

蜈蚣提取物激活 PI3K/Akt 促内皮增殖作用

曾 晓^{1,2}, 袁梦璐^{1,2}, 谭月晴^{1,2}, 崔倩倩^{1,2}, 金桂兰^{1,2}

1. 三峡大学第一临床医学院·宜昌市中心人民医院药学部, 湖北 宜昌 443000

2. 三峡大学药物制剂研究所, 湖北 宜昌 443000

摘要: **目的** 探讨蜈蚣提取物 (SSE) 对人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 增殖和凋亡的影响及其与磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号通路的关系。**方法** MTT 法检测 SSE (2、4、8、10、20、40、80、100 mg·mL⁻¹)、H₂O₂ (0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mmol·L⁻¹) 对 HUVECs 活力的影响, 筛选后续造模及给药浓度; 采用 H₂O₂ (0.6 mmol·L⁻¹) 建立 HUVECs 的细胞损伤模型, 设置对照和 SSE 10、50、100 mg·mL⁻¹ 组。MTT 法检测细胞活力; 流式细胞术分析细胞凋亡率; Western blotting 检测 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 及血管内皮生长因子 (VEGF)、缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 表达; 使用 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 干预以验证通路相关性。**结果** 与对照组相比, SSE 在 ≤ 100 mg·mL⁻¹ 时对 HUVECs 无显著细胞毒性; 0.4~1.0 mmol·L⁻¹ 的 H₂O₂ 显著降低了 HUVECs 的细胞存活率 ($P < 0.01$), 且呈浓度相关性, 0.6 mmol·L⁻¹ H₂O₂ 处理组的细胞活力约为 65%。与模型组相比, SSE 100 mg·mL⁻¹ 显著促进 HUVECs 增殖 ($P < 0.01$), 抑制细胞凋亡 ($P < 0.01$), 下调 Bax 表达 ($P < 0.01$), 上调 Bcl-2、HIF-1 α 和 VEGF 水平 ($P < 0.01$), 并提高 p-Akt/Akt、p-PI3K/PI3K ($P < 0.01$)。LY294002 处理可显著削弱上述效应 ($P < 0.01$)。**结论** SSE 可通过激活 VEGF-PI3K/Akt 信号通路促进 HUVECs 增殖并抑制其凋亡。

关键词: 蜈蚣提取物; 人脐静脉内皮细胞; PI3K/Akt 信号通路; 血管内皮生长因子; 凋亡

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)08-2636-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.08.002

Scolopendra subspinipes extract promotes endothelial cell proliferation via activation of PI3K/Akt pathway

ZENG Xiao^{1,2}, YUAN Menglu^{1,2}, TAN Yueqing^{1,2}, CUI Qianqian^{1,2}, JIN Guilan^{1,2}

1. Department of Pharmacy, the First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University · Yichang Central People's Hospital, Yichang 443000, China

2. Institute of Pharmaceutical Preparation, China Three Gorges University, Yichang 443000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of *Scolopendra subspinipes* extract (SSE) on proliferation and apoptosis of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) and its association with the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway. **Methods** MTT assay was used to evaluate the effects of SSE (2, 4, 8, 10, 20, 40, 80, 100 mg·mL⁻¹) and H₂O₂ (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mmol·L⁻¹) on HUVEC viability, to screen suitable concentrations for subsequent model establishment and drug administration. An H₂O₂ (0.6 mmol·L⁻¹)-induced HUVECs injury model was established, followed by treatment with SSE at 10, 50, and 100 mg·mL⁻¹. Cell viability was assessed by MTT assay; Apoptosis was analyzed by flow cytometry; Protein expression of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt ratios, vascular endothelial growth factor (VEGF), hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), and Bcl-2-associated X (Bax) was detected by Western blotting. The PI3K-specific inhibitor LY294002 was used to confirm pathway involvement. **Results** Compared with control group, SSE showed no significant cytotoxicity to HUVECs at concentrations ≤ 100 mg·mL⁻¹. 0.4—1.0 mmol·L⁻¹ of H₂O₂ significantly reduced the cell viability of HUVECs ($P < 0.01$), and the effect was concentration-dependent. The cell viability of the 0.6 mmol·L⁻¹ H₂O₂ treatment group was approximately 65%. Compared with the model group, SSE at 100 mg·mL⁻¹ significantly promoted HUVEC proliferation ($P < 0.01$), inhibited apoptosis ($P < 0.01$), downregulated Bax ($P < 0.01$), and upregulated Bcl-2, HIF-1 α , and VEGF ($P < 0.01$), along with increased p-Akt/Akt and p-PI3K/PI3K ratio ($P < 0.01$). These effects were markedly

收稿日期: 2026-03-11

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82304470); 湖北省宜昌市医疗卫生科研项目 (A15301-17)

作者简介: 曾 晓, 硕士, 主管药师, 从事临床药理学及中药药理学研究。E-mail: 253789214@qq.com

attenuated by LY294002 pretreatment. **Conclusion** SSE promotes proliferation and suppresses apoptosis in HUVECs via activation of the VEGF-PI3K/Akt signaling pathway, and this effect relies on PI3K/Akt pathway activation.

Key words: *Scolopendra subspinipes* extract; human umbilical vein endothelial cells; PI3K/Akt signaling pathway; vascular endothelial growth factor; apoptosis

血管稳态失衡是多种泛血管疾病发生发展的核心环节,其中血管内皮细胞的功能状态直接决定了血管的健康与病变^[1]。在病理条件下,氧化应激引发的内皮损伤是导致心脑血管疾病及肿瘤血管异常生成的关键机制^[2-4]。因此,探寻能够维持内皮细胞稳态、抵抗氧化损伤的干预策略,不仅是深入理解血管生物学机制的理论需求,也具有的重要的临床转化价值。中医药因其整体调节与多靶点作用的优势,在调控血管生成领域受到广泛关注。

蜈蚣 *Scolopendra subspinipes mutilans* L. Koch 作为传统活血通络中药^[5],在临床实践中展现出对心脑血管系统的保护作用^[6-10],但其在氧化应激环境下对血管内皮细胞保护作用的深层机制尚不清晰,特别是对于磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号通路及其与缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)/血管内皮生长因子 (VEGF) 轴的交互调控缺乏系统性研究。针对这一现状,本研究不再局限于现象描述,而是聚焦于分子机制的解析。本研究采用 H₂O₂ 诱导的人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 损伤模型,旨在揭示蜈蚣提取物 (SSE) 是否通过激活 PI3K/Akt 信号通路,进而调控 HIF-1 α 和 VEGF 的表达,最终发挥促增殖与抗凋亡作用。本研究的开展将为阐明蜈蚣治疗血管相关疾病的科学内涵提供参考,同时也为基于内皮细胞稳态调节的创新药研发提供新的思路。

1 材料

1.1 药物

实验用蜈蚣为蜈蚣科动物少棘巨蜈蚣 *S. subspinipes mutilans* L. Koch 的干燥体,又称金头蜈蚣,购自亳州市华云中药饮片有限公司,批号 180801,经三峡大学第一临床医学院中医科陈思翰主任鉴定为正品。取蜈蚣药材 100 g 打成细粉,加入 1 000 mL 蒸馏水 90 °C 恒温水浴搅拌 4 h 后滤过。残渣加入 500 mL 蒸馏水,重复上述步骤,滤过,合并滤液,浓缩滤液。向浓缩液缓慢加入 5 倍体积的 95% 乙醇,混匀,体系乙醇理论体积分数约 79%,静置醇沉,滤过收集沉淀。沉淀物经 50 °C 加热减压浓缩,于通风橱中挥干残余乙醇后冻干,获得 SSE。参文献报道方法^[11-12]对 SSE 进行质量控制:经福林酚法

测定,SSE 中总蛋白质量分数为 58.2%;经苯酚-硫酸法测定,SSE 中总糖质量分数为 12.3%。

1.2 试剂

胎牛血清 (美国 Gibco 公司,货号 10270-106); DMEM (高糖) 培养基和噻唑蓝 (江苏凯基生物技术股份有限公司,货号 KGM12800-500、KGT5251); VEGF 小鼠单克隆抗体、Akt 小鼠单克隆抗体、磷酸化 Akt (p-Akt) 小鼠单克隆抗体、HIF-1 α 和 β -肌动蛋白 (β -actin) 小鼠单克隆抗体 (美国 Santa Cruz 公司,货号 sc-7269、sc-81434、sc-81433、sc-13515、sc-47778); PI3K 兔多克隆抗体、磷酸化 PI3K (p-PI3K) 兔多克隆抗体、B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2) 小鼠单克隆抗体、Bcl-2 相关 X (Bax) 小鼠单克隆抗体、辣根过氧化物酶 (HRP) 标记山羊抗小鼠二抗、HRP 标记山羊抗兔二抗 (北京博奥森生物技术有限公司,货号 bs-20611R、bs-3332R、bsm-33279M、bsm-33047M、bs-0368G-HRP、bs-0295G-HRP); 放射免疫沉淀分析 (RIPA) 裂解液和二喹啉甲酸 (BCA) 蛋白浓度测定盒 (上海碧云天生物技术有限公司,货号 P0013B 和 P0010); 高灵敏增强化学发光液 (ECL 化学发光液) (上海天能科技有限公司,货号 180-501); PI3K 特异性抑制剂 LY294002,购自 MedChemExpress (MCE),货号 HY-10108。

1.3 细胞

原代 HUVECs,购自中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心,该细胞系提取自新生儿脐带静脉组织。本研究使用的为商业化获取的细胞系,且供体在样本采集前已签署知情同意书,符合《赫尔辛基宣言》及相关伦理准则,根据相关法规,本研究免除伦理审查。

1.4 仪器

Nikon 荧光倒置显微镜 (日本 Nikon 公司); 荧光定量 PCR 仪 (Funglyn Biotech 公司); 电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); 28.5 °C 培养箱 (德国 Heraeus 公司)。

2 方法

2.1 SSE 细胞毒性实验及 H₂O₂ 诱导 HUVECs 损伤模型的建立

将 HUVECs 汇合到 80% 左右,使用 0.25% 胰酶-乙二胺四乙酸 (EDTA) 消化,按照每孔 5 000 个

的密度接种在 96 孔板中,待 HUVECs 过夜贴壁后,设置对照组(常规培养,不干预)和 SSE 组。SSE 组按照 SSE 终质量浓度 2、4、8、10、20、40、80、100 mg·mL⁻¹ 给药,设置 6 个复孔。

将 HUVECs 按照每孔 5 000 个的密度接种在 96 孔板中,待 HUVECs 过夜贴壁后,设置对照组和 H₂O₂ (0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mmol·L⁻¹) 组,设置 6 个复孔。

24 h 后每孔加入 20 μL 四甲基偶氮唑盐(MTT)溶液(5 mg·mL⁻¹),置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中继续培养 4 h。培养结束后,弃去培养基,每孔加入 150 μL 二甲基亚砷(DMSO),并于孔板摇床上震荡 4 min,492 nm 读取吸光度(*A*)值,计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

2.2 SSE 对 H₂O₂ 诱导 HUVECs 损伤模型的影响

将 HUVECs 以每孔 5 000 个的密度接种于 96 孔板,过夜贴壁后,设置对照组(常规培养,不干预)、模型组和 SSE 低、中、高质量浓度(10、50、100 mg·mL⁻¹)组,每组设 6 个复孔。SSE 各质量浓度组用药干预 24 h 后,除对照组外,其余各组均加入 H₂O₂ 至终浓度 0.6 mmol·L⁻¹ 继续培养 4 h。弃上清,每孔加入 20 μL MTT 溶液(5 mg·mL⁻¹),37 °C 孵育 4 h。小心吸弃上清液,每孔加入 150 μL DMSO,避光振荡 10 min,使蓝紫色结晶充分溶解,于酶标仪 492 nm 波长处测定 *A* 值,计算细胞存活率。

2.3 PI3K 特异性抑制剂 LY 对 H₂O₂ 诱导 HUVECs 损伤模型及药物作用的影响

将 HUVECs 以每孔 5 000 个的密度接种于 96 孔板,过夜贴壁后,设置对照组(常规培养,不干预),模型组,LY 组(PI3K 抑制剂,40 μmol·L⁻¹),SSE 低、中、高质量浓度(10、50、100 mg·mL⁻¹)组,SSE 低、中、高质量浓度(10、50、100 mg·mL⁻¹) + LY (40 μmol·L⁻¹) 组,每组设 6 个复孔,分组加药干预 24 h 后。除对照组外,其余各组均加入 H₂O₂ 0.6 mmol·L⁻¹ 继续培养 4 h。弃上清,每孔加入 MTT 溶液(5 mg·mL⁻¹,每孔 100 μL),37 °C 孵育 4 h。移除 MTT,每孔加入 150 μL DMSO,避光振荡 10 min,于酶标仪 492 nm 波长处测定 *A* 值,计算细胞存活率。

2.4 Western blotting 检测凋亡相关蛋白和 PI3K/Akt 信号相关蛋白的表达

按照每孔 5×10⁴ 个的密度将 HUVECs 接种于

6 cm 培养皿中,待过夜贴壁后,组别设置按照“2.3”项进行,每组设置 6 个重复,给药 24 h 后,除对照组外,其余各组均加入 H₂O₂ (终浓度为 0.6 mmol·L⁻¹) 培养 4 h。培养结束后,于冰上使用 RIPA 裂解液提取蛋白,使用 BCA 法定蛋白后,按照每孔 20 μg 的总蛋白量上样。分别检测凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bax,以及 VEGF-PI3K/Akt 信号通路相关蛋白(VEGF、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、HIF-1α),β-actin 为内参蛋白,以目标蛋白与内参蛋白灰度值比值为蛋白相对表达量。

2.5 Annexin V/PI 流式细胞仪检测 HUVECs 凋亡情况

收集各组 HUVECs,以 5×10⁵ 的细胞密度分别接种于 6 孔板中,分组处理细胞 24 h 后,收集细胞,于 4 °C、1 000×g 离心 5 min,PBS 洗涤细胞 2 次,再次 1 000×g 离心 5 min,收集细胞,经膜联蛋白 V (Annexin V) 和碘化丙啶(PI)双染色后,用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.6 统计学方法

使用 Graph Prism 8 软件进行统计学分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 One-Way ANOVA 法进行组与组之间比较。

3 结果

3.1 SSE 对 HUVECs 细胞活力的影响

为确定 SSE 在后续实验中的安全给药浓度,采用 MTT 法检测了不同质量浓度 SSE 处理 24 h 后 HUVECs 的细胞活力。如图 1 所示,2、4、8、10、20、40、80、100 mg·mL⁻¹ SSE 处理组的细胞活力与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$),且相对细胞活力均保持在 91% 以上。这表明 SSE 在 ≤ 100 mg·mL⁻¹ 时对 HUVECs 无显著细胞毒性。基于上述结果,后续实验选取 100 mg·mL⁻¹ 作为高质量浓度组(即最大无毒浓度),并设置 50、10 mg·mL⁻¹ 作为中、低质量浓度组,以评估 SSE 在无细胞毒性质量浓度范围内的生物学效应。

3.2 H₂O₂ 致 HUVECs 氧化损伤模型的建立

为模拟体内血管内皮细胞的氧化应激损伤,采用不同浓度 H₂O₂ 刺激 HUVECs 4 h。如图 2 所示,与对照组相比,0.4~1.0 mmol·L⁻¹ 的 H₂O₂ 显著降低了 HUVECs 的细胞存活率($P < 0.01$),且呈浓度相关性。在考察的浓度中,0.6 mmol·L⁻¹ H₂O₂ 处理组的细胞活力约为 65%。该浓度能够造成显著的细胞活力下降(活力降低约 35%),处于评价药物保护

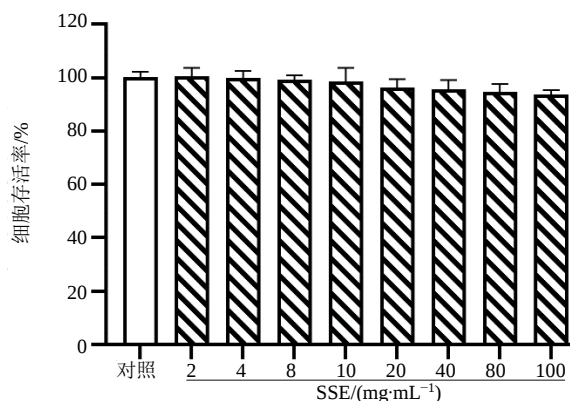
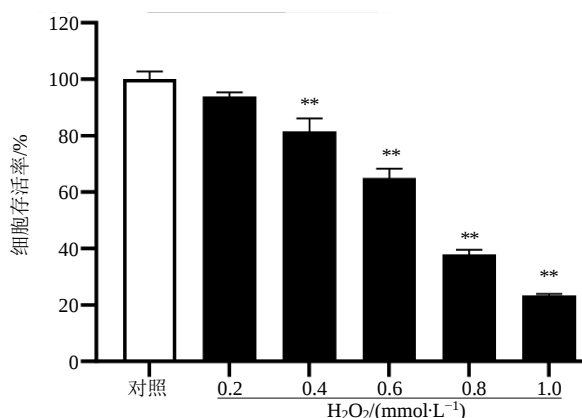


图 1 SSE 对 HUEVCs 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Fig. 1 Effect of SSE on viability of HUEVCs ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



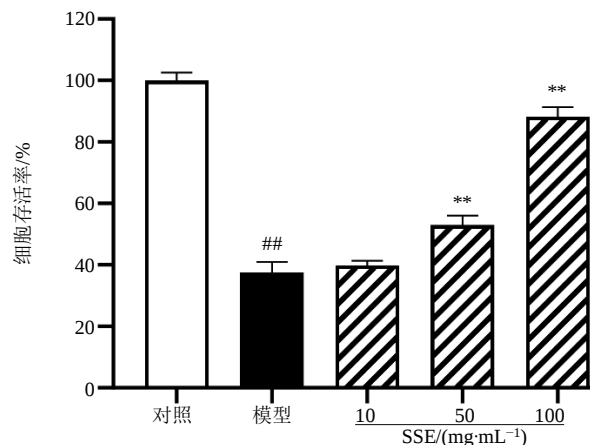
与对照组比较: ** $P<0.01$ 。
** $P<0.01$ vs control group.

图 2 H₂O₂ 对 HUVECs 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Fig. 2 Effect of H₂O₂ on viability of HUVECs ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

作用的最佳窗口期。此损伤程度既避免了低浓度 (0.4 mmol·L⁻¹) 损伤过轻导致无法观察药物效应, 又避免了高浓度 (≥ 0.8 mmol·L⁻¹) 导致细胞发生不可逆的大面积坏死。因此, 选择 0.6 mmol·L⁻¹ H₂O₂ 作为行后续实验的造模浓度最为适宜。

3.3 SSE 促进 H₂O₂ 损伤的 HUVECs 活力恢复

血管生成依赖于内皮细胞增殖^[13]。为评估 SSE 对 H₂O₂ 损伤后的 HUVECs 增殖活力的影响, 采用 MTT 法检测细胞代谢活性。如图 3 所示, 对照组细胞活力近 100%, 模型组显著降低 ($P<0.01$), 表明造模成功。与模型组相比, SSE 低质量浓度 (10 mg·mL⁻¹) 组细胞活力无显著变化 ($P>0.05$); SSE 中、高质量浓度 (50、100 mg·mL⁻¹) 组细胞活力明显升高 ($P<0.01$)。表明 SSE 以质量浓度相关性方式促进 HUVECs 从 H₂O₂ 损伤中恢复。



与对照组比较: ## $P<0.01$; 与模型组比较: ** $P<0.01$ 。
$P<0.01$ vs control group; ** $P<0.01$ vs model group

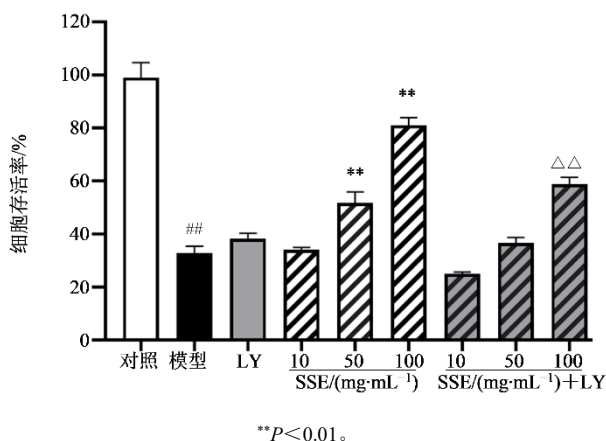
图 3 SSE 对 H₂O₂ 损伤 HUVECs 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Fig. 3 Effect of SSE on viability of H₂O₂-injured HUVECs ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3.4 PI3K 特异性抑制剂 LY 对 H₂O₂ 诱导 HUVECs 损伤模型及药物作用的影响

如图 4 所示, 与模型组比较, 用 LY 阻断 PI3K 后, HUVECs 细胞活力没有明显改变 ($P>0.05$); SSE 中、高质量浓度 (50、100 mg·mL⁻¹) 显著提高了 HUVECs 的细胞活力 ($P<0.01$)。SSE 高质量浓度+LY 组的细胞活力较单纯 SSE 高质量浓度组明显下降 ($P<0.01$), 说明 PI3K 抑制剂可削弱 SSE 对细胞活力的保护作用。

3.5 SSE 通过 PI3K/Akt-HIF-1 α 通路上调 VEGF 表达

VEGF 是血管生成的关键调控因子, 其已被报



** $P<0.01$ 。

图 4 LY 对 H₂O₂ 诱导 HUVECs 损伤模型及药物作用的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Fig. 4 Effect of LY on H₂O₂-induced HUVECs injury model and drug action ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

道可反馈激活 PI3K^[14], 前期实验表明 SSE 促进 HUVECs 增殖。为明确 SSE 对内皮保护的通路机制, 通过 Western blotting 检测 VEGF-PI3K/Akt-HIF-1 α 信号轴关键节点 (图 5)。结果提示, 与对照组比较, 0.6 mmol·L⁻¹ H₂O₂ 显著降低 VEGF、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt ($P<0.01$); 与模型组比较, SSE 高质量浓

度组 VEGF、HIF-1 α 表达显著升高 ($P<0.01$); 中、高质量浓度组 p-PI3K/PI3K 和低、中、高质量浓度组 p-Akt/Akt 显著升高 ($P<0.01$)。与等质量浓度 SSE 组比较, LY 阻断 SSE 对 VEGF、p-PI3K/PI3K、HIF-1 α 的升高作用 ($P<0.05, 0.01$), 阻断中质量浓度 SSE 对 p-Akt/Akt 的升高作用 ($P<0.01$)。

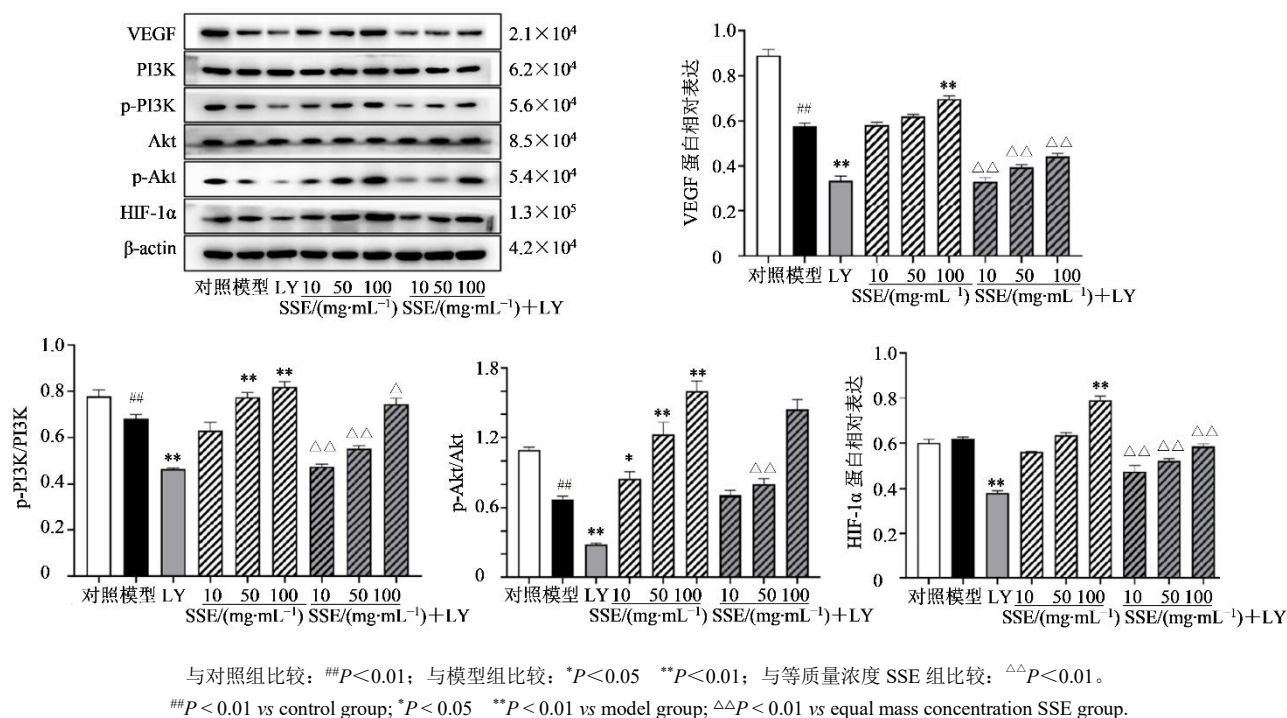


图 5 SSE 调控 PI3K/Akt-HIF-1 α -VEGF 信号通路表达 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 5 SSE activates PI3K/Akt-HIF-1 α -VEGF signaling cascade ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3.6 SSE 对 HUVECs 凋亡的影响

Bcl-2 家族蛋白 (如 Bax 和 Bcl-2) 的平衡是细胞凋亡的核心调控机制。Western blotting 检测结果显示, 与对照组比较, 模型组 Bax 蛋白表达显著增加, Bcl-2 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$); 与模型组相比, SSE 在 50、100 mg·mL⁻¹ 时可显著减少 HUVECs 内 Bax 蛋白的表达 ($P<0.01$), 并显著上调 Bcl-2 蛋白的表达水平 ($P<0.01$), 从而抑制 HUVECs 凋亡 (图 6)。与等质量浓度 SSE 组比较, LY 阻断高质量浓度 SSE 对 Bax 的下调作用 ($P<0.01$)。结果提示, SSE 可能通过调节 Bax/Bcl-2 平衡发挥抗凋亡作用, 结合 LY 对凋亡的逆转作用, 本研究提示 SSE 显著促进细胞增殖、抑制凋亡, 且这些作用可被 PI3K 特异性抑制剂 LY 削弱。

流式细胞术检测发现, 模型组 (H₂O₂ 损伤) 中 HUVECs 细胞的凋亡比例显著高于对照组 ($P<$

0.01); 而与模型组 (H₂O₂ 损伤) 相比, SSE 可降低凋亡细胞比例, 其中 SSE 高质量浓度 (100 mg·mL⁻¹) 组差异显著 ($P<0.01$); 与等质量浓度 SSE 组比较, LY 阻断高质量浓度 SSE 对凋亡率的下调作用 ($P<0.01$)。结果表明, SSE 能降低 H₂O₂ 处理后 HUVECs 细胞的凋亡比例, 而 LY 能阻断这种效果。见图 7。

4 讨论

血管生成是一个复杂的生理过程, 高度依赖于内皮细胞的增殖、迁移和管腔形成^[13]。VEGF 作为血管生成的核心调节因子, 不仅直接促进内皮细胞有丝分裂, 还能通过上调基质金属蛋白酶调节细胞外基质, 为血管新生创造条件^[14-15]。既往研究表明, VEGF 的表达与 PI3K/Akt 信号通路密切相关^[16-17]。Akt 作为 PI3K 的关键下游效应分子^[18], 其磷酸化激活不仅能通过上调 HIF-1 α 增强细胞在缺氧或应激环境下的耐受力^[19], 促进血管内皮细胞的存活^[20-21],

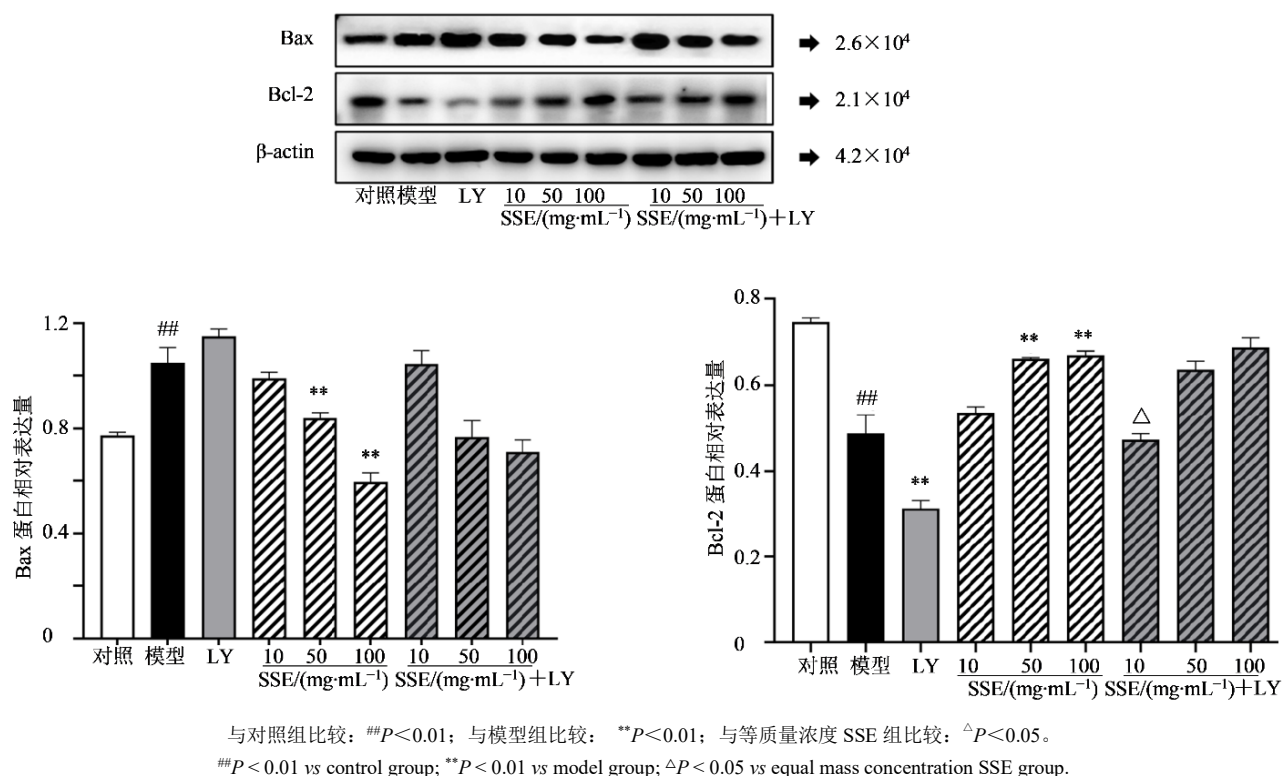


图 6 SSE 对 HUVECs 内 Bax、Bcl-2 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 6 Effect of SSE on expression of Bax and Bcl-2 in HUVECs ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

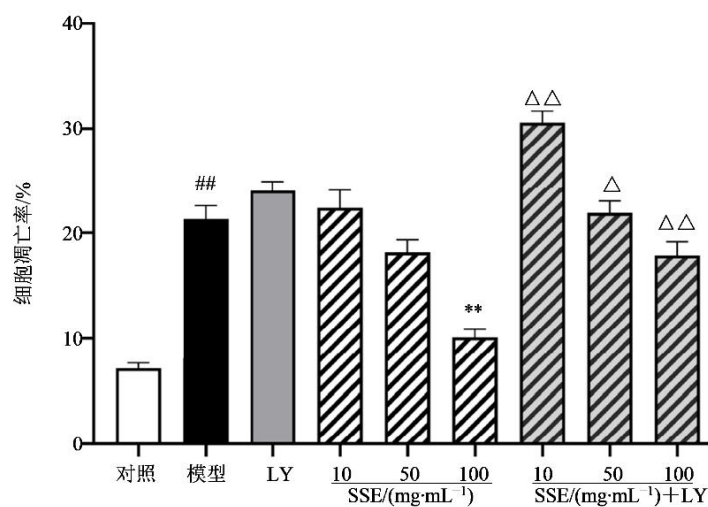
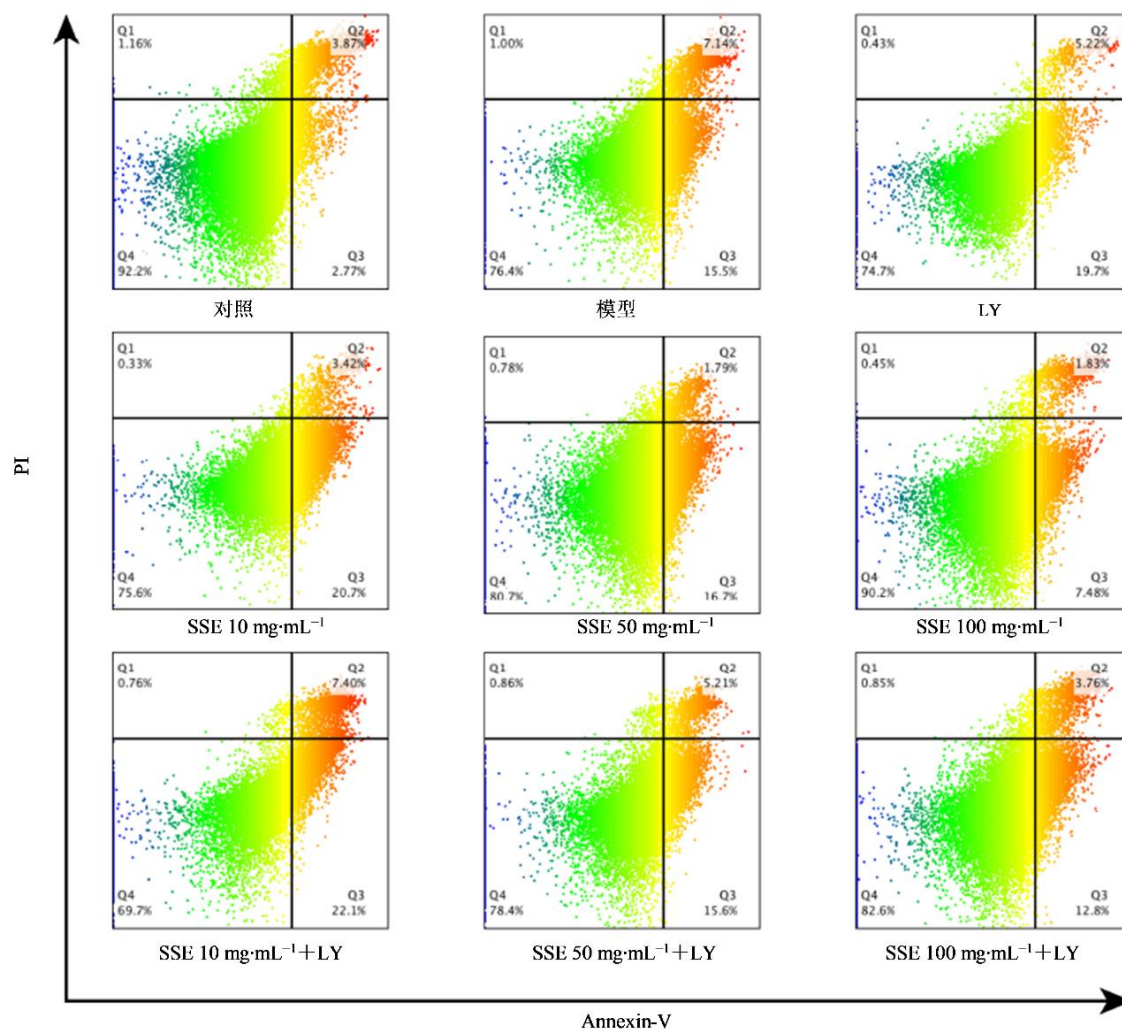
还能通过调节下游凋亡相关因子 Bcl-2/Bax 平衡发挥强效的抗凋亡作用^[22]。

本研究证实了 SSE 可显著改善 H_2O_2 诱导的 HUVECs 损伤, 具体表现为促进细胞增殖和抑制凋亡, 且呈浓度相关性。机制研究表明, SSE 通过上调 VEGF 表达, 进而激活 PI3K/Akt 信号通路 (p-PI3K/PI3K 及 p-Akt/Akt 升高), 最终导致 HIF-1 α 的积累和抗凋亡蛋白 Bcl-2 的上调。这一发现与既往关于蜈蚣多糖促内皮细胞增殖的报道一致^[23], 但本研究进一步明确了 VEGF-PI3K/Akt-HIF-1 α 这一级联反应在其中的核心驱动作用 (信号通路见图 8), 为其“活血通络”的传统功效提供了现代药理学解释。值得注意的是, 使用 PI3K 特异性抑制剂 LY 后, SSE 的保护作用被显著削弱, 这有力地证明了 SSE 的效应并非旁路代偿, 而是高度依赖于 PI3K/Akt 通路的激活。

关于 HIF-1 α 的表达, 本研究观察到 SSE 在氧化应激模型中显著上调了 HIF-1 α , 这与部分 SSE 在肺癌细胞中抑制 HIF-1 α 的报道相反^[24]。这种差异凸显了 HIF-1 α 功能的高度环境相关性: 在内皮损伤修复背景下, HIF-1 α 的适度、短暂升高是启动适应性血管生成的保护性机制; 而在持续缺氧的肿瘤

微环境中, 抑制 HIF-1 α 则可能成为遏制肿瘤血管异常增生的策略。本研究严格控制 H_2O_2 处理时间 (4h), 虽模型组未见 HIF-1 α 的显著波动 [与文献^[25]报道的早期 (1h) 峰值一致], 但 SSE 仍能有效提升其表达, 进一步佐证了 SSE 具有启动内皮修复程序的潜力。这也引出了对 SSE, 乃至许多血管活性物质“双面性”的深入思考: 即它们可能在不同病理生理背景下 (如细胞缺血和肿瘤生长) 发挥截然不同甚至看似矛盾的血管调控作用。

尽管本研究在细胞分子水平阐明了 SSE 的作用机制, 但仍需客观认识到体外实验的局限性。内皮细胞在体外培养环境中缺乏体内复杂的血流剪切力、细胞间相互作用 (如与平滑肌细胞、周细胞的通讯) 以及系统性代谢调控。因此, SSE 在体外表现出的促增殖和抗凋亡效应, 在体内复杂的病理生理环境中是否能转化为有效的血管新生和功能改善, 仍需进一步验证。例如, 在缺血性疾病 (如心肌梗死、下肢缺血) 模型中, SSE 是否能通过上述机制促进侧支循环建立, 或者在肿瘤模型 (如荷瘤小鼠) 中对血管生成带来潜在风险, 这些都是单纯细胞实验无法回答的问题。既往研究虽提示蜈蚣具有抗肿瘤^[4]和抗缺血^[2]的双重潜力, 但其具体



与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: ** $P < 0.01$; 与等质量浓度 SSE 组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ 。
$P < 0.01$ vs control group; ** $P < 0.01$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs equal mass concentration SSE group.

图 7 SSE 对 HUVECs 凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 7 Effect of SSE on apoptosis rate of HUVECs ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

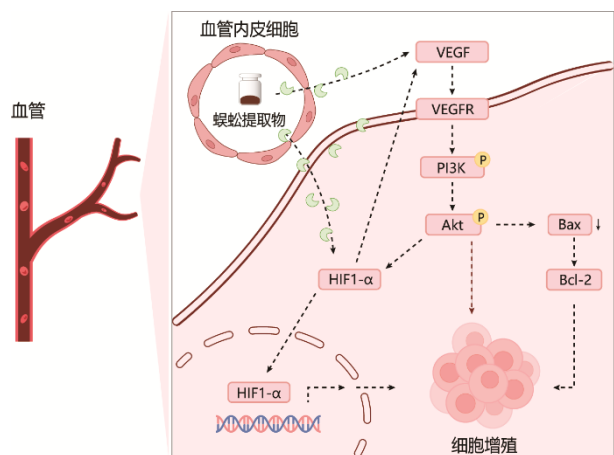


图 8 SSE 通过 PI3K/Akt 信号通路促进血管内皮细胞增殖的机制

Fig. 8 Mechanism by which SSE promotes endothelial cell proliferation through PI3K/Akt signaling pathway

活性成分在不同组织中的靶向性差异尚不明确。因此，未来的研究亟需引入动物模型（如小鼠后肢缺血模型或肿瘤移植模型），结合激光多普勒血流显像或微血管密度分析，以确证 SSE 在体内的生物学效应及安全性。

本研究还存在其他局限性：首先，SSE 为粗提物，成分复杂，具体发挥核心作用的单体成分（如多肽或多糖）尚未分离鉴定；其次，缺乏长期毒性评估。本研究为 SSE 作为血管保护剂的开发提供了坚实的分子生物学基础，但将其推向临床应用前，必须通过体内实验明确其促血管生成的“双刃剑”效应，并筛选出高活性、低风险的单体成分，以推动其从传统应用向精准现代化疗法转化。

本研究结果表明，SSE 可促进 H_2O_2 损伤的 HUVECs 增殖并抑制其凋亡，该作用通过 PI3K/Akt 信号通路实现。这一发现为理解 SSE 在血管保护中的传统应用提供了初步的分子机制依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Eelen G, Treps L, Li X R, et al. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis updated [J]. *Circ Res*, 2020, 127(2): 310-329.
- [2] Gentile A M, Lhamyani S, Mengual Mesa M, et al. A network comprised of miR-15b and miR-29a is involved in vascular endothelial growth factor pathway regulation in thymus adipose tissue from elderly ischemic cardiomyopathy subjects [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14456.

- [3] Zhao F, He Y N, Zhao Z H, et al. The Notch signaling-regulated angiogenesis in rheumatoid arthritis: Pathogenic mechanisms and therapeutic potentials [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1272133.
- [4] Jin Y, Peng Y Z, Xu J, et al. LUBAC promotes angiogenesis and lung tumorigenesis by ubiquitinating and antagonizing autophagic degradation of HIF1 α [J]. *Oncogenesis*, 2024, 13(1): 6.
- [5] 熊英琼, 程绍民, 刘端勇, 等. 全蝎蜈蚣在痹病治疗中的应用思路 [J]. *辽宁中医杂志*, 2011, 38(4): 793-795.
- Xiong Y Q, Cheng S M, Liu D Y, et al. Application of scorpion and centipede in the treatment of arthralgia [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2011, 38(4): 793-795.
- [6] Wang J S, Li X, Chen Z L, et al. Effect of leech-centipede medicine on improving erectile function in DIED rats via PKC signalling pathway-related molecules [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 267: 113463.
- [7] 陈昌瑜, 顾崇刚. 蜈蚣提取物(402)对心血管作用的实验观察 [J]. *中药药理与临床*, 1985, 1(0): 124-126.
- Chen C Y, Gu C G. Experimental observation on the cardiovascular effect of centipede extract (402) [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 1985, 1(0): 124-126.
- [8] 张乔, 刘东, 赵子佳, 等. 蜈蚣有效成分提取分离及药理作用研究进展 [J]. *吉林中医药*, 2016, 36(12): 1244-1246.
- Zhang Q, Liu D, Zhao Z J, et al. Extraction and separation of the effective components of centipede and pharmacological action [J]. *Jilin J Tradit Chin Med*, 2016, 36(12): 1244-1246.
- [9] 郑平香, 张贵平, 张维文. 少棘巨蜈蚣对某些动物血压的影响 [J]. *广州医学院学报*, 1996, 24(1): 17-19.
- Zheng P X, Zhang G P, Zhang W W. Effect of an extract from *Scolopendra subspinipes mutilans* on animal blood pressure [J]. *Acad J Guangzhou Med Coll*, 1996, 24(1): 17-19.
- [10] 司秋菊, 王亚利, 王鑫国, 等. 蜈蚣对心肌缺血性损伤小鼠 NO 及 iNOS 的影响 [J]. *山东中医杂志*, 2004, 23(8): 492-494.
- Si Q J, Wang Y L, Wang X G, et al. Effects of centipede on nitric oxide and nitric oxide synthase in mice after myocardial injury [J]. *Shandong J Tradit Chin Med*, 2004, 23(8): 492-494.
- [11] 鲍雯雯, 周国儿, 李彬. 不同生长年龄岱山金头蜈蚣体内蛋白质含量测定 [J]. *浙江中医杂志*, 2024, 59(5): 468-469.
- Bao W W, Zhou G E, Li B. Determination of protein

- content in the body of Daishan golden headed centipede at different growth aages [J]. Zhejiang J Tradit Chin Med, 2024, 59(5): 468-469.
- [12] 刘春雨, 刘玉慧, 李晓辉, 等. 蜈蚣粉发酵前后水溶性活性物质含量对比研究 [J]. 湖南中医杂志, 2016, 32(11): 167-169.
- Liu C Y, Liu Y H, Li X H, et al. Content of water-soluble active substances in centipede powder before and after fermentation: A comparative study [J]. Hunan J Tradit Chin Med, 2016, 32(11): 167-169.
- [13] Dudley A C, Griffioen A W. The modes of angiogenesis: An updated perspective [J]. Angiogenesis, 2023, 26(4): 477-480.
- [14] Apte R S, Chen D S, Ferrara N. VEGF in signaling and disease: Beyond discovery and development [J]. Cell, 2019, 176(6): 1248-1264.
- [15] Pulkkinen H H, Kiema M, Lappalainen J P, et al. BMP6/TAZ-Hippo signaling modulates angiogenesis and endothelial cell response to VEGF [J]. Angiogenesis, 2021, 24(1): 129-144.
- [16] Wang J L, Wu M H. The up-regulation of miR-21 by gastrodin to promote the angiogenesis ability of human umbilical vein endothelial cells by activating the signaling pathway of PI3K/Akt [J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 5402-5410.
- [17] Yilmaz A, Kliche S, Mayr-Beyrle U, et al. p38 MAPK inhibition is critically involved in VEGFR-2-mediated endothelial cell survival [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 306(3): 730-736.
- [18] Claesson-Welsh L, Welsh M. VEGFA and tumour angiogenesis [J]. J Intern Med, 2013, 273(2): 114-127.
- [19] Dong S H, Liang S, Cheng Z Q, et al. ROS/PI3K/Akt and Wnt/ β -catenin signalings activate HIF-1 α -induced metabolic reprogramming to impart 5-fluorouracil resistance in colorectal cancer [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 15.
- [20] Song S, Zhang G H, Chen X T, et al. HIF-1 α increases the osteogenic capacity of ADSCs by coupling angiogenesis and osteogenesis via the HIF-1 α /VEGF/AKT/mTOR signaling pathway [J]. J Nanobiotechnol, 2023, 21(1): 257.
- [21] Rattner A, Williams J, Nathans J. Roles of HIFs and VEGF in angiogenesis in the retina and brain [J]. J Clin Investig, 2019, 129(9): 3807-3820.
- [22] Xue Y, Cheng X, Ma Z Q, et al. Polystyrene nanoplastics induce apoptosis, autophagy, and steroidogenesis disruption in granulosa cells to reduce oocyte quality and fertility by inhibiting the PI3K/AKT pathway in female mice [J]. J Nanobiotechnol, 2024, 22(1): 460.
- [23] 李兴暖, 韩雅莉, 余卫国. 蜈蚣多糖对 HeLa 细胞的增殖抑制作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(7): 1571-1573.
- Li X N, Han Y L, Yu W G. Effects of polysaccharide from *Scolopendra subspinipes mutilans* on proliferation of hela cells [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2009, 20(7): 1571-1573.
- [24] Mao Q Y, Wang X Q, Lin F, et al. *Scorpiones, Scolopendra* and *Gekko* inhibit lung cancer growth and metastasis by ameliorating hypoxic tumor microenvironment via PI3K/AKT/mTOR/HIF-1 α signaling pathway [J]. Chin J Integr Med, 2024, 30(9): 799-808.
- [25] Li H S, Zhou Y N, Li L, et al. HIF-1 α protects against oxidative stress by directly targeting mitochondria [J]. Redox Biol, 2019, 25: 101109.

[责任编辑 兰新新]