

丹参酮 II A 对 UVB 辐射人角质形成细胞的保护作用

乌依吾尔·买买提伊力, 何欢, 李艳艳, 王舒涵, 苟玲玲, 李巧霞, 李婷* (新疆维吾尔自治区人民医院医学美容中心, 乌鲁木齐 830001; *通讯作者, E-mail: 3823527796@qq.com)

摘要: 目的 探讨丹参酮 II A 对中波紫外线(UVB)辐射所致人角质形成细胞损伤的保护作用。方法 利用 HaCaT 人永生角质形成细胞建立 UVB 辐射损伤模型, 首先使用不同剂量(30, 60, 90, 120 mJ/cm²)辐射细胞, 采用 CCK-8 法检测细胞活力, 确定最佳损伤剂量。随后, 使用不同浓度(0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 μmol/L)的丹参酮 II A 处理受损细胞, 采用 CCK-8 法检测细胞活力, 筛选最佳干预浓度。再将 HaCaT 细胞分为 3 组: control 组(正常培养)、UVB 组(90 mJ/cm² UVB 辐射)、丹参酮 II A 组(90 mJ/cm² UVB 辐射后给予 1 μmol/L 丹参酮 II A 干预)。采用 CCK-8 法检测细胞活力, 采用乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒检测细胞 LDH 释放量, 采用荧光探针法检测活性氧(ROS)水平, 倒置显微镜观察细胞形态, 采用实时荧光定量 PCR 法和 Western blot 法分别检测血红素氧合酶-1(HO-1)和核因子 E2 相关因子 2(Nrf-2)的 mRNA 及蛋白表达水平。结果 UVB 辐射损伤模型的最佳辐射量为 90 mJ/cm²; 丹参酮 II A 最佳药物干预浓度为 1 μmol/L。与 control 组比较, UVB 组及丹参酮 II A 组细胞增殖活性显著降低($P < 0.05$), HO-1、Nrf-2 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$), LDH 水平及 ROS 荧光强度显著升高($P < 0.05$)。与 UVB 组比较, 丹参酮 II A 组细胞增殖活性显著升高($P < 0.05$), HO-1、Nrf-2 的 mRNA 及蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$), LDH 水平及 ROS 荧光强度显著降低($P < 0.05$)。control 组细胞贴壁紧密且分布均匀, 细胞之间相互连接成片, 胞质丰富, 细胞核形态规则; UVB 组细胞胞质中出现空泡样改变, 细胞核出现固缩、变形等异常情况; 丹参酮 II A 组细胞贴壁情况良好, 细胞之间的连接增多, 胞质中的空泡样改变减少, 细胞核形态相对规则。结论 丹参酮 II A 可减轻 UVB 辐射诱导的人角质形成细胞损伤, 其机制可能与激活 Nrf-2/HO-1 通路、减轻氧化应激及稳定细胞膜结构有关。

关键词: 人角质形成细胞; 丹参酮 II A; UVB 辐射; 表皮; HO-1; Nrf-2

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-6611(2026)03-0301-08 DOI: 10.13753/j.issn.1007-6611.2026.03.008

Protective effects of tanshinone II A on UVB-irradiated human keratinocytes

Wuyiwuer Maimaitiyili, HE Huan, LI Yanyan, WANG Shuhan, GOU Lingling, LI Qiaoxia, LI Ting* (Medical Cosmetology Center, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China; *Corresponding author, E-mail: 3823527796@qq.com)

Abstract: *Objective* To investigate the protective effects of tanshinone II A against human keratinocyte damage induced by ultraviolet B (UVB) radiation. *Methods* HaCaT human immortalized keratinocytes were first treated with 30, 60, 90, 120 mJ/cm² UVB, and cell viability was measured by CCK-8 assay to determine the optimal damage dose. Subsequently, the irradiated cells were treated with varying concentrations of tanshinone II A (0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 μmol/L), and cell viability was measured by CCK-8 assay to select the optimal intervention concentration. The HaCaT cells were divided into three groups: control group (normal culture), UVB group (90 mJ/cm²), and tanshinone II A group (treated with 1 μmol/L tanshinone II A after UVB radiation at 90 mJ/cm²). Cell viability was measured by CCK-8 assay, and lactate dehydrogenase (LDH) release was detected using an LDH assay kit. Reactive oxygen species (ROS) level was assessed by fluorescence probe method, while the cell morphology was observed under an inverted microscope. The mRNA and protein expression levels of heme oxygenase-1 (HO-1) and nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf-2) were examined by real-time quantitative PCR and Western blot, respectively. *Results* The optimal radiation dose for establishing the UVB-induced damage model was 90 mJ/cm², and the optimal intervention concentration of tanshinone II A was 1 μmol/L. Compared with control group, the cell proliferation activity significantly decreased in UVB group and the tanshinone II A group ($P < 0.05$), the mRNA and protein expression levels of HO-1 and Nrf-2 were also significantly reduced ($P < 0.05$), while LDH release and ROS fluorescence intensity were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with UVB group, the cell proliferation activity was significantly enhanced in tanshinone II A group ($P < 0.05$), mRNA and protein expressions of HO-1 and Nrf-2 were upregulated ($P < 0.05$), and LDH release and ROS fluorescence intensity decreased ($P < 0.05$). Morphologically, cells in control group were tightly adherent, evenly distributed, interconnected in sheets, with abundant cytoplasm and regular nuclei. In UVB group, cells displayed cytoplasmic

基金项目: 新疆维吾尔自治区人民医院院内项目(20230106); 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2023D01C73)

作者简介: 乌依吾尔·买买提伊力, 男, 1993-02 生, 学士, 住院医师, E-mail: 896574700@qq.com

收稿日期: 2025-07-13

vacuolation, as well as nuclear pyknosis and deformation. In tanshinone II A group, cells exhibited better adherence, increased intercellular connections, reduced cytoplasmic vacuolation, and relatively regular nuclear morphology. *Conclusion* Tanshinone II A can alleviate UVB-induced damage in human keratinocytes, which may be related to activation of Nrf-2/HO-1 pathway, attenuation of oxidative stress, and stabilization of cell membrane structure.

Keywords: human keratinocytes; tanshinone II A; UVB radiation; epidermis; HO-1; Nrf-2

皮肤长期暴露于紫外线(ultraviolet, UV)辐射下会引发多种疾病,其中中波紫外线(ultraviolet B, UVB)对皮肤表皮的损伤尤为显著。研究表明,UVB辐射能够诱导皮肤细胞产生强烈的氧化应激、炎症反应以及DNA损伤等一系列病理变化,严重影响皮肤的正常生理功能^[1]。在应对氧化应激的过程中,核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf-2)及其调控的下游靶基因血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)组成的Nrf-2/HO-1信号通路发挥着核心的抗氧化防御作用,通过清除过量活性氧(reactive oxygen species, ROS)、维持氧化还原平衡抵御损伤,而该通路功能失调是UVB致皮肤损伤的关键环节^[2]。传统防晒剂仅能物理或化学阻挡紫外线,对已发生的细胞内氧化损伤及通路失调修复作用有限^[3],因此亟需寻找可干预抗氧化通路的新型防护药物。丹参酮II A是中药丹参的有效成分,具有优异的抗炎、抗氧化活性^[4],且已证实对UVB辐射的人角质形成细胞有保护作用^[5,6],其在子宫内细胞中可激活Nrf2通路^[7],但在UVB致皮肤损伤模型中是否能通过调控Nrf-2/HO-1通路发挥作用仍不明确。本研究拟建立UVB辐射人角质形成细胞损伤模型,探讨丹参酮II A的保护作用,并阐明其对Nrf-2/HO-1通路的调控机制,为UVB相关皮肤疾病的防治提供新的药物靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂 HaCaT人永生化表皮细胞购自赛业广州生物科技有限公司;丹参酮II A购自美国MCE公司;CCK-8检测试剂盒(货号:CK04)购自日本同仁化学公司;ROS检测试剂盒购自上海翌圣生物科技股份有限公司。Hoechst 33342活细胞染色液(100×)、BCA蛋白浓度测定试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司;乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所有限公司。HO-1抗体、Nrf-2抗体、GAPDH抗体,均购自美国Proteintech公司;TsingZol Total RNA Extraction Reagent、SynScript™ III cDNA Syn-

thesis Mix、2×TSINGKE® Matser qPCR Mix (SYBR Green I)、dNTPs Mix(各10 mmol/L) DP-UV-M,均购自北京擎科生物科技有限公司。

1.1.2 实验仪器 紫外辐照仪购自北京亚欧德鹏科技有限公司;HF90恒温培养箱购自上海力康生物医疗科技控股集团股份有限公司;CKX53倒置显微镜购自日本Olympus公司;A300 PCR仪购自杭州朗基科学仪器有限公司。

1.2 细胞培养及分组

1.2.1 细胞复苏与传代 将HaCaT细胞冻存管从液氮取出后迅速放于37℃水浴锅,轻摇至融化。把细胞转移至含5 mL DMEM[其中含10%胎牛血清(FBS)+1%青霉素-链霉素双抗溶液(P/S)]培养基的离心管,1 000 r/min离心5 min,弃上清。用完全培养基悬浮细胞后接种到培养皿,轻吹混匀,于37℃、5% CO₂、饱和湿度下培养。当细胞密度达80%时传代,先弃培养基,用PBS洗一遍,加1 mL 0.25%胰蛋白酶消化,用移液枪吹成单个细胞,1 000 r/min离心5 min后用培养基重悬。取20 μL细胞悬液和20 μL台盼蓝计数,以10 000个/孔(96孔板)铺板,每孔细胞体积100 μL,在细胞孔周围孔加100 μL无菌PBS,于5% CO₂、37℃培养过夜。

1.2.2 细胞分组与处理 将细胞培养24 h后,为确定适宜损伤剂量,将细胞随机分为5组:control组、30 mJ/cm²UVB组、60 mJ/cm²UVB组、90 mJ/cm²UVB组、120 mJ/cm²UVB组。其中,control组不进行UVB辐射,其余各组分别采用对应强度的UVB辐射处理,辐射后37℃培养24 h,采用CCK8检测细胞活力,选择细胞增殖活性降低至50%左右的辐射量作为最佳辐射量。

为探究最佳药物浓度,取1 mg丹参酮II A溶于1 mL DMSO,配制成母液浓度为3.4 mmol/L,将细胞随机分为8组:control组、90 mJ/cm²UVB组、以及90 mJ/cm²UVB+不同浓度(0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 μmol/L)的丹参酮II A干预组。UVB照射后,各干预组立即更换含相应浓度丹参酮II A的培养基,control组及UVB组更换不含药物的正常培养基后继续培养24 h,采用CCK8检测细胞活力,选择使细胞增殖

活性恢复到接近正常水平或显著高于其他组的药物浓度为最佳药物干预浓度。

为评估丹参酮ⅡA对UVB辐射损伤的保护作用及初步机制,采用最佳UVB损伤剂量及丹参酮ⅡA最佳干预浓度,进行如下分组:control组,UVB组,丹参酮ⅡA组,每组设置3个复孔。control组给予正常完全培养基培养;UVB组采用90 mJ/cm²剂量的UVB进行辐射处理,用不含药物的培养基培养;丹参酮ⅡA组细胞经90 mJ/cm² UVB辐射后,加入终浓度为1 μmol/L的丹参酮ⅡA培养基干预。

1.3 实验方法

1.3.1 采用CCK8法检测细胞活力 按照1.2.2中的分组及处理方式,将HaCaT细胞以1×10⁴个/孔(每孔体积100 μL)接种于96孔板,每组设3个复孔,周围孔加入100 μL无菌PBS避免边缘效应,于37℃、5% CO₂培养至细胞贴壁后,进行UVB辐射及丹参酮ⅡA干预处理。培养结束后,每孔加入10 μL CCK-8试剂,继续在37℃、5% CO₂培养箱中孵育2 h,使用酶标仪检测450 nm波长处的光密度(OD)值。OD值越高,反映活细胞数量越多、细胞增殖活性越强;反之,OD值越低,则细胞活力越低、损伤程度越重。

1.3.2 通过检测LDH的释放来评估细胞毒性 LDH是一种稳定的胞浆酶,正常情况下存在于完整细胞的细胞质内。当细胞膜因损伤而通透性增加时,LDH会泄漏至细胞培养上清中,其活性与细胞膜损伤程度呈正相关。收集control组、UVB组及丹参酮ⅡA组的细胞培养上清液。参照乳酸脱氢酶测定试剂盒说明书进行操作:在酶标包被板的待测样品孔中先加40 μL样品稀释液,再加入10 μL各组细胞上清液。把稀释后的各组细胞加在酶标板孔底部,注意尽量不碰孔壁,轻轻晃动混匀。用封板膜封板后,放在37℃温育30 min。将30倍浓缩洗涤液用蒸馏水稀释30倍后备用。揭掉封板膜,弃去液体并甩干,每孔加满洗涤液,静置30 s后弃去,重复5次,拍干。除空白孔外,每孔加50 μL酶标试剂,然后进行温育、洗涤。每孔依次加入50 μL显色剂A和50 μL显色剂B,轻轻震荡混匀,在37℃避光显色15 min。每孔加50 μL终止液以终止反应。以空白孔调零,在450 nm波长测量各孔的吸光度(OD值)。OD值越高,反映培养液中LDH活性越强,即细胞膜损伤越严重、细胞毒性越大;反之,OD值越低,则细胞膜完整性越好、细胞损伤越轻。

1.3.3 荧光探针法检测细胞内ROS水平 对control

组、UVB组及丹参酮ⅡA组的细胞进行检测,用无血清培养基按照1:1 000稀释DCFH-DA,使其终浓度为10 μmol/L,同时1:100稀释Hoechst 33342。将细胞培养基去除,加入500 μL稀释好的2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA)和Hoechst 33342;细胞培养箱中37℃孵育20 min;孵育结束,用无血清的培养基洗涤细胞三次,以充分去除未进入细胞内的DCFH-DA。荧光显微镜下定性检测细胞ROS相对荧光强度。ROS是氧化应激的关键介质,过量积累可攻击脂质、蛋白质及DNA,导致细胞膜完整性破坏、线粒体功能障碍及细胞凋亡。DCFH-DA本身无荧光,可自由透过细胞膜,进入细胞后被胞内酯酶水解生成DCFH,DCFH被ROS氧化为高荧光产物,其荧光强度与ROS水平呈正比。因此,ROS荧光强度越高,反映氧化应激水平越强、细胞损伤越重;反之,则氧化损伤越轻。

1.3.4 倒置显微镜观察台盼蓝染色后细胞形态学变化 分别取control组、UVB组及丹参酮ⅡA组的细胞进行观察,弃去细胞培养板中的培养基,使用PBS轻柔漂洗细胞两次,以去除残留的培养基及死细胞。每孔加入4%多聚甲醛溶液,于室温下固定细胞15 min。固定结束后,弃去多聚甲醛,用PBS再次漂洗细胞三次。随后,使用0.1%台盼蓝染色液对细胞进行染色,室温作用5 min。染色后,用PBS充分洗涤细胞以去除多余染液。最后,在Olympus CKX53倒置光学显微镜下观察各组细胞的形态变化,并在100倍放大倍数下采集图像。

1.3.5 实时荧光定量PCR检测Nrf-2与HO-1的mRNA表达水平 设计Nrf2、HO-1的实时荧光定量PCR引物(见表1)。收集control组、UVB组及丹参酮ⅡA组的细胞,采用TsingZol总RNA提取试剂提取各组细胞总RNA。使用SynScript™ III逆转录试剂盒进行cDNA合成。随后使用2×TSINGKE® Master qPCR Mix(SYBR Green I)在实时荧光定量PCR仪上进行扩增反应。qPCR反应体系如下:10 μmol/L上游与下游引物各0.4 μL,2×SYBR Green 预混液5 μL,cDNA模板1 μL,50×ROX参比染料0.2 μL,加无核糖核酸酶水补足至10 μL。反应条件:95℃预变性1 min;随后进行40个循环的扩增(95℃变性10 s,60℃退火/延伸15 s)。反应结束后进行熔解曲线分析以确认产物特异性。以GAPDH为内参基因,采用2^{-ΔΔC_t}法计算基因相对表达量。

表1 实时荧光定量PCR引物序列

Table 1 Primer sequences of real-time PCR

基因	上游引物序列(5'-3')	下游引物序列(5'-3')	产物长度(bp)
GAPDH	TCAAGAAGGTGGTGAAGCAGG	TCAAAGGTGGAGGAGTGGGT	115
HO-1	AAAGATTGCCAGAAAGCCC	CTGGATGTTGAGCAGGAACG	193
Nrf-2	CCAAAACCACCCTGAAAGCA	CCAGGGGCACTATCTAGCTC	171

1.3.6 蛋白质免疫印迹检测 Nrf-2 和 HO-1 蛋白表达水平 将 control 组、UVB 组及丹参酮 II A 组的细胞经裂解、离心后收集上清,采用 BCA 法进行蛋白定量。取等量蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳(5% 浓缩胶,12% 分离胶)并转印至 PVDF 膜。用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭液室温封闭 2 h,加一抗 Nrf-2(1:2 000 稀释)、HO-1(1:1 000 稀释)及 GAPDH(1:5 000 稀释),在 4℃ 下孵育过夜。TBST 洗涤 3 次(每次 5 min)后,与 HRP 标记的相应二抗(1:10 000 稀释)室温孵育 2 h。再次用 TBST 充分洗涤 3 次(每次 5 min),将 ECL 化学发光 A 液和 B 液等体积混匀后,均匀滴加于 PVDF 膜正面,反应 1.5~2.0 min 后,使用凝胶成像系统采集化学发光信号。以 GAPDH 作为内参,采用 ImageJ 软件分析条带灰度值比值。

1.4 统计学分析

利用 SPSS 25.0 软件进行数据处理,所有数据采用均数±标准差($\bar{X} \pm S$)表示,对计量资料进行单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法,检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

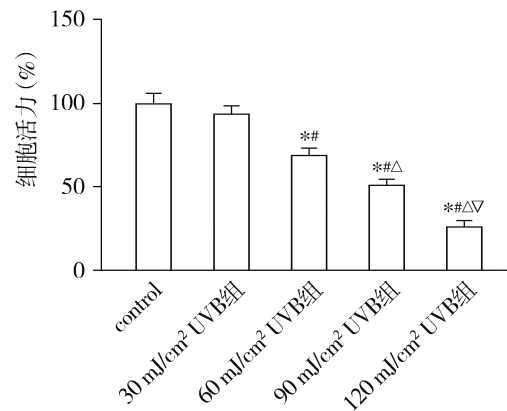
2 结果

2.1 UVB 损伤模型辐射剂量及丹参酮 II A 干预浓度的筛选

研究表明,与 control 组比较,60 mJ/cm² UVB 组、90 mJ/cm² UVB 组、120 mJ/cm² UVB 组强度下细胞增殖活性显著降低($P<0.05$,见图 1)。选择细胞增殖活性降低至 50% 左右的辐射量作为最佳辐射量,故 90 mJ/cm² UVB 为最佳辐射量。

研究表明,与 control 组比较,UVB 组、0.125 μmol/L 丹参酮 II A 组、0.25 μmol/L 丹参酮 II A 组、0.5 μmol/L 丹参酮 II A 组、1 μmol/L 丹参酮 II A 组、2 μmol/L 丹参酮 II A 组、4 μmol/L 丹参酮 II A 组的细胞增殖活性显著降低(均 $P<0.05$);与 UVB 组比较,1 μmol/L 丹参酮 II A 组、2 μmol/L 丹参酮 II A 组、4 μmol/L 丹参酮 II A 组细胞增殖活性均显著升高(均 $P<0.05$,见图 2)。综合各组细胞活力差异及统

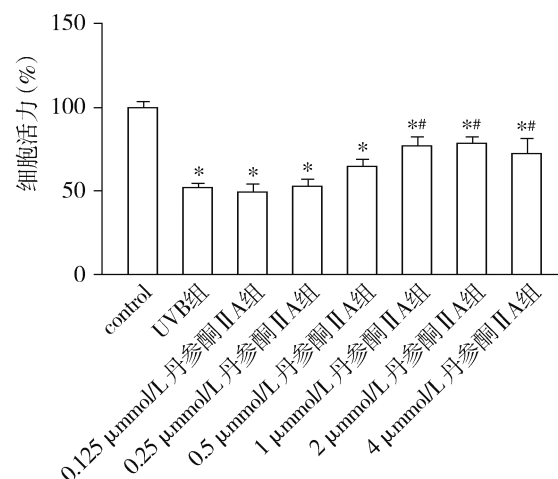
计学显著性,确定 1 μmol/L 丹参酮 II A 为最佳药物干预浓度。



注:与 control 组比较,* $P<0.05$;与 30 mJ/cm² UVB 组比较,# $P<0.05$;与 60 mJ/cm² UVB 组比较,Δ $P<0.05$;与 90 mJ/cm² UVB 组比较,▽ $P<0.05$ 。

图1 不同辐射剂量 UVB 对细胞活力的影响

Figure 1 Effect of different radiation doses of UVB on cell viability



注:与 control 组比较,* $P<0.05$;与 UVB 组比较,# $P<0.05$ 。

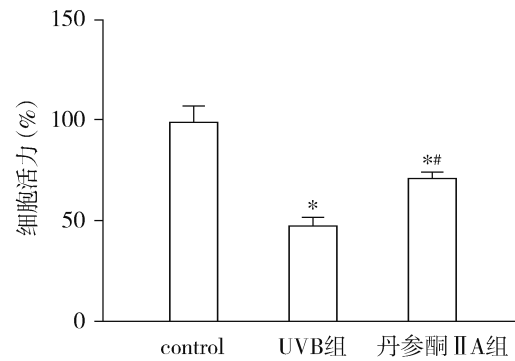
图2 不同浓度丹参酮 II A 干预对 UVB 辐射 HaCaT 细胞活力的影响

Figure 2 Effect of different concentrations of tanshinone II A intervention on the viability of UVB-irradiated HaCaT cells

2.2 丹参酮 II A 对 UVB 诱导的 HaCaT 细胞损伤的保护作用

2.2.1 丹参酮 II A 对 UVB 辐射后细胞增殖活性的影响 与 control 组比较, UVB 组及丹参酮 II A 组细胞增殖活性显著降低 ($P < 0.05$); 与 UVB 组比较, 丹参酮 II A 组细胞增殖活性显著升高 ($P < 0.05$, 见图 3)。

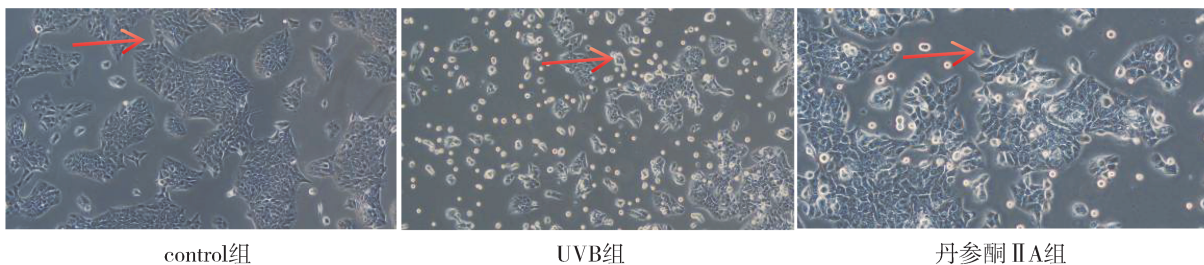
2.2.2 丹参酮 II A 对 UVB 辐射细胞形态特征的影响 control 组细胞贴壁紧密且分布均匀, 细胞之间相互连接成片, 胞质丰富, 细胞核形态规则; UVB 组细胞胞质中出现空泡样改变, 细胞核出现固缩、变形等异常情况; 丹参酮 II A 组细胞贴壁情况良好, 细胞之间的连接增多, 胞质中的空泡样改变减少, 细胞核形态相对规则(见图 4)。



注: 与 control 组比较, * $P < 0.05$; 与 UVB 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 3 丹参酮 II A 对 UVB 辐射细胞活性的影响

Figure 3 Effect of tanshinone II A on proliferation of UVB irradiated cells



注: control 组箭头指向的细胞代表正常状态; UVB 组箭头指向的细胞代表 UVB 损伤状态; 丹参酮 II A 组箭头指向的细胞代表干预后改善状态。

图 4 丹参酮 II A 对 UVB 辐射细胞形态的影响 ($\times 100$)

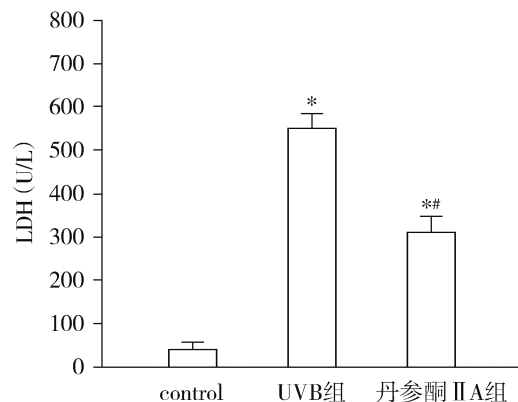
Figure 4 Effect of tanshinone IIA on the morphology of UVB irradiated cells ($\times 100$)

2.2.3 丹参酮 II A 对 UVB 辐射细胞 LDH 释放的影响 研究表明, 与 control 组比较, UVB 组及丹参酮 II A 组 LDH 的表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。与 UVB 组比较, 丹参酮 II A 组 LDH 的表达水平显著降低 ($P < 0.05$, 见图 5)。

2.2.4 丹参酮 II A 对 UVB 辐射细胞内氧化应激水平的影响 研究表明, 与 control 组比较, UVB 组及丹参酮 II A 组的 ROS 荧光强度升高 ($P < 0.05$); 与 UVB 组比较, 丹参酮 II A 组的 ROS 荧光强度降低 ($P < 0.05$, 见图 6)。

2.3 丹参酮 II A 对 UVB 辐射细胞 Nrf-2/HO-1 表达的影响

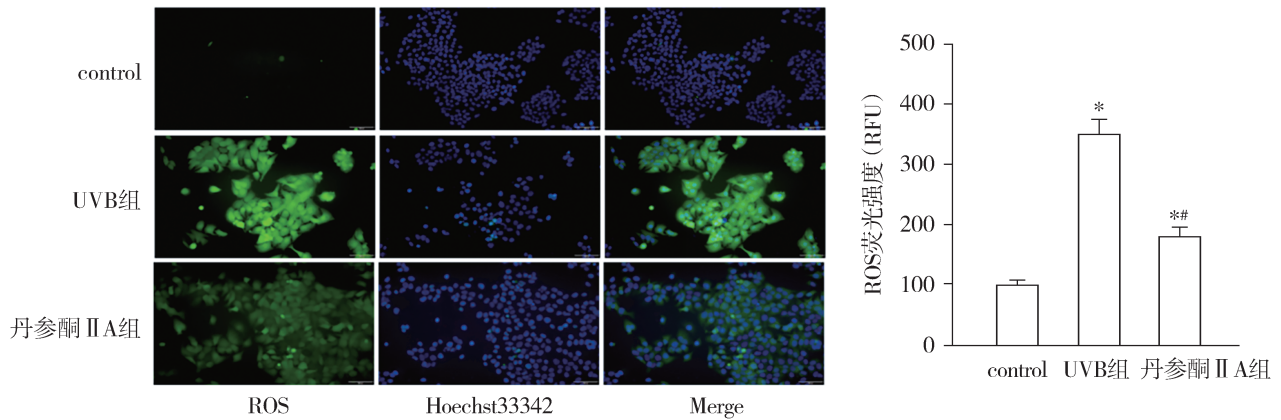
研究表明, 与 control 组比较, UVB 组及丹参酮 II A 组 HO-1、Nrf-2 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。与 UVB 组比较, 丹参酮 II A 组 HO-1、Nrf-2 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$, 见图 7)。



注: 与 control 组比较, * $P < 0.05$; 与 UVB 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 5 丹参酮 II A 对 UVB 辐射细胞 LDH 的影响

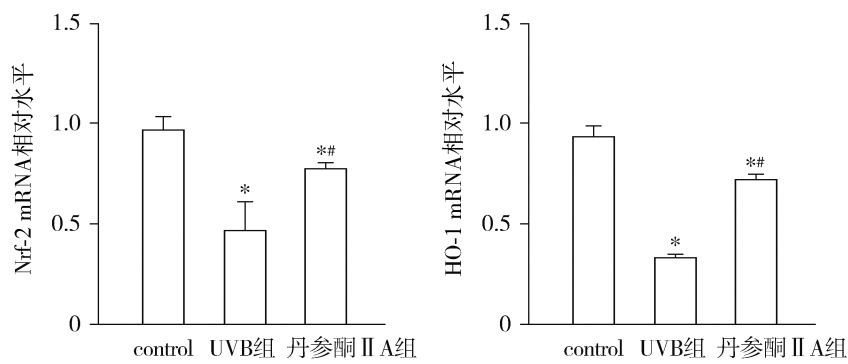
Figure 5 Effect of tanshinone II A on LDH release from UVB-irradiated cells



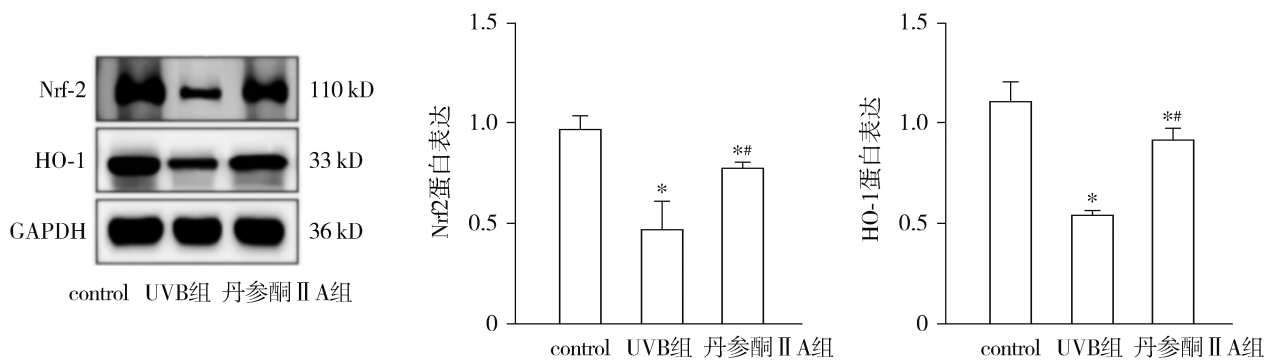
注:绿色荧光显示细胞内ROS水平,蓝色荧光标记细胞核,Merge为二者的叠加图;
与control组比较,* $P < 0.05$;与UVB组比较,** $P < 0.05$;RFU:相对荧光强度单位。

图6 丹参酮II A对UVB辐射细胞内ROS的影响

Figure 6 Effect of tanshinone II A on ROS in UVB irradiated cells



A.丹参酮II A对UVB辐射细胞Nrf-2及HO-1 mRNA相对水平的影响



B.丹参酮II A对UVB辐射细胞Nrf-2及HO-1蛋白表达的影响

注:与control组比较,* $P < 0.05$;与UVB组比较,** $P < 0.05$ 。

图7 丹参酮II A对UVB辐射细胞Nrf-2及HO-1的mRNA与蛋白表达的影响

Figure 7 Effect of tanshinone II A on the mRNA and protein expression of nrf-2 and HO-1 in UVB irradiated cells

3 讨论

皮肤长期暴露于UV辐射下会引发多种疾病,其中UVB对皮肤表皮的损伤尤为显著,是诱导皮肤光老化及癌变的关键环境因素^[8,9]。研究表明,UVB

辐射能够通过触发角质形成细胞产生强烈的氧化应激,导致细胞功能障碍及DNA损伤^[10,11]。因此,探寻能够有效拮抗UVB所致氧化损伤的天然活性成分,对于皮肤光防护具有重要意义。丹参酮II A是中药丹参的有效成分,本研究通过建立UVB辐射

HaCaT细胞模型,探讨了其保护作用及与Nrf-2/HO-1信号通路相关的分子机制。

研究表明,丹参酮II A对UVB诱导的细胞损伤具有明确的保护作用。与Dorr等^[3]研究一致,一定强度的UVB辐射对细胞增殖具有强烈的抑制作用。本研究发现,丹参酮II A能显著提升受损细胞的增殖活性,提示其可能通过调控细胞周期进程来恢复细胞功能。细胞形态学观察进一步显示,UVB导致细胞出现空泡样改变,细胞核出现固缩、变形等异常,而丹参酮II A干预后细胞形态得到显著改善,贴壁能力增强。此外,UVB辐射破坏了细胞膜的完整性,表现为LDH释放显著增加,而丹参酮II A处理则有效降低了LDH释放,表明其对细胞膜结构具有稳定作用^[12]。氧化应激是UVB损伤的核心环节。本研究采用荧光探针法证实,UVB辐射导致细胞内ROS水平显著升高,而丹参酮II A干预能有效逆转此过程。这一发现与Lu等^[13]的研究结论相呼应,他们在NIH-3T3细胞模型中也证实, γ -谷氨酰半胱氨酸可通过增强内源性抗氧化防御系统来抵抗UVB辐射损伤,这提示在不同细胞类型中,减轻氧化应激是抵御UVB损伤的共同策略。

本研究表明丹参酮II A的保护作用与激活Nrf-2/HO-1信号通路密切相关。Nrf-2/HO-1通路是细胞应对氧化应激的核心防御机制^[14,15]。RT-qPCR与Western blot结果显示,UVB辐射显著抑制了Nrf-2及其下游靶基因HO-1的表达,而丹参酮II A处理则能有效逆转这一抑制效应。丹参酮II A可能通过干预Keap1-Nrf-2相互作用来激活该通路^[16],进而启动一系列细胞保护基因的转录。这一机制与Fu等^[7]在子宫内膜上皮细胞中的发现一致。Tao等^[17]的研究显示,丹参酮I和二氢丹参酮可通过稳定Nrf-2蛋白,保护人工皮肤模型免受模拟太阳光辐射的损伤。这些证据共同表明,激活Nrf-2/HO-1通路是丹参酮类成分实现细胞保护的共性分子机制。值得注意的是,丹参酮II A的生物学效应可能存在细胞类型和病理状态依赖性。例如,薛均来^[18]的研究发现丹参酮II A在结肠癌细胞中通过抑制Nrf2通路促进癌细胞凋亡。这种差异凸显了在不同生物学背景下阐明其具体机制的必要性。在本研究的UVB损伤人角质形成细胞模型中,丹参酮II A明确表现出对Nrf-2/HO-1通路的激活效应,这与Sajeeda等^[19]报道的柚皮素在成纤维细胞中通过修复线粒体动力学失衡来抑制炎症的机制有所不同,提示不同天

然产物在皮肤光保护中的核心作用靶点存在差异^[20,21]。本研究存在以下局限性:研究仅在HaCaT细胞系中进行体外实验,缺乏在动物实验的验证;研究证实了丹参酮II A可激活Nrf-2/HO-1通路并降低总ROS水平,但未对下游具体的抗氧化酶的活性进行检测;丹参酮II A调控该通路上游的具体分子靶点仍有待进一步探索。基于以上不足,未来的研究工作可从以下几个方面展开:构建UVB诱导的皮肤光损伤动物模型,在体评估丹参酮II A的局部保护效果,并可同时检测皮肤组织中抗氧化酶的活性变化;利用分子对接、共免疫沉淀等技术,深入探究丹参酮II A与Keap1蛋白的直接相互作用。

综上所述,丹参酮II A可减轻UVB辐射诱导的人角质形成细胞损伤,其机制可能与激活Nrf-2/HO-1通路、减轻氧化应激及稳定细胞膜结构有关。

参考文献:

- [1] 陈珩,王珏,周栩. 紫外线辐射致皮肤老化机制的研究进展[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2024, 20(3):382-387.
- [2] 李喃欣,燕华玲,余亚利,等. 柴达木黑果枸杞花青素减轻中波紫外线辐射后人皮肤成纤维细胞氧化及炎症损伤的研究[J]. 西部医学, 2023, 35(4):501-505.
- [3] Dorr MM, Rochette PJ. Reduction of DNA damage repair efficiency and accumulation of residual damage following chronic UVB-irradiation of HaCaT cells[J]. PLoS One, 2023, 18(4): e0283572.
- [4] 黄爱梅. 丹参酮II A的药理作用机制及不良反应研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(25):179-181.
- [5] Guo R, Li L, Su J, et al. Pharmacological activity and mechanism of Tanshinone II A in related diseases[J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14:4735-4748.
- [6] 韩昭,高艳玲,李志锋,等. 丹参酮II A对中波紫外线照射HaCaT细胞中GADD45 α 和激活蛋白-1及信号通路分子磷酸化水平的影响[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(4): 323-326.
- [7] Fu K, Feng C, Shao L, et al. Tanshinone II A exhibits anti-inflammatory and antioxidative effects in LPS-stimulated bovine endometrial epithelial cells by activating the Nrf2 signaling pathway[J]. Res Vet Sci, 2021, 136:220-226.
- [8] Indirapriyadarshini R, Radhiga T, Kanimozhi G, et al. Preventive effect of andrographolide against ultraviolet-B radiation-induced oxidative stress and apoptotic signaling in human dermal fibroblasts[J]. Cell Biochem Funct, 2023, 41(8):1370-1382.
- [9] Wang J, Bian Y, Cheng Y, et al. Effect of lemon peel flavonoids on UVB-induced skin damage in mice[J]. RSC Adv, 2022, 12(19):11769-11779.
- [10] Martins RM, de Siqueira Martins S, Barbosa GLF, et al. Photoprotective effect of solid lipid nanoparticles of rutin against UVB radiation damage on skin biopsies and tissue-engineered skin

- [J]. *J Microencapsul*, 2022, 39(2):175-189.
- [11] Naz I, Merarchi M, Ramchandani S, *et al.* An overview of the anti-cancer actions of Tanshinones, derived from *Salvia miltiorrhiza* (Danshen)[J]. *Explor Target Antitumor Ther*, 2020, 1(3):153-170.
- [12] Huang X, Deng H, Shen QK, *et al.* Tanshinone II A: pharmacology, total synthesis, and progress in structure-modifications [J]. *Curr Med Chem*, 2022, 29(42):6326-6354.
- [13] Lu S, Liu J, Zhang X, *et al.* Protective effect of γ -glutamylcysteine against UVB radiation in NIH-3T3 cells[J]. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2022, 38(6):522-530.
- [14] 杜晓霜, 刘萍, 邓映, 等. 基于 Nrf-2/HO-1 探究甘草锌对黄褐斑小鼠的治疗作用[J]. *中国比较医学杂志*, 2024, 34(1):80-87.
- [15] 郑文丽, 魏艳婷, 位庚. 津力达联合通心络通过 Nrf-2/HO-1 信号通路对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞损伤的干预作用[J]. *广西医学*, 2023, 45(4):435-442.
- [16] Zhang W, Feng J, Liu R, *et al.* Tanshinone II A regulates NRF2/NLRP3 signal pathway to restrain oxidative stress and inflammation in uric acid-induced HK-2 fibrotic models [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2025, 25(9):721-731.
- [17] Tao S, Justiniano R, Zhang DD, *et al.* The Nrf2-inducers tanshinone I and dihydrotanshinone protect human skin cells and reconstructed human skin against solar simulated UV [J]. *Redox Biol*, 2013, 1(1):532-541.
- [18] 薛均来. 丹参酮 II A 抑制 Nrf2/ARE 信号通路促进结肠癌细胞凋亡的机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2021.
- [19] Sajeeda A, Bhat AM, Gorke S, *et al.* Naringenin, a flavanone constituent from Sea buckthorn pulp extract, prevents ultraviolet (UV)-B radiation-induced skin damage via alleviation of impaired mitochondrial dynamics mediated inflammation in human dermal fibroblasts and Balb/c mice models[J]. *J Photochem Photobiol B*, 2024, 256:112944.
- [20] 朱姗, 赵志月, 王子静, 等. 皮肤老化分子机制及中药防治皮肤老化研究进展[J]. *天津中医药大学学报*, 2021, 40(4):431-439.
- [21] 黄爱梅. 丹参酮 II A 的药理作用机制及不良反应研究进展[J]. *临床合理用药杂志*, 2021, 14(25):179-181.

(责任编辑:马艳霞)