



中国临床医学

Chinese Journal of Clinical Medicine

ISSN 1008-6358

CN 31-1794/R

槲皮素通过Nrf2/HO-1通路改善血管紧张素II诱导的血管平滑肌细胞表型转化

阿捕都热西提·麦麦提依明, 朱巍

引用本文:

阿捕都热西提·麦麦提依明, 朱巍槲皮素通过Nrf2/HO-1通路改善血管紧张素II诱导的血管平滑肌细胞表型转化[J]. 中国临床医学, 2025, 32(4): 593-603.

ABDURESHIT M, ZHU W. Quercetin regulates phenotypic transformation of vascular smooth muscle cells induced by angiotensin II through Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Chin J Clin Med, 2025, 32(4): 593-603.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20250453>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

LINC00638下调抑制Nrf2/ARE通路参与类风湿性关节炎相关间质性肺病发展

Downregulation of LINC00638 contributes to the pathogenesis of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease via inhibiting the Nrf2/ARE signaling pathway

中国临床医学. 2025, 32(3): 421-431 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20241417>

GSDMD介导的细胞焦亡在心血管疾病中的研究进展

Research progress of GSDMD mediated pyroptosis in cardiovascular diseases

中国临床医学. 2022, 29(2): 267-272 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20202138>

GO-CoA-Tat改善脂肪肝小鼠脂质代谢和氧化应激

GO-CoA-Tat improves lipid metabolism and oxidative stress in mice with fatty liver disease

中国临床医学. 2023, 30(6): 965-970 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2023.20231029>

银杏叶提取物通过SIRT6调控NF- κ B和CHOP信号通路改善氧糖剥夺/复氧诱导的心脏微血管内皮细胞损伤

Ginkgo biloba extract alleviates oxygen and glucose deprivation/reperfusion injury in cardiac microvascular endothelial cells by regulating NF- κ B and CHOP signaling pathways through SIRT6

中国临床医学. 2025, 32(1): 46-57 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20241262>

PAI-1招募中性粒细胞调控IL-6/STAT3信号通路促进脂多糖诱导的肺细胞损伤

PAI-1 recruits neutrophil enrichments to promote LPS-induced lung cells injury through IL6/STAT3 signaling pathway

中国临床医学. 2022, 29(4): 572-579 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20220507>

前列腺素E₂在排卵过程中作用及机制研究进展

Research progress on the role of prostaglandin E₂ in ovulation and its mechanism

中国临床医学. 2020, 27(3): 515-519 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20191032>

DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20250453

CSTR: 32417.14.j.issn.1008-6358.2025.20250453

· 论 著 ·

槲皮素通过 Nrf2/HO-1 通路改善血管紧张素 II 诱导的血管平滑肌细胞表型转化



阿捕都热西提·麦麦提依明, 朱巍*

复旦大学附属华山医院神经外科, 上海 200040

[摘要] **目的** 探讨槲皮素 (quercetin, QR) 对血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 诱导的血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 损伤和表型转化的保护作用及机制。**方法** 用 Ang II 处理 VSMCs, 并分为 4 组: 空白对照组 (Ctrl 组)、QR 对照组 (QR 组)、模型组 (Ang II 组)、QR 治疗组 (Ang II + QR 组)。检测细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性。采用蛋白质印迹法检测炎症、细胞凋亡、细胞外基质重塑、表型转化及核因子 E2 衍生相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 信号通路相关蛋白表达。采用实时荧光定量反转录聚合酶链反应检测炎症因子 [白介素 (interleukin, IL) 1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)] 的转录水平。采用划痕实验检测细胞迁移能力。用 Nrf2 转录活性抑制剂 ML385 进行挽救实验, 验证 QR 对 VSMCs 的保护机制。**结果** 与 Ctrl 组相比较, Ang II 组细胞的 ROS 水平更高, SOD 活性被抑制, 炎症相关蛋白表达上调, 炎症因子 mRNA 水平增高, 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 表达升高 ($P < 0.05$), VSMCs 的迁移能力增强, 收缩表型标志物平滑肌相关蛋白 22 α (smooth muscle 22 α , SM22 α) 和 α 平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 表达减少, 分泌表型标志物骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) 表达上调, 细胞凋亡增加 ($P < 0.05$)。QR 干预后, 细胞内 ROS 水平明显降低, SOD 活性增高, 血管细胞黏附分子 1 和磷酸化核因子 κ B 的蛋白表达下降, 炎症因子的转录水平下降, 收缩表型标志物表达上调, 细胞凋亡和迁移能力减弱 ($P < 0.05$)。挽救试验证实, QR 通过激活 Nrf2, 减轻 VSMCs 氧化应激和炎症相关损伤, 并抑制 VSMCs 向合成型转化。**结论** QR 通过促进 Nrf2 的表达, 减轻 Ang II 诱导的 VSMCs 氧化应激、炎症和凋亡, 抑制细胞外基质重塑和 VSMCs 迁移, 从而抑制 VSMCs 表型转化。

[关键词] 槲皮素; 颅内动脉瘤; 血管平滑肌细胞; 氧化应激; 表型转化; 核因子 E2 衍生相关因子 2**[中图分类号]** R 651.12 **[文献标志码]** A

Quercetin regulates phenotypic transformation of vascular smooth muscle cells induced by angiotensin II through Nrf2/HO-1 signaling pathway

ABDURESHIT Mamatimin, ZHU Wei*

Department of Neurosurgery, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effect and mechanism of quercetin (QR) against angiotensin II (Ang II)-induced injury and phenotypic transformation in vascular smooth muscle cells (VSMCs). **Methods** VSMCs were treated with Ang II and divided into four groups: control (Ctrl), QR control, model (Ang II), and treatment (Ang II + QR) groups. Intracellular reactive oxygen species (ROS) level and superoxide dismutase (SOD) activity were measured. Western blotting was used to assess protein expression related to inflammation, apoptosis, extracellular matrix (ECM) remodeling, phenotypic transformation, and the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) signaling pathway. Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to quantify mRNA levels of inflammatory cytokines (interleukin [IL]-1 β , IL-6, and tumor necrosis factor- α [TNF- α]). Cell migration was evaluated using a scratch assay. A rescue experiment employing the Nrf2 transcriptional activity inhibitor ML385 was conducted to further validate protective mechanism of QR for VSMCs. **Results** Compared to the Ctrl group, Ang II-treated VSMCs exhibited significantly higher ROS levels, suppressed SOD activity, upregulated expression of inflammatory proteins and mRNA (IL-1 β , IL-6, TNF- α), increased matrix metalloproteinase (MMP) protein expression ($P < 0.05$), enhanced migration capacity, reduced expression of contractile phenotype markers (smooth muscle 22 α [SM22 α] and α -smooth muscle actin [α -SMA]), upregulated expression of the synthetic phenotype marker osteopontin (OPN), and significantly increased

[收稿日期] 2025-04-13 **[接受日期]** 2025-07-14**[基金项目]** 国家自然科学基金 (82171311, 82330039). Supported by National Natural Science Foundation of China (82171311, 82330039).**[作者简介]** 阿捕都热西提·麦麦提依明, 硕士生. E-mail: 22211220046@m.fudan.edu.cn

*通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-52889999, E-mail: neurosurgeryzhuw@163.com

apoptosis ($P<0.05$). QR intervention significantly reduced intracellular ROS level, increased SOD activity, decreased protein expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and phosphorylated nuclear factor- κ B (NF- κ B), downregulated inflammatory cytokine transcription, upregulated contractile phenotype marker expression, and attenuated apoptosis and migration capacity ($P<0.05$). The rescue experiment confirmed that QR alleviated Ang II-induced oxidative stress, inflammation-related injury, and suppressed the transition of VSMCs towards a synthetic phenotype via activation of Nrf2. **Conclusions** QR mitigates Ang II-induced oxidative stress, inflammation, and apoptosis in VSMCs, inhibits ECM remodeling and VSMCs migration, and consequently suppresses VSMCs phenotypic transformation, primarily through promoting Nrf2 expression.

[Key Words] quercetin; intracranial aneurysm; vascular smooth muscle cell; oxidative stress; phenotypic transformation; nuclearfactor erythroid 2-related factor 2

颅内动脉瘤 (intracranial aneurysm, IA) 是脑动脉管壁病理性、局限性扩张引起的脑血管瘤样突起, 好发于颅内动脉分叉部位, 发生率约为 3.2%^[1]。IA 破裂是蛛网膜下腔出血的主要原因 (占 79%~89%), 且具有高致死率及致残率^[2]。除先天性因素外, IA 的发病机制涉及血液动力学异常、氧化应激、炎症、细胞外基质重塑及血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 表型转化等多因素交互作用的复杂病理过程^[3-5]。

血管平滑肌是动脉壁的重要组成部分。VSMCs 分为收缩型与合成型 2 种表型, 具有高度可塑性, 对维持血管壁的形态结构正常和功能完整性至关重要。正常生理状态下, VSMCs 主要以位于血管中膜的收缩表型为主, 在调节血管直径、血压、血流分布及维持血管壁正常形态中发挥关键作用。当外部环境出现变化, 如物理损伤、血流动力学异常、内皮损伤、炎症、氧化应激等刺激下^[6], VSMCs 表型由收缩型转化为合成型, 迁移、增殖和基质合成能力增强^[7-8], 迁移至血管内膜并分泌细胞外基质蛋白, 促进细胞外基质重塑以修复损伤。但随着表型转化与凋亡加剧, VSMCs 在血管中膜的密度降低, 同时收缩相关蛋白表达减少, 细胞收缩能力减弱、动脉壁中膜退化, 导致血管弹性逐渐降低, 无法维持血管壁正常形态, 导致血管局部薄弱并向外膨出, 最终发展为动脉瘤^[9-10]。VSMCs 表型转化是 IA 病理进展的核心机制, 因此, 减少炎症反应和氧化应激损伤, 防止血管壁中的 VSMCs 表型转化失衡与过度凋亡是预防动脉瘤发生的关键。

核因子 E2 衍生相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 为碱性亮氨

酸拉链转录因子的帽'n'领亚型, 具有调控抗氧化、抗炎因子及蛋白酶基因表达等功能, 参与调节细胞氧化还原平衡^[11-13]。Nrf2 通路参与调节血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1)、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸、醌氧化还原酶 1、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶的表达, 提高细胞抗氧化能力, 保护细胞免受氧化应激损伤, 从而在细胞凋亡、抗炎以及促进血管生成方面发挥重要作用^[14-16]。本课题组前期研究^[17]发现, Nrf2 可抑制体内 VSMCs 表型转化与炎症, 具有潜在的 IA 预防作用。

槲皮素 (quercetin, QR) 是黄酮醇类化合物^[18-19], 可通过调节氧化应激因子和抗氧化酶的表达清除体内的自由基, 降低细胞炎症水平^[20]。QR 因具有抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒、抗肿瘤等多种作用^[21-25], 已被用于中枢神经系统、心血管以及代谢和炎症性疾病的治疗^[26]。但是, QR 对 VSMCs 表型转化的作用及机制尚无明确报道。

因此, 本研究选择小鼠主动脉 VSMCs (MOVAS) 建立体外 VSMCs 表型转化模型, 以探究 QR 对血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 诱导的 VSMCs 功能及表型转化的机制, 以期对 IA 非侵入性干预治疗研究提供依据, 为预防 IA 的发生发展提供新方向。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 MOVAS 细胞、SMCM 培养基及细胞生长因子等购自上海亿泽丰生物科技公司。QR (HY-18085) 与 Ang II (MY-13948) 均

购自美国 MedChemExpress 公司。抗磷酸化核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 抗体 (ab76302), 抗 NF- κ B 抗体 (ab32536), 抗血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 抗体 (ab134047), 抗 B 细胞淋巴瘤因子 2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 抗体 (ab32124), 抗 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2-associated X protein, Bax) 抗体 (ab32503), 抗 β -actin 抗体 (ab8226) 均购自美国 Abcam 公司。抗 α 平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 抗体 (14395-1-AP)、抗平滑肌 22 α (smooth muscle 22 alpha, SM22 α) 抗体 (10493-1-AP)、抗骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) 抗体 (22952-1-AP)、抗基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 2 抗体 (10373-2-AP) 均购自美国 Proteintech 公司。抗 MMP9 抗体 (#24317), 抗 Nrf2 抗体 (#12721), 抗 HO-1 抗体 (#43996) 购自美国 Cell Signaling Technology 公司。辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记山羊抗兔 IgG(H+L) (WB0177), 5 $\times$ SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (WB0133) 均购自上海威奥生物科技有限公司。RIPA 裂解液 (P0013C) 和 PMSF 溶液 (ST506) 购自中国碧云天生物科技有限公司。PAGE 凝胶快速制备试剂盒 (PG112) 购自上海雅酶医药科技有限公司, PVDF 膜 (ISEQ00010) 购自德国 Merk 公司。脱脂奶粉 (BS102) 购自北京兰杰柯科技有限公司, 极超敏化学发光试剂盒 (ED0015-C) 购自山东思科捷生物技术有限公司。

1.2 细胞培养及分组 用含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素的 SMCM 培养基 (完全培养基), 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养 MOVAS 细胞。细胞生长至密度 80%~90%, 传代并分组: 空白对照组 (Ctrl)、QR 对照组 (QR)、模型组 (Ang II)、QR 治疗组 (Ang II + QR)。Ctrl 组仅加入完全培养基, QR 组加入 15 $\mu\text{mol/L}$ QR, Ang II 组加入 10 $\mu\text{mol/L}$ Ang II, Ang II + QR 组加入 10 $\mu\text{mol/L}$ Ang II 和 15 $\mu\text{mol/L}$ QR。所有细胞均培养 24 h 后进行后续实验。

1.3 细胞活力检测 采用细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) 检测细胞活力。将细胞培

养于 96 孔板中, 待细胞密度为 70%~80% 时, 加入 10 $\mu\text{mol/L}$ Ang II 和不同浓度的 QR, 培养 24 h 后, 弃上清。每孔加入 100 μL 含有 10% CCK-8 溶液的完全培养基, 将细胞置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 中培养 2 h。用酶标仪检测 450 nm 处的光密度。

1.4 蛋白质印迹 (Western blotting, WB) 将 RIPA 裂解液和 PMSF 溶液按 100 : 1 混合, 裂解 MOVAS 细胞。4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 $\times g$ 离心 15 min, BCA 法测定总蛋白浓度。向蛋白样品中加入 5 $\times$ SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液, 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热变性 10 min。进行电泳、转膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h; 4 $^{\circ}\text{C}$ 一抗 (稀释比均为 1 : 1000) 孵育过夜, 洗膜; 加二抗, 室温下孵育 1 h。洗膜, 采用极超敏化学发光试剂盒显影观察。

1.5 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 检测 收集不同处理后的细胞, 用预冷 (4 $^{\circ}\text{C}$) 的 PBS 洗涤 2 次, 用 400 μL DCFH-DA 荧光探针工作液重悬, 浓度为 1×10^6 个/mL。避光孵育 30 min 后, PBS 洗涤 2 次, 采用流式细胞术进行检测。

1.6 SOD 活性检测 细胞经处理后, 吸弃培养基, 用预冷的 PBS 洗涤细胞。按照试剂盒说明书配制 SOD 工作液和反应启动工作液。每 1×10^6 个细胞加入 100 μL SOD 工作液, 反复吹打细胞以充分裂解。采用 BCA 法检测样品蛋白浓度, 调整样品蛋白量为 20~100 mg/组。依次将样品加入 96 孔板相应孔, 然后加入反应启动工作液, 混匀。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min 后, 用酶标仪测量 450 nm 处的光密度。

1.7 实时定量聚合酶链式反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 取对数生长期的细胞, 于 6 孔板培养, 分组并进行相应处理。培养结束后, 弃培养基, 加入 500 μL /孔 Trizol, 反复吹打后转移至 1.5 mL EP 管中。每个样品加入 200 μL 氯仿, 混匀后于冰上静置 5 min。10 000 r/min 离心 10 min。取上清, 加入 200~250 μL 无水乙醇, 混匀。将样品转移至吸附柱, 每个样本加入 500 μL RPE 溶液, 静置 2 min, 10 000 r/min 离心 3 min, 弃去收集管中液体。吸附柱放回收集管中, 再次离心, 弃收集管。将吸附柱放在干净、无菌无酶的 1.5 mL EP 管中, 在吸附膜的中央滴加 30 μL DEPC 水, 静置 5 min 后, 12 000 r/min

离心 2 min, 弃吸附柱。EP 管中的 RNA 样本用于 qRT-PCR 检测。引物序列见表 1。以 β -actin 为标准化内参, 目的基因的相对表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行。每个样本有 3 个独立重复。

1.8 划痕实验 将 MOVAS 细胞以 1×10^5 /孔接种于 6 孔板, 分组, 每组 3 个重复。待细胞形成完全融合的单层细胞层后, 用 200 μ L 无菌枪头在孔中划“川”字型划痕, 并用无菌 PBS 洗涤 3 次, 去除脱落细胞碎片, 确保划线后留下的间隙清晰可见。显微镜观察划线后和培养 24 h 后划痕上、

中、下 3 个点, 并拍照记录。

1.9 挽救实验 待细胞密度为 80%~90% 时, 传代并分组: Ang II 组、Ang II + ML385 组、Ang II + QR 组和 Ang II + ML385 + QR 组。ML385 为 Nrf2 转录活性抑制剂, 工作浓度为 10 μ mol/L。干预 24 h 后, 收集细胞样品用于后续检测。

1.10 统计学处理 采用 Graphpad Prism9 和 ImageJ 进行统计分析及绘图。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验。检验水准 (α) 为 0.05。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

Gene	F (5'→3')	R (5'→3')
β -actin	CCTTCCAGCAGATGTGGATCA	CTCAGTAACAGTCCGCCTAGAA
IL-1 β	TGCCACCTTTTGACAGTGATG	TGATGTGCTGCTGCGAGATT
IL-6	TGGTCTTCTGGAGTACCATAGC	GTGACTCCAGCTTATCTCTTGG
TNF- α	ACCCTCACACTCACAACCAC	ACAAGGTACAACCCATCGGC

All primers were designed at the National Library of Medicine website (<https://www.nlm.nih.gov/>). IL: interleukin; TNF- α : tumor necrosis factor- α .

2 结果

2.1 QR 增强 Ang II 诱导的 VSMCs 活力 用不同浓度的 QR 干预 Ang II 诱导的 MOVAS, 并检测细胞活力。结果 (图 1) 显示: 相较于 Ctrl 组, Ang II 干预后细胞活力明显下降 ($P < 0.05$)。1 μ mol/L QR 即可显著提高细胞活力 ($P < 0.05$), 且具有剂量依赖性。20 μ mol/L QR 与 15 μ mol/L QR 处理后的细胞活力间差异无统计学意义。因此, 后续实验中 QR 的干预浓度为 15 μ mol/L。

2.2 QR 抑制 Ang II 诱导的氧化应激和炎症反应 流式细胞术结果 (图 2A、图 2B) 显示: 与 Ctrl 组相比, QR 组的 ROS 水平无明显变化, Ang II 组 ROS 水平明显升高 ($P < 0.05$); Ang II + QR 组 ROS 水平较 Ang II 组明显下降 ($P < 0.05$)。SOD 活性检测结果 (图 2C) 显示: 较 Ctrl 组相比, Ang II 组的 SOD 酶活性被显著抑制, QR 干预可以显著提升细胞内 SOD 活性 ($P < 0.05$)。

WB 结果 (图 2D) 显示: 与 Ctrl 组相比, Ang II 组的 VCAM-1 表达和 p-NF- κ B/NF- κ B 比值

(NF- κ B 活性) 显著上调 ($P < 0.05$); Ang II + QR 组的 VCAM-1 表达水平和 NF- κ B 活性较 Ang II 组明显下降 ($P < 0.05$)。qRT-PCR 检测结果 (图 2E) 显示: Ang II 组炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 表达较 Ctrl 组显著增加, QR 干预可以显著降低细胞内炎症因子水平 ($P < 0.05$)。

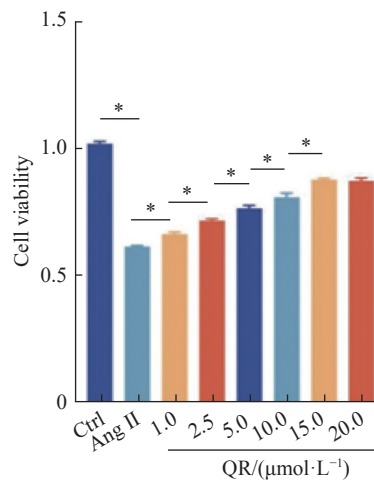


图 1 QR 对 Ang II 诱导的 MOVAS 细胞活力的影响
Figure 1 Effect of QR on the viability of Ang II-induced MOVAS

QR: quercetin; Ang II: angiotensin II. $n=3$, $\bar{x} \pm s$, * $P < 0.05$.

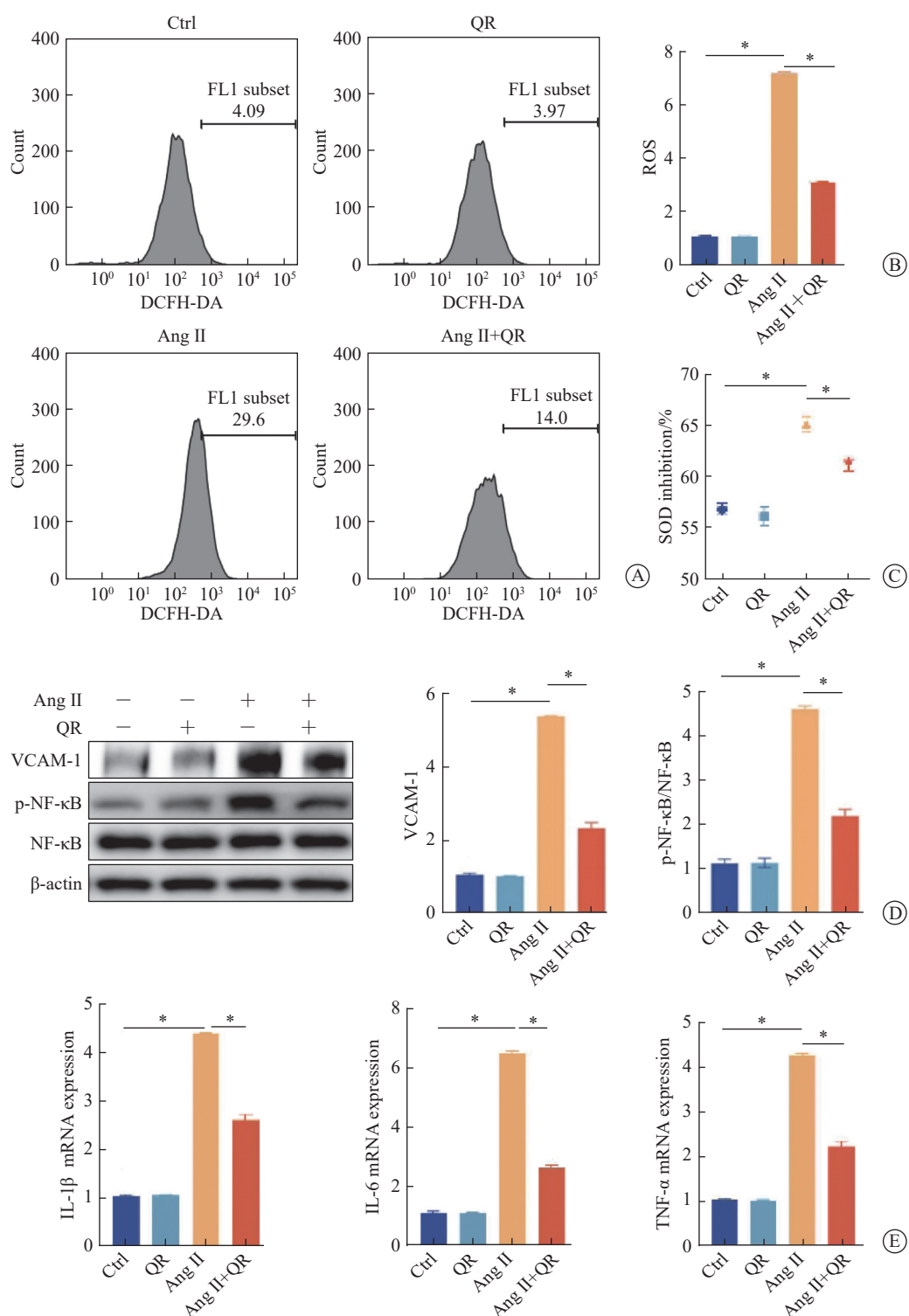


图2 QR抑制Ang II诱导的MOVAS氧化应激和炎症

Figure 2 QR inhibits oxidative stress and inflammation induced by Ang II in MOVAS

A, B: Flow cytometry assay of ROS; C: SOD inhibition rate; D: Western blotting analysis of inflammatory protein (relative to Ctrl group); E: mRNA levels of inflammatory factors (relative to Ctrl group). QR: quercetin; Ang II: angiotensin II; ROS: reactive oxygen species; SOD: superoxide dismutase; VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1; NF-κB: nuclear factor kappa-B; IL: interleukin; TNF-α: tumor necrosis factor-α. $n=3$, $\bar{x} \pm s$, $*P<0.05$.

2.3 QR抑制Ang II诱导的VSMCs表型转化 结果(图3A)显示:与Ctrl组相比,Ang II组MMP-9和MMP-2蛋白表达增加($P<0.05$);Ang II+QR组MMP-9和MMP-2蛋白表达较Ang II组降低($P<0.05$)。结果(图3B)显示:与Ctrl组相比,Ang II组的Bax蛋白表达水

平升高,抗凋亡蛋白Bcl-2表达下降($P<0.05$)。QR处理后,Bcl-2蛋白表达显著上升,Bax表达水平明显下降($P<0.05$)。划痕实验结果(图3C)显示:与Ctrl组比较,Ang II干预促进MOVAS细胞迁移;Ang II+QR组的细胞迁移能力较Ang II组减弱。

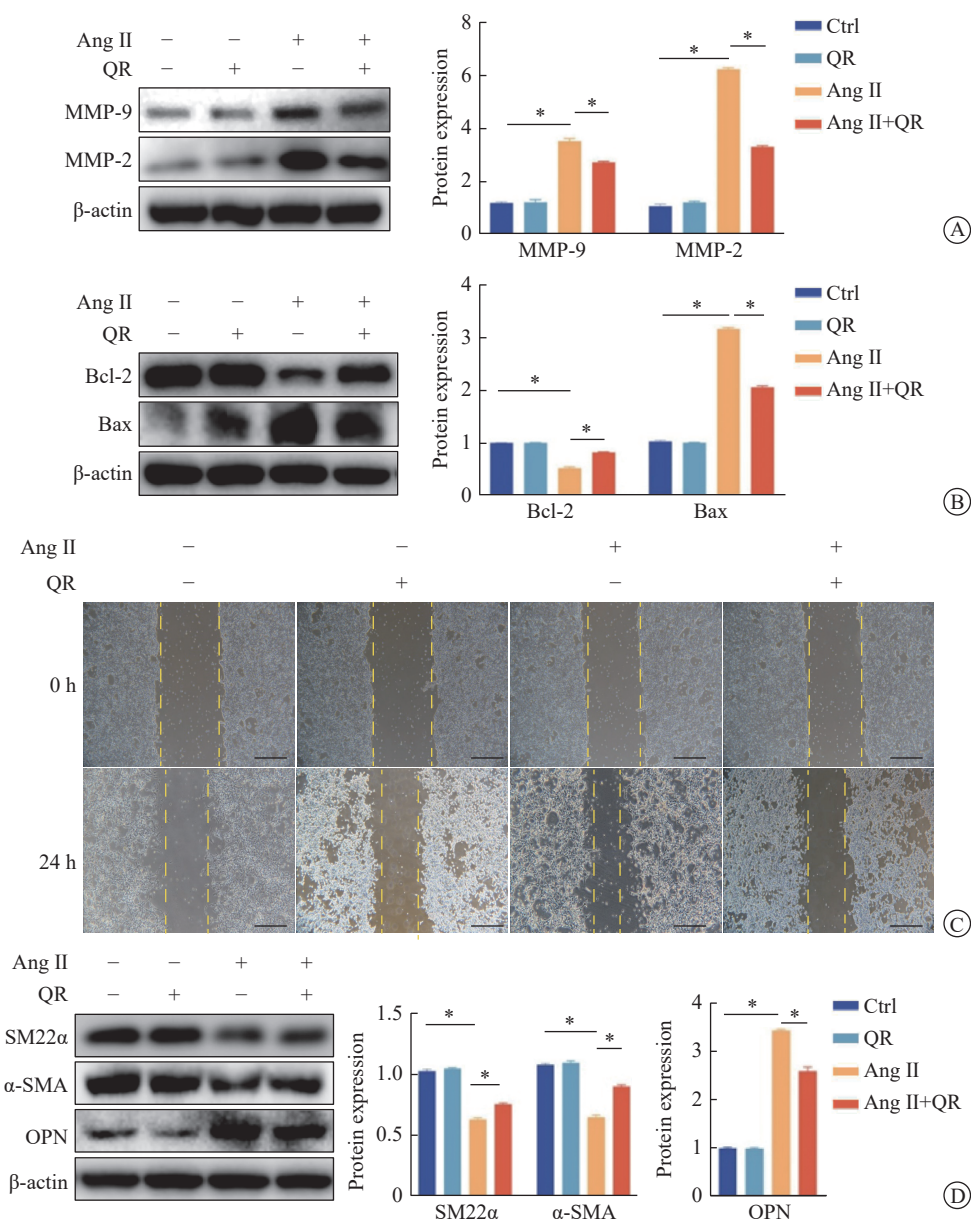


图3 QR抑制Ang II诱导的MOVAS表型转化

Figure 3 QR inhibits phenotypic transformation of MOVAS induced by Ang II

A, B: The level of MMP-9, MMP-2 and apoptosis-related proteins (relative to Ctrl group); C: Migration ability, scale bar=200 μ m; D: The level of phenotypic transformation-related proteins (relative to Ctrl group). QR: quercetin; Ang II: angiotensin II; MMP: matrix metalloproteinase; Bcl-2: B-cell lymphoma-2; Bax: Bcl-2-associated X protein; SM22 α : smooth muscle protein 22 α ; α -SMA: α -smooth muscle actin; OPN: osteopontin. $n=3$, $\bar{x} \pm s$, * $P<0.05$.

WB 结果 (图 3D) 显示: 与 Ctrl 组相比, Ang II 组 SM22 α 和 α -SMA 表达显著降低, OPN 表达明显升高 ($P<0.05$)。QR 可提高 SM22 α 和 α -SMA 表达水平, 并降低 OPN 水平 ($P<0.05$)。

2.4 QR 通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路保护 VSMCs WB 结果 (图 4) 显示: 与 Ctrl 组相比, Ang II 组 Nrf2 和其下游 HO-1 的表达明显减

少 ($P<0.05$) ; QR 可以明显提高 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平 ($P<0.05$)。

Ang II + ML385 组的 Nrf2 和 HO-1 蛋白水平显著低于 Ang II 组; Ang II + ML385 + QR 组的 Nrf2 和 HO-1 蛋白水平显著低于 Ang II + QR 组, 高于 Ang II + ML385 组 ($P<0.05$) , 提示 QR 可通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路拮抗 Ang II 诱导的 VSMCs 损伤。

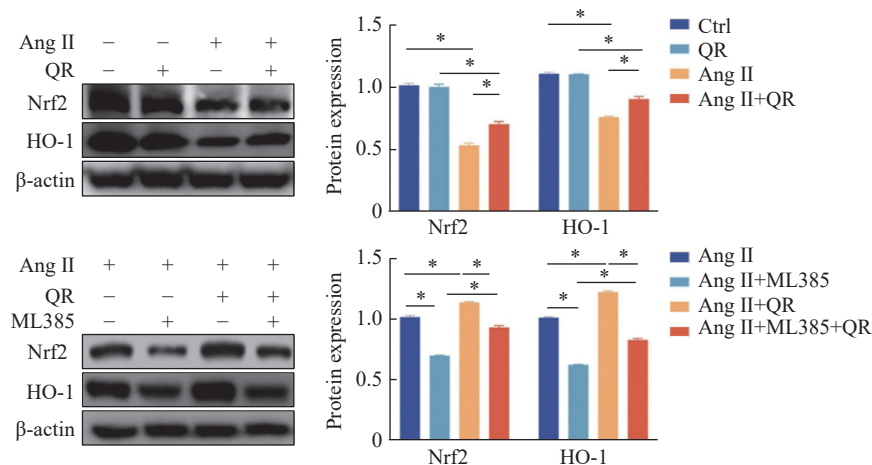


图 4 QR 通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路拮抗 Ang II 诱导的 MOVAS 细胞损伤

Figure 4 QR antagonizes Ang II-induced cell injury via activating Nrf2/HO-1 signaling pathway in MOVAS

QR: quercetin; Ang II: angiotensin II; Nrf2: nuclear factor erythroid 2-related factor 2; HO-1: heme oxygenase-1. $n=3$, $\bar{x} \pm s$, $*P<0.05$.

2.5 QR 通过激活 Nrf2 抑制 Ang II 诱导的氧化应激和炎症 结果 (图 5) 显示: Ang II + ML385 组的 ROS 水平、VCAM-1 表达和 NK- κ B 活性较 Ang II 组显著增高, SOD 活性下降 ($P<0.05$)。相较于 Ang II + ML385 组, Ang II + ML385 + QR 组的 ROS 水平显著降低, SOD 活性增强, VCAM-1 表达和 NK- κ B 活性显著降低, 炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的转录水平显著降低 ($P<0.05$)。

2.6 QR 通过激活 Nrf2 抑制 VSMCs 表型转化 结果 (图 6) 显示: Ang II + ML385 组的 MMP-9、MMP-2、Bax 和合成表型标志物 OPN 蛋白水平较 Ang II 组显著上升, Bcl-2、收缩表型标志物 SM22 α 和 α -SMA 蛋白表达、细胞迁移活性下降 ($P<0.05$)。相较于 Ang II + ML385 组, Ang II + ML385 + QR 组的 MMP-9、MMP-2 和 Bax 水平显

著降低, Bcl-2 蛋白表达水平升高, 细胞迁移活性增强 ($P<0.05$) ; OPN 表达显著下调, SM22 α 和 α -SMA 水平升高 ($P<0.05$)。

3 讨论

IA 是严重威胁健康的脑血管疾病, 起病隐秘且危害匪浅。VSMCs 的表型转换是 IA 的重要病因。异常的血流剪切力与氧化应激可协同诱导 VSMCs 表型转化, 导致血管中膜结构破坏和血管壁重塑, 加速 IA 的发生与破裂。因此, 血管壁中膜层结构和功能的正常对 IA 的发展至关重要。

QR 是天然黄酮类物质, 具有强大的促创口愈合、神经保护与抗氧化应激等生物活性。研究^[27]发现, QR 可通过激活 JAK2/STAT3 通路, 抑制 VSMCs 过度增殖。此外, QR 通过抑制 TGF- β 1-Smad2/3 信号通路, 减弱肺动脉高压导致的血

管重塑效应^[28]。但其对 VSMCs 的表型转化及凋亡的作用少有研究报道。因此,本研究选择 MOVAS 细胞研究 QR 对 VSMCs 功能和表型转化的作用。结果显示,Ang II 刺激细胞出现氧化应

激和炎症损伤,诱导 MOVAS 细胞从收缩型向合成型转化。QR 可以有效降低细胞氧化应激和炎症水平,并部分逆转 VSMCs 的表型转化,从而发挥血管壁保护作用。

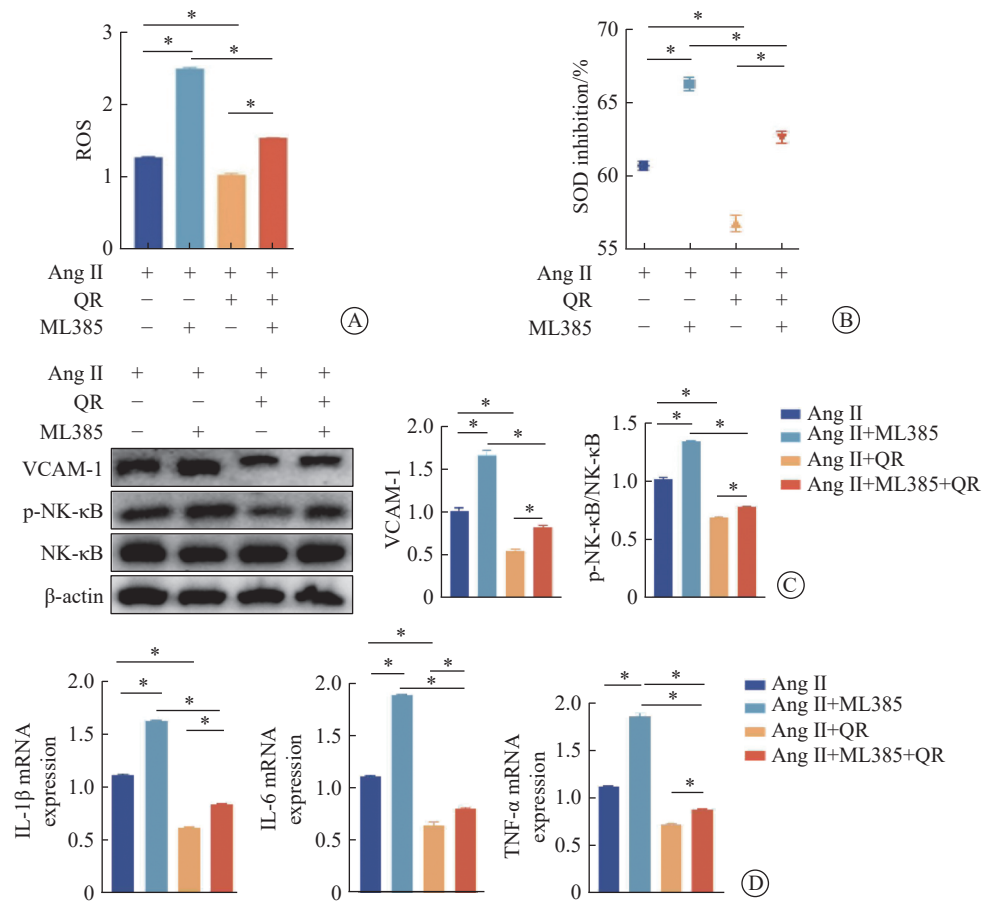


图5 QR通过激活 Nrf2 抑制 Ang II 诱导的氧化应激和炎症

Figure 5 QR inhibits oxidative stress and inflammation induced by Ang II in MOVAS via activating Nrf2

A: ROS level; B: SOD inhibition rate; C: Inflammatory proteins levels (relative to Ctrl group); D: mRNA levels of inflammatory factors (relative to Ctrl group). QR: quercetin; Ang II: angiotensin II; ROS: reactive oxygen species; SOD: superoxide dismutase; VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1; NF-κB: nuclear factor kappa-B; IL: interleukin; TNF-α: tumor necrosis factor-α. $n=3$, $\bar{x} \pm s$, * $P<0.05$.

Nrf2/HO-1 在动脉瘤的形成与发展中具有重要作用。在氧化应激及其他病理刺激下, Nrf2 核转位增多, 并介导其下游抗氧化基因的转录表达, 从而调控细胞内氧化还原平衡^[29]。研究^[30]发现, 在 VSMCs 中, Nrf2/HO-1 通路的激活可抑制 NLRP3 激活和细胞焦亡, 缓解细胞炎症状态, 维持 VSMCs 的正常收缩表型。在小鼠体内, VSMCs 特异性 Nrf2 缺失, 会加重细胞炎症、促进表型转

化^[31], 证实 Nrf2 是维持 VSMCs 正常收缩表型的重要分子。Nrf2 激活可通过减少炎症因子分泌, 减轻氧化应激损伤, 从而预防腹主动脉瘤的发生^[32-33]。本课题组前期研究^[17]证实, 激活 Nrf2 能够抑制 VSMC 由收缩型向合成型的转化, 并促进抗氧化酶的表达, 提示 Nrf2/HO-1 信号通路在 IA 形成过程中有重要作用。鉴于此, 本课题组推测 Nrf2 可能是 QR 发挥抗 VSMCs 表型转化、抗

氧化等作用的靶点。为验证 QR 对 VSMCs 的保护机制，本研究采用外源性的 Nrf2 转录活性抑制剂

ML385 干预 MOVAS 细胞，证实 Nrf2 是 QR 抑制 VSMC 表型转化和氧化应激损伤的潜在靶点之一。

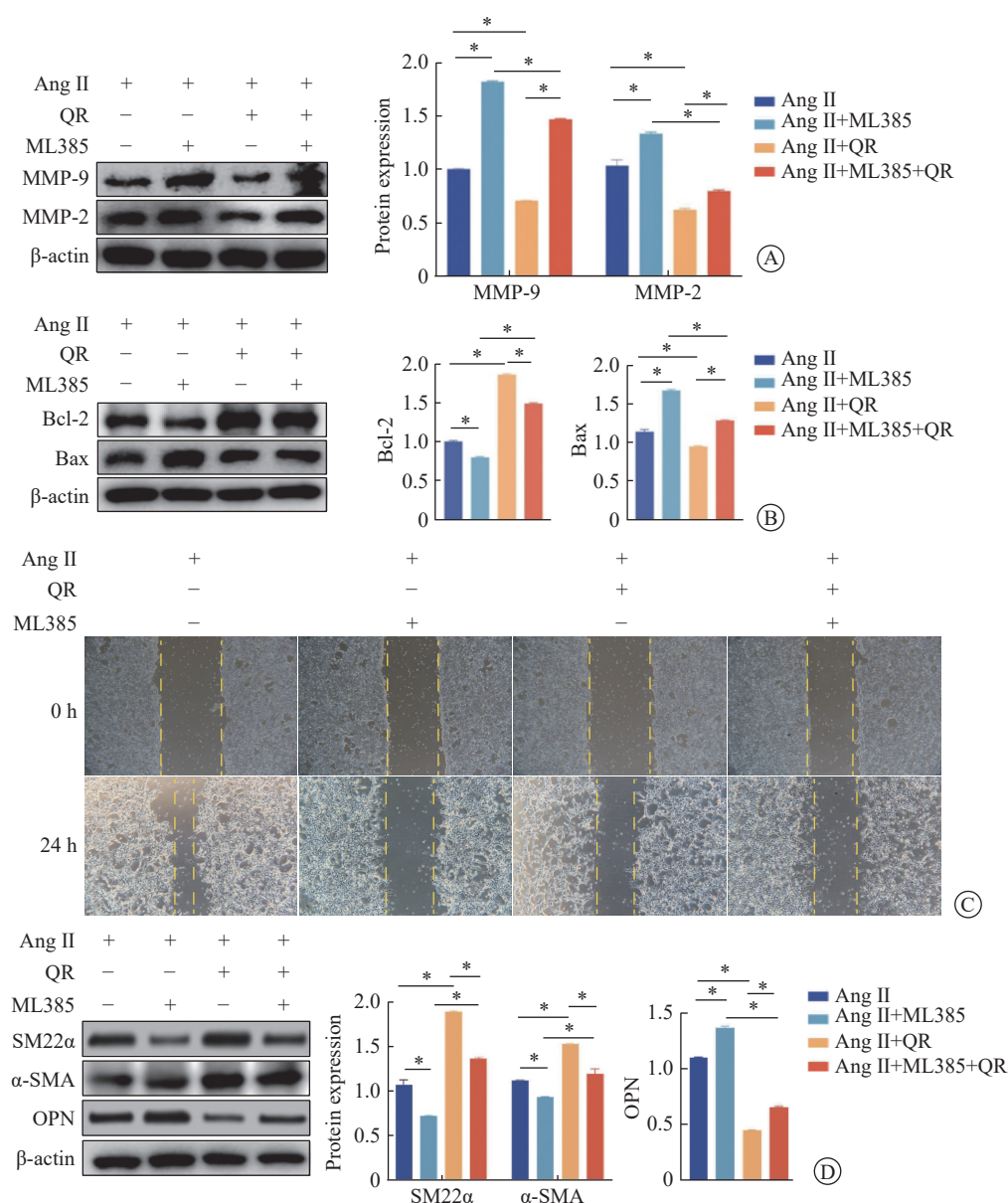


图6 QR通过激活Nrf2抑制MOVAS表型转化

Figure 6 QR inhibits phenotypic transformation of MOVAS induced by Ang II via activating Nrf2

A, B: The level of matrix metalloproteinase (MMP)-9, MMP-2 and apoptosis-related proteins (relative to Ctrl group); C: Migration ability, scale bar=200 μm; D: The level of phenotypic transformation-related proteins (relative to Ctrl group). QR: quercetin; Ang II: angiotensin II; Bcl-2: B-cell lymphoma-2; Bax: Bcl-2-associated X protein; SM22α: smooth muscle protein 22 alpha; α-SMA: α-smooth muscle actin; OPN: osteopontin. $n=3$, $\bar{x} \pm s$, * $P<0.05$.

目前，IA的临床治疗以有创治疗为主。此外，由于IA起病隐匿，发现时多数病情凶险。QR对VSMCs的保护作用使其具有非侵入性治疗IA的潜力，尤其是对可确诊的微小动脉瘤，通过

减缓VSMCs的损伤，可能在一定程度上延缓动脉瘤增大或破裂。但本研究也存在一定局限性：仅在体外实验中初步探究了QR对Nrf2/HO-1信号通路的作用，QR的作用机制及其上下游通路仍

待明确。此外,缺乏体内实验验证结果。本研究后续将结合 QR 的药理学作用,通过体内 IA 模型探讨 QR 预防 IA 形成与破裂的作用机制,进一步探索 QR 对 Nrf2 的调控机制,并对 QR 在体内的抗 IA 效果,以及如何利用 QR 更有效地保护脑血管系统进行研究。

综上所述,本研究发现 QR 通过促进 Nrf2 转录,减轻 Ang II 诱导的 VSMCs 氧化应激和炎症损伤,抑制 VSMCs 细胞外基质重塑,调控表型转化,从而恢复 VSMCs 的收缩功能。本研究为 QR 在 IA 预防和治疗中的应用提供了新的理论基础,为后续研究提供了新方向。

伦理声明 无。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献 阿捕都热西提·麦麦提依明: 实施研究、资料收集、数据统计、撰写论文; 朱巍: 设计课题、指导研究、修改论文。

参考文献

- [1] VLAK M H, ALGRA A, BRANDENBURG R, et al. Prevalence of unruptured intracranial aneurysms, with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: a systematic review and meta-analysis[J]. 2011, 10(7): 626-636.
- [2] CLAASSEN J, PARK S. Spontaneous subarachnoid haemorrhage[J]. *Lancet*, 2022, 400(10355): 846-862.
- [3] CEBRAL J, OLLIKAINEN E, CHUNG B J, et al. Flow conditions in the intracranial aneurysm lumen are associated with inflammation and degenerative changes of the aneurysm wall[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2017, 38(1): 119-126.
- [4] KHAN D, CORNELIUS J F, MUHAMMAD S. The role of NF- κ B in intracranial aneurysm pathogenesis: a systematic review[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(18): 14218.
- [5] FRÖSEN J, CEBRAL J, ROBERTSON A M, et al. Flow-induced, inflammation-mediated arterial wall remodeling in the formation and progression of intracranial aneurysms[J]. *Neurosurg Focus*, 2019, 47(1): E21.
- [6] CHALOUHI N, ALI M S, JABBOUR P M, et al. Biology of intracranial aneurysms: role of inflammation[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32(9): 1659-1676.
- [7] ALEXANDER M R, OWENS G K. Epigenetic control of smooth muscle cell differentiation and phenotypic switching in vascular development and disease[J]. *Annu Rev Physiol*, 2012, 74: 13-40.
- [8] FRÖSEN J. Smooth muscle cells and the formation, degeneration, and rupture of saccular intracranial aneurysm wall—a review of current pathophysiological knowledge[J]. *Transl Stroke Res*, 2014, 5(3): 347-356.
- [9] ALI M S, STARKE R M, JABBOUR P M, et al. TNF- α induces phenotypic modulation in cerebral vascular smooth muscle cells: implications for cerebral aneurysm pathology[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(10): 1564-1573.
- [10] VLAK M H M, RINKEL G J E, GREEBE P, et al. Trigger factors and their attributable risk for rupture of intracranial aneurysms: a case-crossover study[J]. *Stroke*, 2011, 42(7): 1878-1882.
- [11] KENSLER T W, WAKABAYASHI N, BISWAL S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007, 47: 89-116.
- [12] PAJARES M, JIMÉNEZ-MORENO N, GARCÍA-YAGÜE Á J, et al. Transcription factor NFE2L2/NRF2 is a regulator of macroautophagy genes[J]. *Autophagy*, 2016, 12(10): 1902-1916.
- [13] PAJARES M, CUADRADO A, ROJO A I. Modulation of proteostasis by transcription factor NRF2 and impact in neurodegenerative diseases[J]. *Redox Biol*, 2017, 11: 543-553.
- [14] TAHA H, SKRZYPEK K, GUEVARA I, et al. Role of heme oxygenase-1 in human endothelial cells: lesson from the promoter allelic variants[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(8): 1634-1641.
- [15] CHEN X L, DODD G, THOMAS S, et al. Activation of Nrf2/ARE pathway protects endothelial cells from oxidant injury and inhibits inflammatory gene expression[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 290(5): H1862-H1870.
- [16] FREIGANG S, AMPENBERGER F, SPOHN G, et al. Nrf2 is essential for cholesterol crystal-induced inflammasome activation and exacerbation of atherosclerosis[J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41(7): 2040-2051.
- [17] SHI Y, LI S C, SONG Y Y, et al. Nrf-2 signaling inhibits intracranial aneurysm formation and progression by modulating vascular smooth muscle cell phenotype and function[J]. *J Neuroinflammation*,

- 2019, 16(1): 185.
- [18] SULTANA B, ANWAR F. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants[J]. *Food Chem*, 2008, 108(3): 879-884.
- [19] AICHER B O, ZHANG J, MURATOGLU S C, et al. Moderate aerobic exercise prevents matrix degradation and death in a mouse model of aortic dissection and aneurysm[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2021, 320(5): H1786-H1801.
- [20] BOOTS A W, HAENEN G R M M, BAST A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 585(2-3): 325-337.
- [21] ISMAIL M, AL-NAQEEP G, CHAN K W. *Nigella sativa* thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats[J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48(5): 664-672.
- [22] TIM CUSHNIE T P, LAMB A J. Antimicrobial activity of flavonoids[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2005, 26(5): 343-356.
- [23] PANTHONG A, KANJANAPOTHI D, TUNTIWACHWUTTIKUL P, et al. Antiinflammatory activity of flavonoids[J]. *Phytomedicine*, 1994, 1(2): 141-144.
- [24] FRIEDMAN M. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2007, 51(1): 116-134.
- [25] RÍOS J L, RECIO M C. Medicinal plants and antimicrobial activity[J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 100(1-2): 80-84.
- [26] DABEEK W M, MARRA M V. Dietary quercetin and kaempferol: bioavailability and potential cardiovascular-related bioactivity in humans[J]. *Nutrients*, 2019, 11(10): 2288.
- [27] WANG D, ALI F, LIU H X, et al. Quercetin inhibits angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation and activation of JAK2/STAT3 pathway: a target based networking pharmacology approach[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1002363.
- [28] GAO R J, AIKEREMU N, CAO N, et al. Quercetin regulates pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension by downregulating TGF- β 1-Smad2/3 pathway[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2024, 24(1): 535.
- [29] CUI W, LENG B, WANG G P. Klotho protein inhibits H₂O₂-induced oxidative injury in endothelial cells via regulation of PI3K/AKT/Nrf2/HO-1 pathways[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2019, 97(5): 370-376.
- [30] WANG J J, YE W L, ZOU J M, et al. Targeting the smooth muscle cell Keap1-Nrf2-GSDMD-pyroptosis axis by cryptotanshinone prevents abdominal aortic aneurysm formation[J]. *Theranostics*, 2024, 14(17): 6516-6542.
- [31] XIAO X Y, LI C L, HUANG X J, et al. Single-cell RNA sequencing reveals that NRF2 regulates vascular smooth muscle cell phenotypic switching in abdominal aortic aneurysm[J]. *FASEB J*, 2024, 38(13): e23707.
- [32] SONG H Y, XU T, FENG X F, et al. Itaconate prevents abdominal aortic aneurysm formation through inhibiting inflammation via activation of Nrf2[J]. *EBioMedicine*, 2020, 57: 102832.
- [33] HASAN M, AL-THANI H, EL-MENYAR A, et al. Disturbed hemodynamics and oxidative stress interaction in endothelial dysfunction and AAA progression: focus on Nrf2 pathway[J]. *Int J Cardiol*, 2023, 389: 131238.

[本文编辑] 孙梦瑶

引用本文

阿捕都热西提·麦提依明, 朱巍. 槲皮素通过 Nrf2/HO-1 通路改善血管紧张素 II 诱导的血管平滑肌细胞表型转化[J]. 中国临床医学, 2025, 32(4): 593-603.

ABDURESHIT M, ZHU W. Quercetin regulates phenotypic transformation of vascular smooth muscle cells induced by angiotensin II through Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Chin J Clin Med*, 2025, 32(4): 593-603. DOI: [10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20250453](https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20250453)