

•基础研究•

•论著•

## 酪醇对过氧化氢诱导人黑素细胞氧化损伤的保护作用研究

郑水英<sup>1</sup>, 吴昊天<sup>1</sup>, 李其林<sup>1</sup>, 吴艳华<sup>2</sup>

(暨南大学附属广州红十字会医院 1.皮肤科; 2.中医科 广东 广州 510220)

**[摘要]**目的: 研究酪醇对过氧化氢( $H_2O_2$ )诱导人黑素细胞氧化损伤的保护作用。方法: MTS法检测 $H_2O_2$ 及 $H_2O_2$ 联合酪醇处理人黑素细胞的细胞活性, 建立氧化应激模型, 筛选合适的酪醇浓度。将黑素细胞分为对照组、 $H_2O_2$ 组、酪醇组和实验组, NaOH裂解法检测黑素细胞黑色素含量。图像分析软件检测黑素细胞树突变化率。流式细胞术测定黑素细胞凋亡和线粒体膜电位。荧光显微镜观察黑素细胞ROS水平。TBA法检测黑素细胞MDA水平。结果: 0.4 mmol/L  $H_2O_2$ 处理黑素细胞24 h可建立氧化应激模型, 酪醇的最适浓度为1 mmol/L。在 $H_2O_2$ 的氧化损伤下, 酪醇可增加黑素细胞活性, 降低 $H_2O_2$ 对黑素细胞黑色素合成和树突的影响, 抑制黑素细胞凋亡, 提高黑素细胞线粒体膜电位, 降低黑素细胞ROS和MDA水平。结论: 酪醇可减轻 $H_2O_2$ 诱导下黑素细胞的氧化损伤, 对氧化应激损伤的黑素细胞具有保护作用。

**[关键词]** 白癜风; 酪醇; 氧化应激; 黑素细胞; 过氧化氢; 保护作用

**[中图分类号]** R758.41 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-6455(2025)11-0027-06

## Study on Protective Effect of Tyrosol Against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Damage in Human Melanocytes

ZHENG Shuiying<sup>1</sup>, WU Haotian<sup>1</sup>, LI Qilin<sup>1</sup>, WU Yanhua<sup>2</sup>

(1. Department of Dermatology, 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou Red Cross Hospital of Jinan University, Guangzhou 510220, Guangdong, China)

**Abstract:** **Objective** To study the protective effect of tyrosol against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in human melanocytes. **Methods** Melanocytes were treated with  $H_2O_2$  and  $H_2O_2$  combined with tyrosol to detect the viability by MTS. Based on the results above, we build oxidative stress model and screen the appropriate concentration of tyrosol. Cultured melanocytes were divided into the control group, tyrosol group,  $H_2O_2$  group and experimental group. Melanin synthesis of melanocytes was detected by NaOH pyrolysis method. The dendrites of melanocytes was measured by image analysis software. The apoptosis and mitochondrial membrane potential (MMP) of melanocytes was detected by flow cytometry. Fluorescence microscopy to observe the effect of tyrosol on ROS of melanocytes. MDA of melanocytes was detected by TBA. **Results** 0.4 mmol/L  $H_2O_2$  was used to treat melanocytes for 24 h to establish oxidative stress model. The optimum concentration of tyrosol was 1 mmol/L. Tyrosol increased the viability of melanocytes under oxidative stress. Tyrosol can increase melanin synthesis and promote dendrites of melanocytes under oxidative stress. Tyrosol can inhibit the apoptosis of melanocytes and improve the MMP of melanocytes under oxidative stress. Tyrosol can decrease ROS and MDA levels of melanocytes under oxidative stress. **Conclusion** Tyrosol can reduce  $H_2O_2$ -induced oxidative damage in melanocytes and protect melanocytes from oxidative damage.

**Keywords:** vitiligo; tyrosol; oxidative stress; melanocytes; hydrogen peroxide

白癜风以皮肤或黏膜局部色素减退或脱失为特征<sup>[1]</sup>。白癜风的发病机制尚未完全阐明, 目前有遗传学说、自身免疫学说、氧化应激学说、神经化学因子学说、黑素细胞自毁学说等多种学说<sup>[2]</sup>。氧化应激是白癜风发生发展中的

一个重要环节<sup>[3]</sup>。Mathachan SR<sup>[4]</sup>等发现白癜风患者血清和皮损标本中 $H_2O_2$ 水平均显著升高。有研究发现白癜风患者血清中过氧化氢酶活性、谷胱甘肽过氧化物酶活性、谷胱甘肽s-转移酶活性明显低于对照, 丙二醇明显高于对照<sup>[5]</sup>。氧化

基金项目: 广东省自然科学基金项目(编号: 2023A1515011701)

通信作者: 吴艳华, 主任医师; 研究方向为色素性皮肤病。E-mail: wuyanhua368@163.com

共同通信作者: 李其林, 主任医师; 研究方向为色素性皮肤病。E-mail: qlli\_cn@163.com

第一作者: 郑水英, 住院医师; 研究方向为色素性皮肤病。E-mail: 1152990075@qq.com

应激是黑素细胞损伤的初始触发因素<sup>[6]</sup>。内、外各种因素引起机体ROS蓄积,抗氧化能力下降,导致氧化-抗氧化系统失衡,引起机体内脂质过氧化、DNA损伤、蛋白质变性、线粒体和内质网等细胞器出现氧化损伤,直接诱发黑素细胞损伤,诱发自身抗原释放,通过自身免疫加重黑素细胞损伤<sup>[7-8]</sup>。

酪醇是一种天然酚类化合物,广泛存在于橄榄油、女贞子和红景天等植物中<sup>[9-10]</sup>。既往研究发现酪醇可增强黑素细胞黑素合成,促进黑素细胞黏附和迁移<sup>[11-12]</sup>。研究显示酪醇在多种疾病的研究中具有抗氧化的作用<sup>[13-14]</sup>,但其对黑素细胞氧化损伤的保护作用尚未明确。本研究用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理人表皮黑素细胞建立氧化应激模型,探讨酪醇对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导人表皮黑素细胞氧化损伤的保护作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料和试剂

1.1.1 细胞来源:人表皮黑素细胞来源于7~25岁健康男性包皮环切术后的包皮组织,由暨南大学附属广州红十字会医院泌尿外科提供。

1.1.2 实验试剂:人黑素细胞生长添加剂-2 (HMGS-2)、M254培养基和胎牛血清产自美国Gibco公司。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、酪醇、Dispase II 分离酶和0.25%胰蛋白酶-EDTA溶液产自美国Sigma公司。MTS产自美国Promega公司。BCA蛋白浓度测定试剂盒、Annexin V-FITC/PI、线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)和DCFH-DA试剂盒产自碧云天生物技术有限公司。MDA测试试剂盒产自Solarbio公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 黑素细胞的培养与鉴定(L-DOPA 染色法):收集包皮标本,70%酒精浸泡10 min后冲洗。剪去真皮及皮下脂肪组织,剪成1 mm×10 mm的细条。添加0.25%的Dispase II 分离酶,消化18 h,复温1 h,分离表皮和真皮后冲洗。添加0.25%胰蛋白酶进行消化,过滤,离心,接种至无菌培养瓶中。24 h后第一次换液,2~3 d换液1次,培养至细胞90%融合状态时传代。取第3~5代进行实验。黑素细胞接种于盖玻片,待细胞贴壁,加入4%多聚甲醛固定细胞。将盖玻片浸润于L-DOPA染色液中染色,苏木素复染细胞核。

1.2.2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>最佳浓度和时间的筛选(MTS法):设立空白组(M254完全培养基);对照组(M254完全培养基+黑素细胞);实验组(M254完全培养基+黑素细胞+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)。空白组不接种细胞,对照组和实验组以1×10<sup>5</sup>/ml密度接种细胞至96孔板,每组3个复孔。培养24 h后,对照组和空白组不加H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,实验组分别加入0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mmol/L的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理24 h,每孔加入20 μl MTS 显色液,放置4 h。酶标仪波长设为490 nm,测量吸光度(A),记录数据(为减去空白组A的数值),细胞活力(%)=(实验组A值/对照组A值)×100%。筛选出最佳的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度。分组同前,细胞接种同上,每组3个复孔。培养24 h后,对照组和空白组不加

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,实验组加入最佳的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度分别处理4、8、16、24、36 h后,余处理同前,测定细胞活性。

1.2.3 酪醇最佳浓度的筛选:设立空白组(M254完全培养基);对照组(M254完全培养基+黑素细胞);H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组(M254完全培养基+黑素细胞+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>);实验组(M254完全培养基+黑素细胞+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+酪醇)。细胞接种同前,对照组和空白组不加H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组和实验组分别加入0.4 mmol/L的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理24 h后,空白组、对照组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组不加入酪醇,实验组分别加入0.25、0.5、1、2、4、8 mmol/L的酪醇处理24 h,余处理同前,测定细胞活性。

1.2.4 黑色素合成检测(NaOH裂解法):设立对照组(M254完全培养基+黑素细胞);酪醇组(M254完全培养基+黑素细胞+酪醇);H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组(M254完全培养基+黑素细胞+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>);实验组(M254完全培养基+黑素细胞+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+酪醇)。取细胞以2.5×10<sup>5</sup>/ml密度接种至6孔板,培养24 h后,对照组和酪醇组更换M254培养基,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组和实验组加入0.4 mmol/L的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理24 h后,对照组和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组更换M254培养基,酪醇组和实验组加入1 mmol/L的酪醇处理24 h。消化收集细胞,离心,弃上清,加入NaOH溶液混匀,于37℃水浴1 h,加入双蒸水混匀后置于96孔板中,每组重复4个复孔。设置空白对照组(NaOH溶液+双蒸水),酶标仪波长设为490 nm,测量吸光度(A),记录数据(为减去空白组A的数值),黑色素合成(%)=(药物处理组A值/对照组A值)×100%。

1.2.5 树突变化率检测:分组同上,细胞接种及细胞药物处理同上。应用显微镜观察每组处理前和处理后黑素细胞的树突情况。随机选择各组处理前和处理后的20个黑素细胞,用Image J软件测量黑素细胞树突长度。树突变化率=(起始长度-最终长度)/起始长度×100%。

1.2.6 细胞凋亡检测:分组同上,细胞接种及细胞药物处理同上。消化收集细胞,离心,弃上清,添加100 μl Binding Buffer,再添加2.5 μl Annexin V-FITC和2.5 μl PI混匀,室温避光15 min后,添加200 μl Binding Buffer混匀,用流式细胞仪分析。总凋亡细胞=早期凋亡细胞+晚期凋亡细胞。

1.2.7 线粒体膜电位检测:分组同前,细胞接种及细胞药物处理同前。消化收集细胞,离心,弃上清,加入300 μl JC-1染色工作液,混匀,室温避光15 min,离心,弃上清,加入500 μl JC-1染色缓冲液洗涤1次,加入300 μl JC-1染色缓冲液混匀后,用流式细胞仪分析。以红色荧光/绿色荧光的比值×100%表示线粒体膜电位。

1.2.8 细胞内ROS含量检测:分组同上,细胞接种及细胞药物处理同上。吸去培养基,PBS清洗,每孔加入1 ml稀释比例为1:1 000的无血清DCFH-DA,在37℃细胞培养箱避光20 min。清洗细胞。应用荧光显微镜观察黑素细胞荧光的强弱,拍照记录结果。

1.2.9 细胞内MDA含量检测:分组同上,细胞接种及细胞药物处理同上。消化收集细胞,加入200 μl 提取液,超声裂

解细胞，离心，收集上清液，用MDA提取液稀释5倍，根据试剂盒的说明书操作，计算样品的蛋白浓度。同时取适量的样品，根据试剂盒说明书操作，应用硫代巴比妥（TBA）法，计算细胞内MDA含量。

1.3 统计学分析：统计分析使用SPSS 13.0软件。用均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示计量资料，多组比较用完全随机设计资料的方差分析，Levene法进行方差齐性检验，方差齐性多重比较选用S-N-K法， $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 人表皮黑素细胞的培养与鉴定：培养24 h时细胞贴壁，显微镜下观察到梭形或树突状细胞，树突较少且较细长，少量圆形细胞和未贴壁的悬浮细胞。角质形成细胞和黑素细胞接近90%融合状态时传代，第3代后可获得纯化的黑素细胞，树突交织成网状。见图1。人表皮黑素细胞经左旋多巴染色后，树突和胞浆可呈棕褐色或灰黑色，呈阳性反应，证实为黑素细胞。见图2。

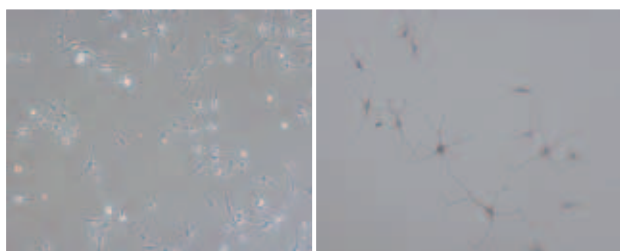
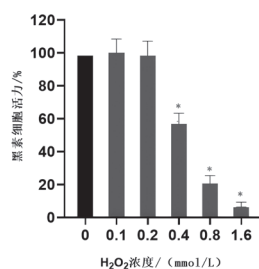


图1 正常人表皮黑素细胞形态 (100×) 图2 L-DOPA 染色阳性人表皮黑素细胞 (200×)

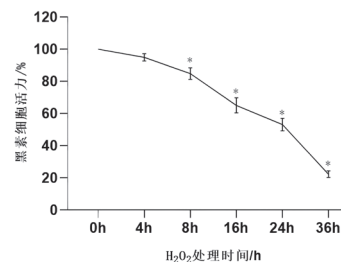
2.2  $H_2O_2$ 最佳浓度和时间的筛选结果：用不同浓度的 $H_2O_2$ 对黑素细胞进行处理，24 h后测定细胞活性。0.1 mmol/L、0.2 mmol/L的 $H_2O_2$ 与对照组的细胞活性差异无统计学意义。0.4~1.6 mmol/L的 $H_2O_2$ 处理细胞，黑素细胞活性显著下降 ( $P < 0.05$ )，见图3。0.4 mmol/L的 $H_2O_2$ 使细胞活性降低至正常细胞的 (58.31±5.04) %，因此选用0.4 mmol/L  $H_2O_2$ 刺激人表皮黑素细胞进行下一步实验。用0.4 mmol/L  $H_2O_2$ 处理黑素细胞，分别在0、4、8、16、24、36 h后测定细胞活性。 $H_2O_2$ 处理时间延长，细胞活力逐渐下降， $H_2O_2$ 处理24 h，黑素细胞活性显著降低 (53.14±3.92) % ( $P < 0.05$ )； $H_2O_2$ 处理36 h，黑素细胞活性降低更加明显 (22.28±2.07) % ( $P < 0.05$ )，出现过多黑素细胞死亡，见图4。0.4 mmol/L  $H_2O_2$ 处理黑素细胞24 h能诱导细胞出现氧化损伤，且能保留细胞50%左右的功能，因此选用0.4 mmol/L  $H_2O_2$ 处理人表皮黑素细胞24 h建立氧化应激模型。

2.3 酪醇最佳浓度的筛选结果：建立氧化应激模型后，用不同浓度的酪醇对黑素细胞进行处理，24 h后测定黑素细胞活性。 $H_2O_2$ 组黑素细胞活力明显下降，但与0.25 mmol/L酪醇组、2 mmol/L酪醇组、4 mmol/L酪醇



注：\*表示与对照组比较， $P < 0.05$

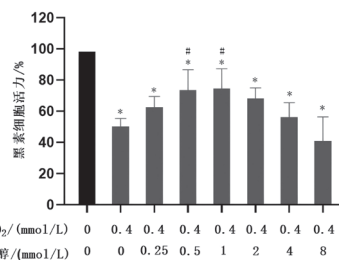
图3 不同 $H_2O_2$ 浓度对黑素细胞活性的影响



注：\*表示与对照组比较， $P < 0.05$

图4 不同 $H_2O_2$ 处理时间对黑素细胞活力的影响

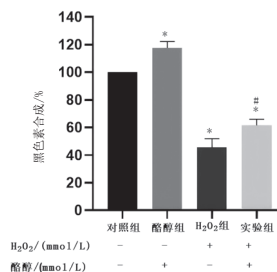
组、8 mmol/L酪醇组相比差异无统计学意义；0.5 mmol/L酪醇组、1 mmol/L酪醇组细胞活性与 $H_2O_2$ 组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )，且1 mmol/L酪醇组细胞活性 (76.45±10.82) %高于其他实验组。见图5。因此选用1 mmol/L的酪醇进行下一步实验。



注：\*表示与对照组比较， $P < 0.05$ ；#表示与 $H_2O_2$ 组比较， $P < 0.05$

图5 不同酪醇浓度对 $H_2O_2$ 诱导下黑素细胞活性的影响

2.4 黑色素合成检测结果： $H_2O_2$ 组黑色素合成 (45.51±6.34) %比对照组 (100%) 显著减少 ( $P < 0.05$ )，酪醇组 (117.57±4.61) %黑色素合成比对照组显著增多 ( $P < 0.05$ )，实验组黑色素合成 (61.41±4.60) %比 $H_2O_2$ 组显著增多 ( $P < 0.05$ )，见图6。结果表明， $H_2O_2$ 可减少黑素细胞黑色素合成；酪醇可增加黑素细胞黑色素合成，且可增加氧化应激状态下黑素细胞黑色素合成。

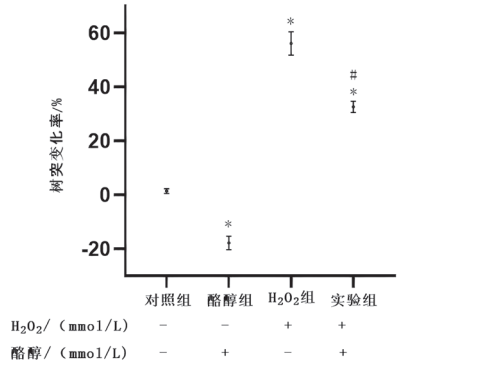


注：\*表示与对照组比较， $P < 0.05$ ；#表示与 $H_2O_2$ 组比较， $P < 0.05$

图6 酪醇对 $H_2O_2$ 诱导下黑素细胞黑色素合成的影响

2.5 树突变化率检测结果： $H_2O_2$ 组细胞树突变化率 (56.24±4.34) %比对照组 (1.51±0.88) %显著升高

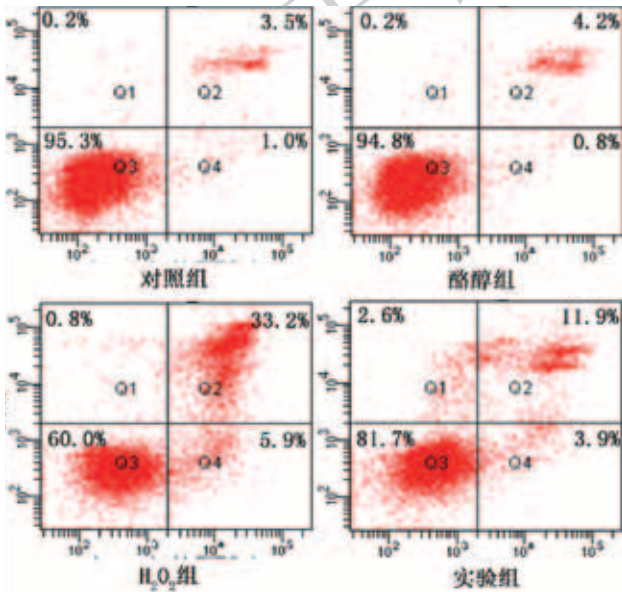
( $P < 0.05$ )。酪醇组细胞树突变化率( $-17.70 \pm 2.49$ )%比对照组显著降低( $P < 0.05$ )。实验组细胞树突变化率( $32.72 \pm 2.08$ )%比 $H_2O_2$ 组显著降低( $P < 0.05$ )，见图7。结果表明 $H_2O_2$ 可缩短黑素细胞树突；酪醇可促进黑素细胞树突，且对氧化应激状态下黑素细胞树突也有促进作用。



注：\*表示与对照组比较， $P < 0.05$ ；#表示与 $H_2O_2$ 组比较， $P < 0.05$

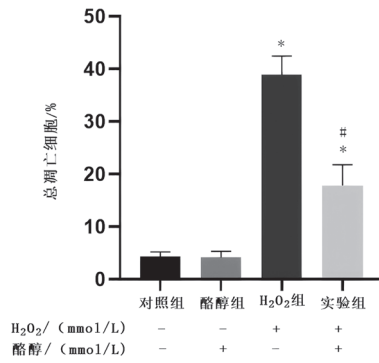
图7 酪醇对 $H_2O_2$ 诱导下黑素细胞树突的影响

2.6 细胞凋亡检测结果：对照组、酪醇组、 $H_2O_2$ 组和实验组细胞凋亡率分别为( $4.30 \pm 0.92$ )%、( $4.20 \pm 1.14$ )%、( $38.93 \pm 3.55$ )%和( $17.83 \pm 3.96$ )%。酪醇组总凋亡细胞与对照组相比差异无统计学意义， $H_2O_2$ 组总凋亡细胞比对照组明显增多( $P < 0.05$ )，实验组总凋亡细胞比 $H_2O_2$ 组明显减少( $P < 0.05$ )，见图8~9。结果表明， $H_2O_2$ 可增加黑素细胞凋亡；酪醇可减少氧化应激状态下黑素细胞凋亡。



注：用Annexin V/PI双染色法测定黑素细胞凋亡，图中左下象限为正常细胞，左上象限为坏死细胞，右下象限为早期凋亡细胞，右上象限为晚期凋亡细胞

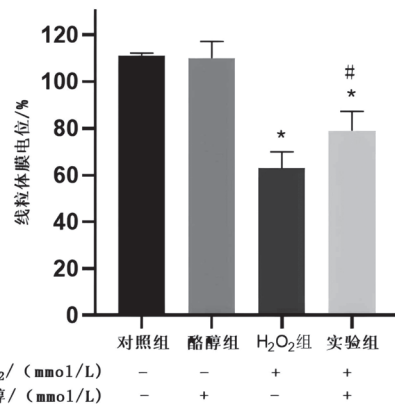
图8 酪醇对 $H_2O_2$ 诱导下黑素细胞凋亡的影响



注：\*表示与对照组比较， $P < 0.05$ ；#表示与 $H_2O_2$ 组比较， $P < 0.05$

图9 酪醇对 $H_2O_2$ 诱导下黑素细胞凋亡的影响

2.7 线粒体膜电位检测结果：酪醇组线粒体膜电位( $109.98 \pm 7.18$ )%与对照组( $111.05 \pm 1.17$ )%相比差异无统计学意义( $P = 0.847$ )， $H_2O_2$ 组线粒体膜电位( $62.94 \pm 7.03$ )%显著低于对照组( $P < 0.05$ )，实验组线粒体膜电位( $78.98 \pm 8.03$ )%比 $H_2O_2$ 组显著增高( $P < 0.05$ )，见图10。结果表明， $H_2O_2$ 可降低黑素细胞线粒体膜电位；酪醇可升高氧化应激状态下黑素细胞线粒体膜电位。



注：\*表示与对照组比较， $P < 0.05$ ；#表示与 $H_2O_2$ 组比较， $P < 0.05$ 。以红色荧光/绿色荧光的比值 $\times 100\%$ 表示线粒体膜电位

图10 酪醇对 $H_2O_2$ 诱导下黑素细胞线粒体膜电位的影响

2.8 细胞内ROS含量检测结果： $H_2O_2$ 组含有荧光的黑素细胞量及荧光亮度比对照组增多，说明 $H_2O_2$ 可升高黑素细胞 ROS 水平。酪醇组含有荧光的黑素细胞量及荧光亮度比对照组减少，说明酪醇能降低黑素细胞ROS水平。实验组含有荧光的黑素细胞量及荧光亮度比 $H_2O_2$ 组减少，说明酪醇能降低氧化应激状态下黑素细胞ROS水平。见图11。

2.9 细胞内MDA含量检测结果(nmol/mg prot)：酪醇组MDA( $0.26 \pm 0.10$ )与对照组( $0.27 \pm 0.14$ )对比差异无统计学意义( $P = 0.940$ )， $H_2O_2$ 组MDA( $0.74 \pm 0.10$ )显著高于对照组( $P < 0.05$ )，实验组MDA( $0.53 \pm 0.08$ )显著低于

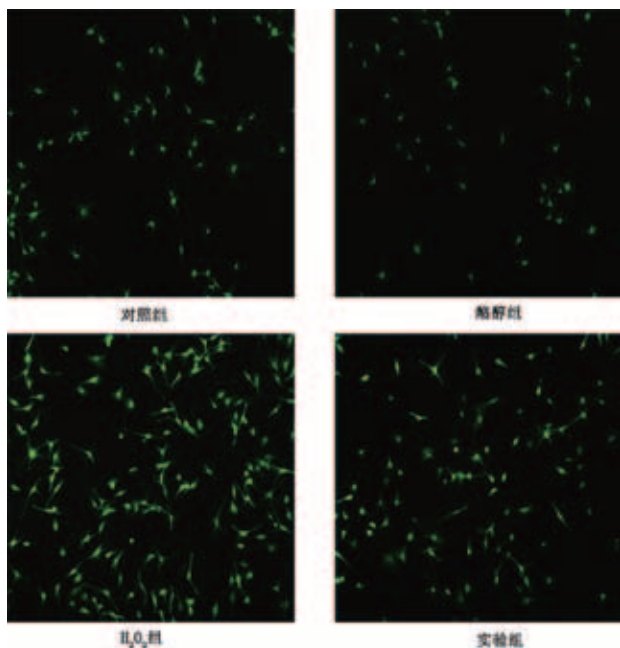
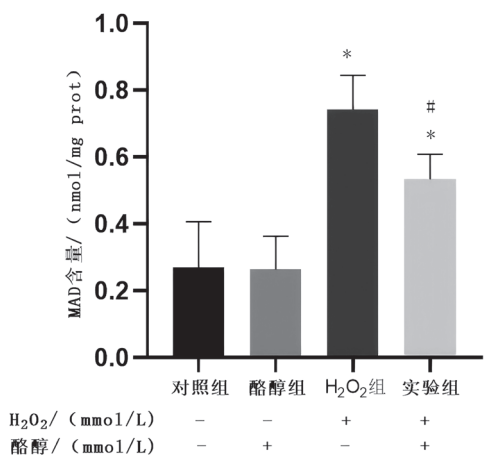


图11 酪醇对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导下黑素细胞ROS的影响 (100×)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组 ( $P < 0.05$ ), 见图12。结果表明, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能升高黑素细胞MDA水平; 酪醇能降低氧化应激状态下黑素细胞MDA水平。



注: \*表示与对照组比较,  $P < 0.05$ ; #表示与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较,  $P < 0.05$

图12 酪醇对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导下黑素细胞MDA的影响

### 3 讨论

白癜风是皮肤或黏膜局部色素减退或脱失的皮肤病。白癜风的全球发病率约为0.5%~2%<sup>[15]</sup>。白癜风患者皮肤外观的改变会影响患者的生活、学习、工作以及心理发育。白癜风临床治疗手段众多, 但无特效治疗方法, 目前治疗仍是临床上的难题。因此, 需要进一步研究白癜风的发病机制, 寻找治疗白癜风的药物。

氧化应激在白癜风发病中发挥了重要的作用<sup>[3]</sup>。Azzazi Y等<sup>[16]</sup>发现白癜风患者外周血中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、MDA明显升高, 总抗氧化能力明显降低。节段性白癜风患者皮损的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>水平显著升

高, 皮损复色后皮肤的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>水平显著下降<sup>[4,17]</sup>。氧化应激是黑素细胞凋亡的关键触发因素<sup>[3]</sup>。白癜风患者体内ROS积累过多, 可损伤黑素细胞, 引起黑素细胞凋亡<sup>[18]</sup>。体外研究发现H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可引起白癜风患者黑素细胞凋亡, 导致白癜风的发病<sup>[19]</sup>。研究还发现白癜风患者表皮的线粒体结构缺陷和线粒体功能受损, 造成ROS水平的增加<sup>[20]</sup>。线粒体内产生的ROS可攻击线粒体自身, 引起线粒体功能受损, 激活线粒体凋亡途径, 导致黑素细胞凋亡<sup>[21]</sup>。

既往研究发现, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理黑素细胞后引起氧化应激导致细胞凋亡, 可模拟白癜风发病中黑素细胞的氧化应激状态<sup>[22-23]</sup>。本实验用MTS法检测不同H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度和作用时间处理黑素细胞的细胞活性, 结果显示黑素细胞经0.4 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理24 h, 细胞活力显著下降。这与既往研究结果一致<sup>[24]</sup>, 0.4 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理黑素细胞24 h能诱导细胞出现氧化损伤, 且能保留细胞50%左右的功能, 故选用0.4 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理黑素细胞24 h建立氧化应激模型。

酪醇是存在于植物中的酚类化合物, 具有广泛的生物学作用, 包括抗氧化、抗炎、抗癌、抗脂肪肝、抗高血糖、免疫调节等作用, 其中抗氧化作用引起广泛关注<sup>[25]</sup>。酪醇可下调UVB诱导下HaCaT细胞的ROS (特别是H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 含量, 对UVB诱导的细胞凋亡有保护作用<sup>[26]</sup>。推测酪醇也可能调节黑素细胞的氧化应激, 可减轻H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导下黑素细胞的氧化损伤。

本研究表明1 mmol/L酪醇可显著逆转H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的黑素细胞活性下降。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能减少黑素细胞黑色素合成, 缩短人表皮黑素细胞树突; 酪醇增加氧化应激状态下黑素细胞黑色素合成, 对氧化应激状态下黑素细胞树突有促进作用。白癜风的复色过程主要包括黑色素的合成和转运两个重要的环节。酪醇可维持黑素细胞的形态与功能, 可增加黑色素合成并将黑色素转运到邻近角质细胞, 有利于患者皮损的复色。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可降低黑素细胞线粒体膜电位, 增加黑素细胞凋亡; 酪醇可升高氧化应激状态下黑素细胞线粒体膜电位, 减少氧化应激状态下黑素细胞凋亡。线粒体膜电位与黑素细胞凋亡的相关性提示氧化应激可能通过破坏线粒体稳态触发黑素细胞死亡, 酪醇可能抑制线粒体依赖性凋亡通路。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能升高黑素细胞ROS和MDA水平, 酪醇可降低氧化应激状态下黑素细胞ROS和MDA水平。提示在体外实验中, 酪醇可改善黑素细胞的氧化损伤。但尚不明确酪醇调节黑素细胞氧化应激的机制, 因此需要探索酪醇调节氧化应激的作用机制。酪醇在体内是否同样具有良好的抗氧化作用也仍需进一步的研究。

在本研究中, 酪醇可减轻H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导下黑素细胞的氧化损伤, 对氧化应激损伤的黑素细胞具有保护作用, 提示酪醇可能是一种具有良好前景的治疗白癜风的药物。

#### [参考文献]

[1]段海桐, 闫润虎. 白癜风的中西医治疗研究进展[J]. 中国美容医学, 2024,33(4):194-197.  
 [2]Bergqvist C, Ezzedine K. Vitiligo: a review[J]. Dermatology (Basel),

- Switzerland), 2020, 236(6): 571-592.
- [3]Chang W L, Ko C H. The role of oxidative stress in vitiligo: an update on its pathogenesis and therapeutic implications[J]. *Cells*, 2023, 12(6): 936.
- [4]Yang Y, Li S, Zhu G, et al. A similar local immune and oxidative stress phenotype in vitiligo and halo nevus[J]. *J Dermatol Sci*, 2017,87(1):50-59.
- [5]Kassab A, Khalij Y, Ayed Y, et al. Serum inflammatory and oxidative stress markers in patients with vitiligo[J]. *J Clin Med*, 2023,12(18):5861.
- [6]Iwanowski T, Kołkowski K, Nowicki R J, et al. Etiopathogenesis and emerging methods for treatment of vitiligo[J]. *Int J Mol Sci*, 2023,24(11):9749.
- [7]Białczyk A, Welniak A, Kamińska B, et al. Oxidative stress and potential antioxidant therapies in vitiligo: a narrative review[J]. *Mol Diagn Ther*, 2023,27(6):723-739.
- [8]Xie H, Zhou F, Liu L, et al. Vitiligo: How do oxidative stress-induced autoantigens trigger autoimmunity?[J] *J Dermatol Sci*, 2016,81(1):3-9.
- [9]Zhao W, Wei H, Lu J, et al. Tyrosol attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation in HUVECs to promote vascular health against atherosclerosis challenge[J]. *Exp Ther Med*, 2023,25(5):240.
- [10]罗敏, 顾雯, 何婷, 等. 超高效液相色谱-电化学检测法测定女贞子中的3种成分[J] *中国药学杂志*, 2020,55(24):2006-2011.
- [11]李其林, 李湘君, 何丹华, 等. 女贞子乙醇提取物及酪醇对表皮黑素细胞黏附和迁移的影响[J] *中华皮肤科杂志*, 2013,46(2):88-92.
- [12]张迪敏, 李永伟, 尉晓冬, 等. 女贞子对培养的黑素细胞酪氨酸酶活性和黑素合成的影响[J] *中华皮肤科杂志*, 2006,39(4):197-199.
- [13]Chen G, Wang A, Wang K, et al. Tyrosol promotes skin flap survival by downregulating the p38/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Burns*, 2025,51(2):107334.
- [14]You L, Zhao W, Li X, et al. Tyrosol protects RPE cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in vitro and in vivo through activation of the Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2025,991:177316.
- [15]Krüger C, Schallreuter K U. A review of the worldwide prevalence of vitiligo in children/adolescents and adults[J]. *Int J Dermatol*, 2012,51(10):1206-1212.
- [16]Azzazi Y, Mostafa W Z, Sayed K S, et al. Support for increased cardiovascular risk in non-segmental vitiligo among Egyptians: A hospital-based, case-control study[J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2021,34(3):598-604.
- [17]Schallreuter K U, Salem M A, Holtz S, et al. Basic evidence for epidermal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ONOO(-)-mediated oxidation/nitration in segmental vitiligo is supported by repigmentation of skin and eyelashes after reduction of epidermal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> with topical NB-UVB-activated pseudocatalase PC-KUS[J]. *FASEB J*, 2013,27(8):3113-3122.
- [18]Laddha N C, Dwivedi M, Mansuri M S, et al. Vitiligo: interplay between oxidative stress and immune system [J]. *Exp Dermatol*, 2013, 22(4): 245-250.
- [19]Zhang Y, Liu L, Jin L, et al. Oxidative stress-induced calreticulin expression and translocation: new insights into the destruction of melanocytes [J]. *J Invest Dermatol*, 2014, 134(1): 183-191.
- [20]Prignano F, Pescitelli L, Becatti M, et al. Ultrastructural and functional alterations of mitochondria in perilesional vitiligo skin[J]. *J Dermatol Sci*, 2009, 54(3): 157-167.
- [21]Lin Y, Ding Y, Wu Y, et al. The underestimated role of mitochondria in vitiligo: From oxidative stress to inflammation and cell death[J]. *Exp Dermatol*, 2024, 33(1): e14856.
- [22]Li X, Tang S, Wang H, et al. Tanshinone IIA inhibits hydrogen peroxide-induced ferroptosis in melanocytes through activating Nrf2 signaling pathway[J]. *Pharmacology*, 2025,110(3):141-150.
- [23]薛梅, 张德利, 刁庆春, 等. 丹参酚酸B对过氧化氢引起的黑素细胞凋亡的保护作用研究[J]. *中国美容医学*, 2019,28(6):64-66.
- [24]Li Q L, Wu Y H, Niu M, et al. Protective effects of tacalcitol against oxidative damage in human epidermal melanocytes[J]. *Int J Dermatol*, 2017, 56(2): 232-238.
- [25]Castejón M L, Montoya T, Alarcón-de-la-Lastra C, et al. Potential protective role exerted by secoiridoids from *olea europaea* l. in cancer, cardiovascular, neurodegenerative, aging-related, and immunoinflammatory diseases[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020,9(2):149.
- [26]Salucci S, Burattini S, Battistelli M, et al. Tyrosol prevents apoptosis in irradiated keratinocytes [J]. *J Dermatol Sci*, 2015,80(1): 61-68.

[收稿日期]2025-04-30

本文引用格式：郑水英, 吴昊天, 李其林, 等. 酪醇对过氧化氢诱导人黑素细胞氧化损伤的保护作用研究[J]. *中国美容医学*, 2025,34(11):27-32.

## · 告作者和读者 ·

### 《中国美容医学》来稿要求

①论著类文稿字数限制在5 000字以内,有中英语摘要,英文表述的内容与中文对应,包括英文文题,全部作者姓名、单位及邮编,英文摘要要符合英文表达习惯,注意正确的语态、时态,关键词5~8个。

②临床总结(经验交流)类文稿要求与论著相同。综述类文章需指导老师或本专业权威专家审核后投寄,其余要求及书写格式同论著类文稿。

③为数据检索之便并与国际接轨,所有文章应有中英文摘要,除综述与教学类文章为提示性摘要外,其余均为结构式摘要。