H₂O₂ 诱导的 HUVECs 细胞存活率的保护作用($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Protective effect of different concentrations of muscone on survival of HUVECs induced by H₂O₂($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:与 Con 组比较, # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$; 与 H₂O₂ 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$,下同。Note: Compared with the Con group, # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$; Compared with the H₂O₂ group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, the same below.

2.3 麝香酮对 H₂O₂ 损伤 HUVECs 细胞形态的影响

如图 3 所示,Con 组 HUVECs 细胞边缘清晰且贴壁生长,呈“铺路石”状排列,增长茂盛,呈小多角状。与 Con 组相比,H₂O₂ 组细胞变圆,部分细胞出现边缘不清以及脱落现象,细胞密度降低,细胞间隙

变大。阳性对照 NAC 组细胞较 H₂O₂ 组,细胞密度明显增加,脱落现象也相应的减少。3 组不同浓度(1.125、2.25 和 4.5 μg/mL)给药组的细胞与 H₂O₂ 组相比,变圆形和椭圆形的细胞比列有所减少,细胞密度均有不同程度的增加,贴壁细胞也均有不同程度的增加。

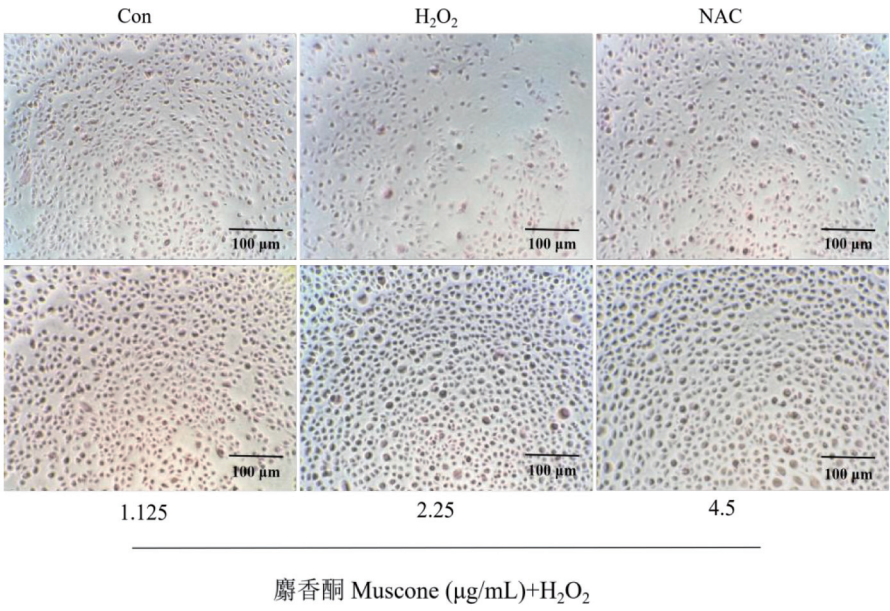


图 3 麝香酮对 H₂O₂ 损伤 HUVECs 细胞形态的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of muscone on the morphology of HUVECs induced by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.4 麝香酮对 H₂O₂ 损伤的 HUVECs 细胞中 ROS 水平的影响

如图 4 所示,经 H₂O₂ 处理的 HUVECs 细胞 ROS 含量与 Con 组相比显著升高($P < 0.0001$),3 组不同浓度(1.125、2.25 和 4.5 μg/mL)给药组均可有效抑制 HUVECs 细胞中 ROS 的产生,其中 4.5

μg/mL 麝香酮给药组效果最为明显($P < 0.001$)。

2.5 麝香酮对 H₂O₂ 损伤的 HUVECs 细胞中 SOD 和 CAT 水平的影响

如图 5 所示,与 Con 组相比,H₂O₂ 组的 SOD 和 CAT 水平均显著下降($P < 0.001$)。给药 NAC 后能显著提升 HUVECs 细胞的 SOD 和 CAT 活性($P < 0.001$)。与 H₂O₂ 组相比,所有浓度的给药组 SOD 水平均显著上升,其中 4.5 μg/mL 浓度的麝香酮作用效果最为显著($P < 0.001$)。CAT 检测结果显示,与 H₂O₂ 组相比,所有浓度的给药组 CAT 水平均显著上升,4.5 μg/mL 浓度组提升效果最为显著($P < 0.001$)。这些结果说明麝香酮可以上调损伤 HUVECs 细胞中的抗氧化酶水平。

2.6 麝香酮对 H₂O₂ 损伤 HUVECs 细胞凋亡的影响

如图 6 所示,与 Con 组比较,H₂O₂ 组细胞凋亡率显著升高($P < 0.001$),阳性对照 NAC 组有效地减少了 H₂O₂ 导致的细胞凋亡($P < 0.001$),与 H₂O₂ 组比较,各给药组细胞凋亡率显著降低($P < 0.01$)。

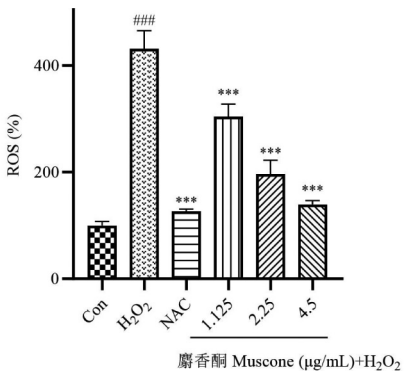


图 4 麝香酮对 H₂O₂ 损伤 HUVECs 细胞内 ROS 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of muscone on ROS content in HUVECs induced by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

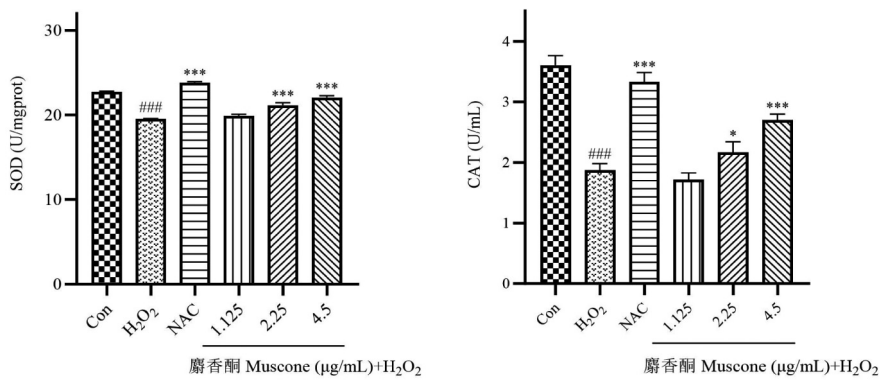


图 5 麝香酮对 H₂O₂ 损伤 HUVECs 细胞内 SOD 和 CAT 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 5 Effect of muscone on the activities of SOD and CAT in HUVECs induced by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

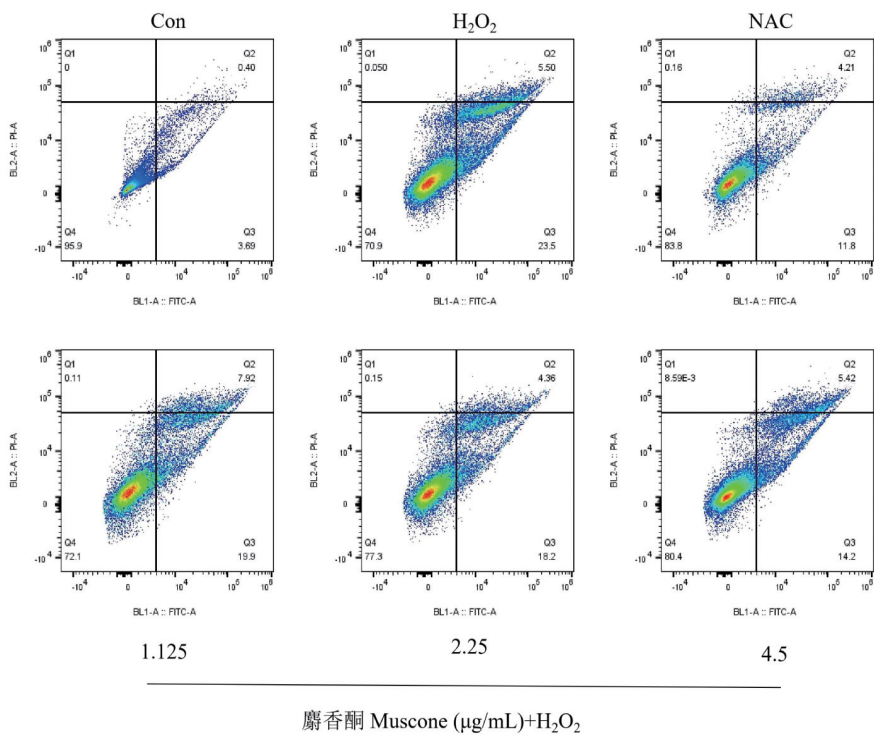
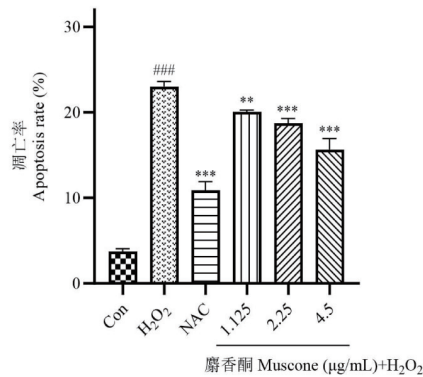


图 6 麝香酮对 H₂O₂ 损伤 HUVECs 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effect of muscone on apoptosis of HUVECs induced by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



2.7 麝香酮对 H₂O₂ 损伤 HUVECs 细胞 Cleaved Caspase-3、BAX、BCL-2 蛋白表达的影响

结果如图 7 所示,与 Con 组比较,H₂O₂ 组细胞中 Cleaved Caspase-3、BAX 蛋白表达显著升高($P <$

0.001, $P <$ 0.000 1),BCL-2 蛋白表达显著降低($P <$ 0.001)。与 H₂O₂ 组比较,各给药组细胞中 Cleaved Caspase-3、BAX 蛋白表达显著降低($P <$ 0.001, $P <$ 0.01)。

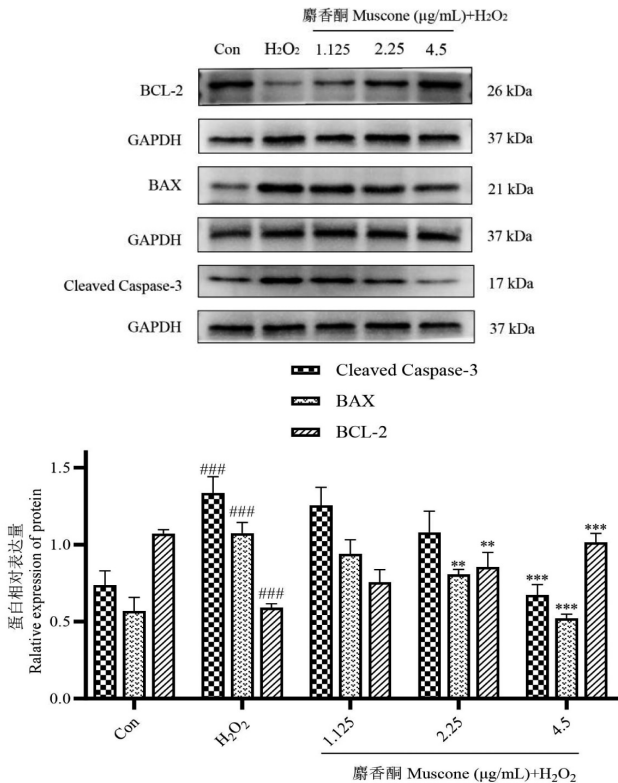


图 7 麝香酮对 H₂O₂ 损伤 HUVECs 细胞 Cleaved Caspase-3、Bax、BCL-2 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Effect of muscone on Cleaved Caspase-3, BAX and BCL-2 protein expression in HUVECs induced by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3 讨论与结论

《中国心血管健康与疾病报告 2024》指出^[12]我国心血管疾病患病率和死亡率仍呈逐年递增趋势,尽管疾病预防、诊断和治疗医学进步取得了巨大成功,但它仍影响着全球数百万人的生命健康,防治策略亟待创新突破。天然产物是调控氧化应激、抑制细胞死亡、改善细胞凋亡重要的药物来源^[13]。麝香酮作为一种中药活性成分,具有多种药理作用,尤其保护心血管系统作用展现出良好的应用前景,研究表明^[14]麝香酮可能通过抑制细胞氧化应激和细胞凋亡,在心肌缺血再灌注损伤中具有潜在的治疗益处,在本研究中,麝香酮(1.125 ~ 4.5 μg/mL)可保护 H₂O₂ 诱导 HUVECs 细胞的氧化损伤,与上述结论一致。

氧化应激是心血管疾病发展的常见原因^[15],也是导致内皮细胞病变的重要诱因,其引发的内皮功能障碍会进一步造成血管壁结构改变与功能失调,

因此通过调节氧化应激水平、调控细胞内氧化与抗氧化系统的平衡可以更好地保护心血管系统^[16,17]。ROS 是生物体内过氧化物的总称,低水平的 ROS 可以维持正常的生理代谢,但过量的 ROS 会导致氧化应激,产生氧化损伤^[18,19]。在本研究中,经 H₂O₂ 诱导后 HUVECs 细胞内产生了大量 ROS,麝香酮处理后下调了 H₂O₂ 诱导的 HUVECs 细胞中 ROS 标志物的水平,与上述结论一致。抗氧化酶系是抗氧化系统的重要组成部分,也是氧化应激的标志物,其中包括 SOD、CAT 等^[20]。SOD 是一种金属蛋白酶,可以催化超氧阴离子发生歧化反应,CAT 可以催化过氧化氢分解,避免其积累损伤细胞,两者都可通过清除细胞内外的 ROS,发挥抗氧化应激作用^[21-23]。在本研究中,经过不同浓度麝香酮处理的 HUVECs 细胞,SOD 和 CAT 活力显著增加,与上述结论一致。

凋亡是引起内皮细胞程序性死亡的形式之一,体内过量的 ROS 会打破抗凋亡蛋白主要参与者

BCL-2 与促凋亡蛋白主要参与者 BAX 之间的拮抗作用,BCL-2/BAX 难以维持凋亡进程的平衡引起线粒体膜的通透孔持续开放,通透性增加,细胞色素 C 释放并参与到激活细胞凋亡关键因子 Caspase-9 的过程,最终凋亡标志物 Caspase-3 被启动,导致细胞凋亡^[24]。已有研究证实药物可以通过调节凋亡相关蛋白来抑制细胞凋亡,例如 Bicuculline 及四氢黄连碱可以通过调节 BCL-2/BAX 平衡发挥降低细胞氧化损伤、抑制细胞凋亡作用^[25]。在本研究中,经过不同浓度麝香酮处理 HUVECs 细胞后,Cleaved Caspase-3 和 BAX 蛋白水平减少,表明细胞线粒体损伤减少、Caspase-3 无法被完全激活,抑制了细胞凋亡。

本研究用 H₂O₂ 诱导 HUVECs 细胞损伤来构建氧化应激损伤细胞模型,并以 NAC(1 000 μmol/L)作为阳性对照。研究结果表明,与 Con 组比较,H₂O₂ 组细胞存活率、SOD 及 CAT 活性显著降低,ROS 释放量和细胞凋亡率显著升高,提示造模成功,说明 H₂O₂ 可以制备氧化损伤模型,用麝香酮进行保护后,提示麝香酮可通过减少 ROS 释放,降低氧化应激,抑制细胞凋亡,猜测其作用机制或许与清除 ROS、改善细胞内抗氧化酶活性、抑制细胞凋亡等相关。然而,本研究仍存在一定局限性。首先,当前研究使用的 H₂O₂ 氧化损伤模型虽能模拟氧化应激,但主要是基于体外细胞实验,尚未在动物模型中进行验证,未来需进一步开展动物试验,以评估麝香酮的有效性和安全性。其次,心血管疾病的发生发展涉及多个环节的交互作用,本研究尚未全面揭示麝香酮与其他信号通路间的复杂关系,后续还需进一步深入分析,以更全面地评估麝香酮在心血管疾病治疗中的潜力。

数据可用性声明: 本篇论文的关联数据可在 ScienceDB 数据库(<https://doi.org/10.57760/sciencedb.nprd.00013>)中访问获取。

参考文献

- 1 Xiang ZP,Li YJ,Ma H,et al. Matrine inhibits inflammatory response induced by TNF-α in human umbilical vein endothelial cells through miR-25-3p-mediated Klf4 pathway[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2023,48:4731-4737.
- 2 Li ZB,Zheng YQ. Research progress on pharmacological mechanisms of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma and its active components in modulating vascular endothelial cell functions[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2025,56:

- 5324-5332.
- 3 Li Z,Xu Q,Wan MX,et al. Protective effects of salviolic acids for injection on H₂O₂-induced oxidative damage of HUVEC[J]. Drug Eval Res(药物评价研究),2021,44:2385-2390.
- 4 Kim H,Yun J,Kwon SM. Therapeutic strategies for oxidative stress-related cardiovascular diseases:removal of excess reactive oxygen species in adult stem cells[J]. Oxid Med Cell Longev,2016,2016:2483163.
- 5 Orrico F,Lopez AC,Saliwonczyk D,et al. The permeability of human red blood cell membranes to hydrogen peroxide is independent of aquaporins [J]. J Biol Chem, 2022, 298: 101503.
- 6 Zhao WK,Zhou Y,Xu TT, et al. Ferroptosis: opportunities and challenges in myocardial ischemia - reperfusion injury [J]. Oxid Med Cell Longev,2021,2021:9929687.
- 7 Song ZW,Wu MJ,Li Y,et al. Protective effect of rhodopsin through the regulation of P53/P21 pathway against H₂O₂-induced damage to HUVEC[J]. Chin J Gerontol(中国老年学杂志),2023,43:5029-5032.
- 8 Zhong GS. Chinese Materia Medica(中药学)[M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine,2016:359-360.
- 9 Wei CJ,Hua F,Chen YH,et al. Muscone alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury via inhibition of oxidative stress and enhancement of SIRT3[J]. J Biol Regul Homeost Agents,2021,35:85-96.
- 10 Zhu LL,Cao GY,Jia LY,et al. Muscone suppresses myocardial ischemia damage by regulating PI3K/Akt signaling pathway [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis,2022,1868:166539.
- 11 Quan HX,Jin P,Li L,et al. Protective effect of musk and its alternative artificial musk on HUVECs impaired by H₂O₂ [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志),2018,38:1783-1787.
- 12 Liu MB,Wang ZW. Interpretation of report on cardiovascular health and diseases in China 2024[J]. Chin J Interv Cardiol(中国介入心脏病学杂志),2025,33:687-695.
- 13 Zou QQ,Zhou PP,Li YL,et al. Research progress on the mechanism of traditional Chinese medicine in regulating oxidative stress against cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. World J Tradit Chin Med(世界中医药),2025,20:3554-3563.
- 14 Wu QB,Li HT,Wu Y,et al. Protective effects of muscone on ischemia-reperfusion injury in cardiac myocytes[J]. J Ethnopharmacol,2011,138:34-39.
- 15 Camargo LL,Rios FJ,Montezano AC,et al. Reactive oxygen species in hypertension[J]. Nat Rev Cardiol,2025,22:20-37.