

# 对羟基肉桂酸抑制泡沫细胞形成 抗动脉粥样硬化的研究

刘丰铭<sup>1,2#</sup> 白洁<sup>3#</sup> 李卓钰<sup>3</sup> 单树花<sup>3</sup> 武海丽<sup>1</sup> 李卓玉<sup>3</sup> 乔明强<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>山西大学生命科学学院, 太原 030000; <sup>2</sup>山西大学杏花村学院(山西酿造产业研究院), 太原 030000;

<sup>3</sup>山西大学生物技术研究所, 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 太原 030000)

**摘要** 该文探讨了对羟基肉桂酸(p-HCA)通过抑制泡沫细胞形成抗动脉粥样硬化的效应。采用氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)构建巨噬细胞源性泡沫细胞模型, 通过细胞油红O、Western blot和ELISA实验检测p-HCA对该模型中脂质积累和炎症反应相关指标的影响; 采用ApoE<sup>-/-</sup>小鼠构建经典的动脉粥样硬化模型, 通过主动脉整体油红O、主动脉窦冰冻油红O和免疫组化实验探讨p-HCA体内抗动脉粥样硬化的效应。结果表明, p-HCA通过抑制巨噬细胞脂质吞噬相关蛋白凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体-1(LOX-1)和Toll样受体4(TLR4)的表达显著减少了巨噬细胞中脂质的积累; 同时p-HCA有效抑制了信号转导与转录激活因子3(STAT3)和白细胞介素6(IL-6)的表达; 进一步体内实验结果表明, p-HCA显著减少了ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉的病变面积, 并降低了主动脉中LOX-1、TLR4、STAT3和IL-6的表达水平。总之, p-HCA通过减少巨噬细胞脂质积累和抑制炎症发展发挥了抗动脉粥样硬化的效应。

**关键词** 对羟基肉桂酸; 泡沫细胞; 脂质积累; 炎症反应; 动脉粥样硬化

## Study on the Anti-Atherosclerotic Effect of p-Hydroxycinnamic Acid by Inhibiting Foam Cell Formation

LIU Fengming<sup>1,2#</sup>, BAI Jie<sup>3#</sup>, LI Zhuoyu<sup>3</sup>, SHAN Shuhua<sup>3</sup>, WU Haili<sup>1</sup>, LI Zhuoyu<sup>3</sup>, QIAO Mingqiang<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030000, China; <sup>2</sup>Xinghuacun College of Shanxi University (Shanxi Institute of Brewing Technology and Industry), Taiyuan 030000, China; <sup>3</sup>Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of National Ministry of Education, Institute of Biotechnology, Shanxi University, Taiyuan 030000, China)

**Abstract** This study investigated the anti-atherosclerotic effect of p-HCA (p-hydroxycinnamic acid) by inhibiting foam cell formation. ox-LDL (oxidised low-density lipoprotein) was used to construct a macrophage-derived foam cell model, and the effects of p-HCA on lipid accumulation and inflammatory response related indicators in this model were detected by cellular oil red O, Western blot and ELISA experiments. ApoE<sup>-/-</sup> mice were used to build a classical atherosclerosis model, and the anti-atherosclerotic effect of p-HCA *in vivo* was explored by aortic whole oil red O, aortic sinus frozen oil red O and immunohistochemistry assays. The results showed that p-HCA significantly reduced lipid accumulation in macrophages by inhibiting the expression of macrophage lipid phagocytosis-associated proteins lectin-like oxidised LOX-1 (lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1) and TLR4 (toll-like re-

收稿日期: 2025-09-10 接受日期: 2025-10-16

山西省基础研究计划青年科学基金项目(批准号: 202203021222007)和山西大学杏花村学院(山西酿造产业研究院)开放基金(批准号: XCSXU-KF-202326)资助的课题

#共同第一作者

\*通信作者。Tel: 0351-7019289, E-mail: qmq@sxu.edu.cn.

Received: September 10, 2025 Accepted: October 16, 2025

This work was supported by the Shanxi Province Science Foundation for Youths (Grant No.202203021222007), and the Open Project Program of Xinghuacun College of Shanxi University (Shanxi Institute of Brewing Technology and Industry) (Grant No.XCSXU-KF-202326)

#These authors contributed equally to this work

\*Corresponding author. Tel: +86-351-7019289, E-mail: qmq@sxu.edu.cn

ceptor 4), meanwhile, p-HCA effectively constrained STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) and IL-6 (interleukin-6) expression. Further *in vivo* experiments showed that p-HCA reduced the lesion area in the aorta of ApoE<sup>-/-</sup> mice and decreased the expression of LOX-1, TLR4, STAT3 and IL-6 in the aorta. In conclusion, p-HCA exerts an anti-atherosclerotic effect by reducing macrophage lipid accumulation and inflammatory response.

**Keywords** p-hydroxycinnamic acid; foam cell; lipid accumulation; inflammatory response; atherosclerosis

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)严重威胁着全球人类的生命健康<sup>[1]</sup>。动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是诱发心血管疾病的主要原因之一<sup>[2]</sup>。在血管内皮损伤的初始阶段,血液中的低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)渗透至血管内膜下层并氧化形成氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)<sup>[3]</sup>;与此同时,损伤的内皮细胞高表达黏附分子,介导单核细胞迁移至内膜下层并分化为巨噬细胞<sup>[4-5]</sup>。这些巨噬细胞通过清道夫受体大量摄取 ox-LDL,并转化为充满脂滴的巨噬细胞源性泡沫细胞<sup>[6-7]</sup>。这个过程会激活促炎信号通路<sup>[8]</sup>,而炎症微环境又会进一步加速泡沫细胞的形成。随着泡沫细胞在内膜下层的不断累积逐渐形成动脉粥样硬化斑块,随着斑块增大或破裂将会引发心血管疾病。

对羟基肉桂酸(p-hydroxycinnamic acid, p-HCA),又名对香豆酸,以游离态或结合态的形式广泛存在于蔬菜、水果、谷物等植物和蘑菇类物质中。对羟基肉桂酸对小鼠的半数致死量为2 850 mg/kg<sup>[9]</sup>,由于其低毒且具有高效的生物活性而被广泛研究。研究发现,对羟基肉桂酸通过抑制晚期糖基化终末产物(advanced glycation end product, AGE)及其受体RAGE(receptor of AGE)介导的神经炎症减轻了抑郁行为和记忆缺陷<sup>[10]</sup>。对羟基肉桂酸减少氧化应激进而预防高脂饮食诱导的糖尿病性肾病<sup>[11]</sup>。对羟基肉桂酸通过抗炎、抗氧化、诱导细胞凋亡和阻断细胞周期等方式抑制结肠癌的发展<sup>[12]</sup>。对羟基肉桂酸通过改善脂质过氧化而促进小鼠高脂血症性脂肪性肝炎的恢复<sup>[13]</sup>。由此可见,对羟基肉桂酸在预防和治疗与炎症和脂代谢相关的疾病中发挥着重要的作用。因此,本研究通过体内外实验探究了对羟基肉桂酸抗动脉粥样硬化的效应,首次揭示了p-HCA通过减少巨噬细胞脂质积累和抑制炎症发展进而抑制泡沫细胞形成的效应。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

人源单核细胞(THP-1 cells)购于美国典型微

生物菌种保藏中心(American type culture collection, ATCC)。ApoE<sup>-/-</sup>雄性小鼠购于集萃药康生物科技股份有限公司。

对羟基肉桂酸(p-HCA)、佛波酯(phorbol-12-myristate-13-acetate, PMA)、油红O试剂盒(细胞专用)、氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)购于北京索莱宝科技有限公司;南美胎牛血清、RPMI-1640培养基购于美国Gibco公司;细胞冻存液、一步法凝胶快速制备试剂盒、免冰浴快速转膜缓冲液速溶颗粒(湿转法)购于上海雅酶生物医药有限公司;4%多聚甲醛、甘油明胶封片剂、组化试剂盒DAB显色液和牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)购于武汉塞维尔生物科技有限公司;维持饲料和高脂饲料均购于江苏省协同医药生物工程有限责任公司;白细胞介素6(interleukin-6, IL-6) ELISA科研试剂盒购于江苏酶免实业有限公司(批号:20231227H4);GAPDH抗体(稀释比例1:50 000,批号:3507443010)、凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体-1(lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1, LOX-1)抗体(稀释比例1:500,批号:5500019400)和信号转导与转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)抗体(稀释比例1:500,批号:4000002576)均购于爱博泰克生物科技有限公司;IL-6抗体(稀释比例1:1 000,批号:BC03302588)购于北京博奥森生物技术有限公司;Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)抗体(稀释比例1:500,批号:00048459)购于武汉三鹰生物技术有限公司。

### 1.2 仪器与设备

荧光倒置显微镜购于日本Nikon公司;细胞培养箱购于美国ThermoFisher Scientific公司;电泳仪购于上海天能科技有限公司;翘板摇床购于北京兰杰柯科技有限公司;高速冷冻离心机购于安徽中科中佳科学仪器有限公司;全自动化学发光成像仪购于广州博鹭腾仪器仪表有限公司;超低温冷冻储存箱购于中科美菱低温科技股份有限公司;酶联免疫分析仪购于杭州奥盛仪器有限公司;UPR<sup>®</sup>系列超

纯水机购于四川优普超纯科技有限公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 细胞培养** THP-1细胞用含有15%胎牛血清的RPMI-1640培养基培养, 培养于37 °C、5% CO<sub>2</sub>的细胞培养箱中。

**1.3.2 细胞油红O实验** 将THP-1细胞按照10 000/孔接种于24孔板中, 并添加终浓度为100 nmol/L的PMA处理12 h将其诱导为贴壁的巨噬细胞。每孔加入500 μL的含100 μg/mL ox-LDL的完全培养基(空白对照组除外), 用终浓度为0.4 mmol/L和0.8 mmol/L的p-HCA处理24 h, 按照油红O染色液试剂盒说明书进行操作, 其中油红O染色条件为室温下染色30 min; 最后用显微镜拍照记录并采用ImageJ软件定量分析。

**1.3.3 Western blot分析** 按照20 000/mL的浓度将THP-1细胞接种于细胞培养皿中并添加终浓度为100 nmol/L的PMA处理12 h, 然后用不同浓度的p-HCA和ox-LDL(100 μg/mL)处理24 h。总细胞提取物在4 °C下以12 000 r/min离心15 min, 每个样品(60 ng)用10% SDS-PAGE凝胶电泳将其分离并电转到PVDF膜上。将膜与一抗在4 °C下孵育过夜, 然后用相应二抗(稀释比例1:5 000)孵育2 h。最后, 使用化学发光成像仪对蛋白质条带进行可视化并进行定量分析。

**1.3.4 细胞ELISA实验** 将THP-1细胞按照10 000/孔接种于24孔板中, 并添加终浓度为100 nmol/L的PMA处理12 h, 将其诱导为贴壁的巨噬细胞。每孔加入500 μL的含100 μg/mL ox-LDL的完全培养基(空白对照组除外), 用终浓度为0.4 mmol/L和0.8 mmol/L的p-HCA处理24 h, 收集各组的细胞上清液, 于4 °C、1 100 r/min的条件下离心5 min; 将上清转移至新的EP管中, 严格按照IL-6的ELISA试剂盒说明书检测炎症因子, 获得数据后进行分析。

**1.3.5 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠动脉粥样硬化模型的构建** ApoE<sup>-/-</sup>小鼠饲养在山西省人民医院实验动物中心肾脏病学动物实验室的无特定病原体(specific pathogen free, SPF)笼舍中, 温度为(24±1) °C, 湿度为(60±10)%。为小鼠提供高压灭菌的食物和水, 每周更换两次高压灭菌的垫料。将18只ApoE<sup>-/-</sup>雄性小鼠随机分成3组, 每组6只, 首先对这3组ApoE<sup>-/-</sup>小鼠进行适应性喂养1周, 接下来的12周里, 为对照组ApoE<sup>-/-</sup>小鼠提供维持饲料, 为模型组和p-HCA组ApoE<sup>-/-</sup>小鼠提供高脂饲料。p-HCA组小鼠每两

天通过灌胃方式给药一次(100 mg/kg), 每周测一次小鼠体重。喂养12周后, 禁食24 h, 然后用戊巴比妥钠麻醉小鼠。然后立即采集血清以及主动脉和脏器等组织并置于液氮中, 随后在-80 °C下保存。主动脉整体油红O染色实验、主动脉窦冰冻油红O染色实验和免疫组化实验由武汉赛维尔生物科技有限公司完成。各组小鼠血清严格按照IL-6的ELISA试剂盒说明书检测炎症因子, 获得数据后进行分析。该动物实验方案由山西大学实验动物伦理委员会审核并批准(SXULL2022091)。

### 1.4 实验数据分析和整理

数据以平均值±标准差( $\bar{x}\pm s$ )形式呈现, 采用SPSS 19中的单因素方差分析(One-Way ANOVA)或*t*检验进行组间显著性比较。\**P*<0.05为差异显著; \*\**P*<0.01为差异极显著。

## 2 结果

### 2.1 p-HCA抑制巨噬细胞脂质积累

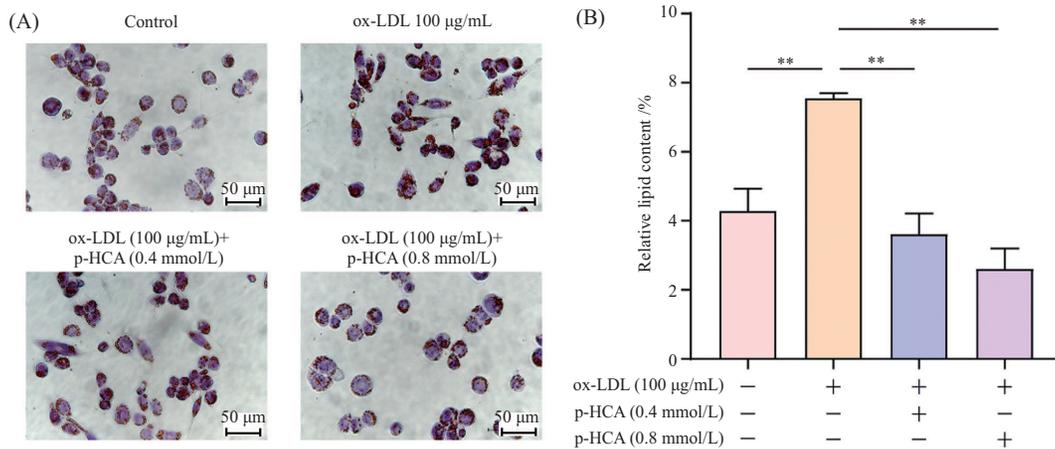
通过油红O染色实验来探究p-HCA对巨噬细胞摄取ox-LDL的能力的影响。模型组的脂质面积与对照组相比显著增加(*P*<0.01), 与模型组相比, 经过0.4 mmol/L和0.8 mmol/L的p-HCA处理后, 脂质面积显著减少(*P*<0.01)(图1A和图1B)。这说明p-HCA可以显著抑制巨噬细胞中脂质的积累。

### 2.2 p-HCA减少脂质吞噬相关蛋白LOX-1和TLR4的表达量

进一步通过Western blot实验对巨噬细胞中与脂质吞噬相关蛋白的表达水平进行测定。结果如图2所示, 与对照组相比, 模型组脂质吞噬相关蛋白LOX-1和TLR4的表达量显著增加(*P*<0.01); 与模型组相比, 经过p-HCA处理后, LOX-1和TLR4蛋白表达量随p-HCA处理浓度的增加而降低。这个结果表明, p-HCA有效减少巨噬细胞中脂质吞噬相关蛋白LOX-1和TLR4的表达量。

### 2.3 p-HCA降低巨噬细胞炎症转录因子STAT3的表达水平

通过检测炎症转录因子STAT3的表达水平来探究p-HCA对巨噬细胞炎症的影响。结果如图3A和图3B所示, 与ox-LDL组相比, 经过不同终浓度的p-HCA处理后, STAT3蛋白的表达量显著减少(*P*<0.01)。这说明在巨噬细胞高胆固醇模型中, p-HCA可以有效降低炎症转录因子STAT3的表达水

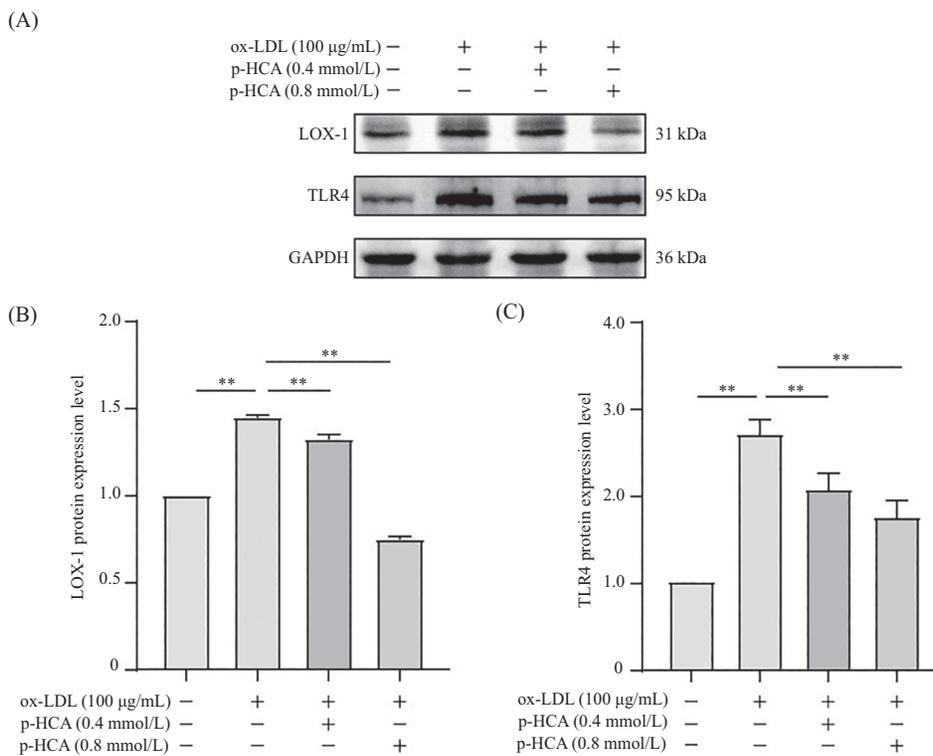


A: 巨噬细胞源性泡沫细胞油红O染色。B: 巨噬细胞油红O染色后脂质面积统计。 \*\* $P < 0.01$ 。 结果为三次独立实验的平均值 $\pm$ 标准差。

A: macrophage-derived foam cell oil red O coloration. B: lipid area statistics after macrophage oil red O coloration. \*\* $P < 0.01$ . Results were the  $\bar{x} \pm s$  of three independent experiments.

图1 p-HCA抑制巨噬细胞吞噬脂质

Fig.1 p-HCA inhibits macrophage phagocytosis of lipids



A: 通过Western blot法检测p-HCA处理后脂质吞噬相关蛋白LOX-1和TLR4的表达水平。B: 利用ImageJ软件对LOX-1印迹结果进行定量。C: 利用ImageJ软件对TLR4印迹结果进行定量。 \*\* $P < 0.01$ 。 结果为三次独立实验的平均值 $\pm$ 标准差。

A: the expression levels of lipid phagocytosis-related proteins LOX-1 and TLR4 after p-HCA treatment were detected by Western blot. B: LOX-1 blot results were quantified using ImageJ software. C: quantification of TLR4 blot results using ImageJ software. \*\* $P < 0.01$ . Results were the  $\bar{x} \pm s$  of three independent experiments.

图2 p-HCA减少脂质吞噬相关蛋白LOX-1和TLR4的表达量

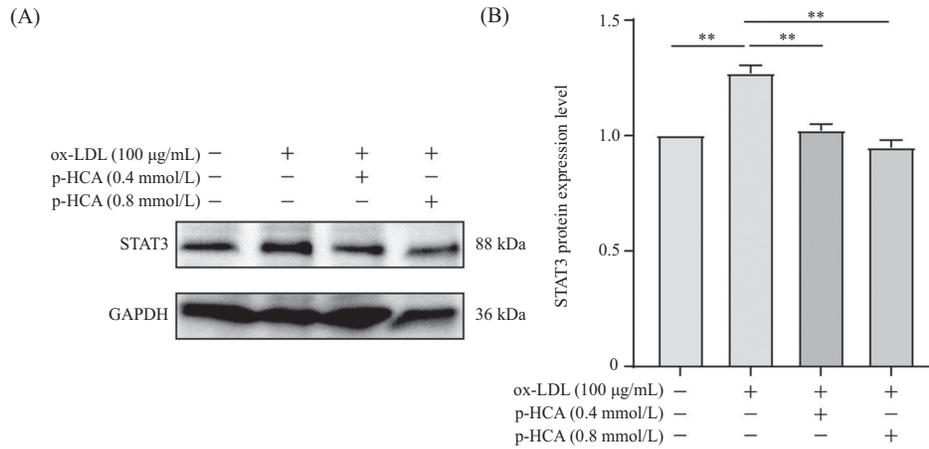
Fig.2 p-HCA reduces the expression of lipid phagocytosis-related proteins LOX-1 and TLR4

平。

#### 2.4 p-HCA抑制巨噬细胞炎症因子IL-6的表达

进一步对STAT3下游炎症因子进行了检测, 结果

如图4A所示, 与模型组相比, 经过不同浓度p-HCA处理后, IL-6的浓度显著降低( $P < 0.01$ )。Western blot实验在蛋白水平上验证了p-HCA处理会抑制炎症因子IL-6的

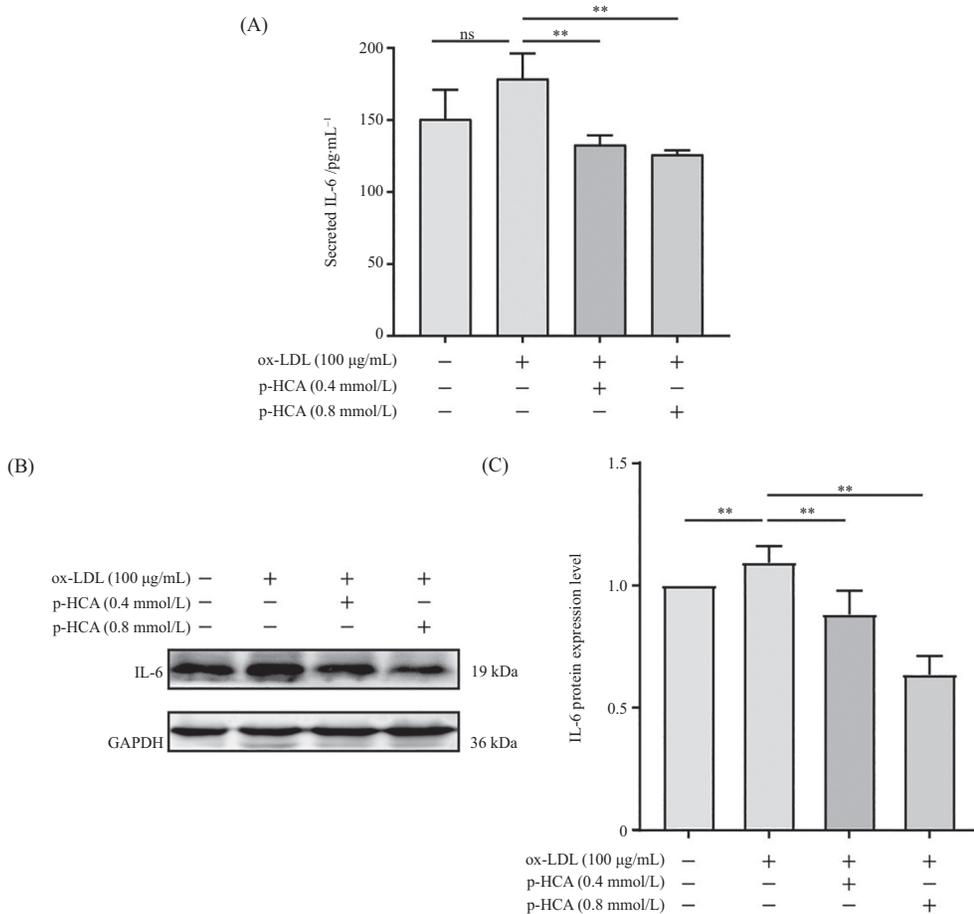


A: 通过Western blot法检测p-HCA处理后炎症转录因子STAT3的表达水平。B: 利用ImageJ软件分析蛋白STAT3印迹结果。 $**P<0.01$ 。结果为三次独立实验的平均值 $\pm$ 标准差。

A: the expression level of inflammatory transcription factor STAT3 after p-HCA treatment was detected by Western blot. B: protein STAT3 blot results were analysed using ImageJ software.  $**P<0.01$ . Results were the  $\bar{x}\pm s$  of three independent experiments.

图3 p-HCA降低巨噬细胞炎症转录因子STAT3的表达水平

Fig.3 p-HCA lessens the expression of the inflammatory transcription factor STAT3 in macrophages



A: ELISA试剂盒测定p-HCA处理后巨噬细胞中IL-6的含量。B: 通过Western blot法检测p-HCA处理后IL-6蛋白的表达水平。C: 利用ImageJ软件分析蛋白IL-6印迹结果。 $**P<0.01$ ,  $^{ns}P>0.05$ 。结果为三次独立实验的平均值 $\pm$ 标准差。

A: ELISA kits were used to determine the levels of IL-6 in macrophages after p-HCA treatment. B: the expression level of IL-6 protein after p-HCA treatment was detected by Western blot. C: quantification of IL-6 blot results using ImageJ software.  $**P<0.01$ ,  $^{ns}P>0.05$ . Results were the  $\bar{x}\pm s$  of three independent experiments.

图4 p-HCA抑制巨噬细胞炎症因子IL-6的表达

Fig.4 p-HCA inhibits the expression of macrophage inflammatory factor IL-6

表达(图4B和图4C)。这些结果表明, p-HCA通过降低炎症因子IL-6的表达水平抑制巨噬细胞炎症的发展。

### 2.5 p-HCA减少ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉的病变面积

通过对三组ApoE<sup>-/-</sup>小鼠的主动脉进行整体油红O染色实验来探究p-HCA对ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉病变的影响。结果表明: 与模型组相比, p-HCA处理显著减少了ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉的病变面积(图5A和图5B)。

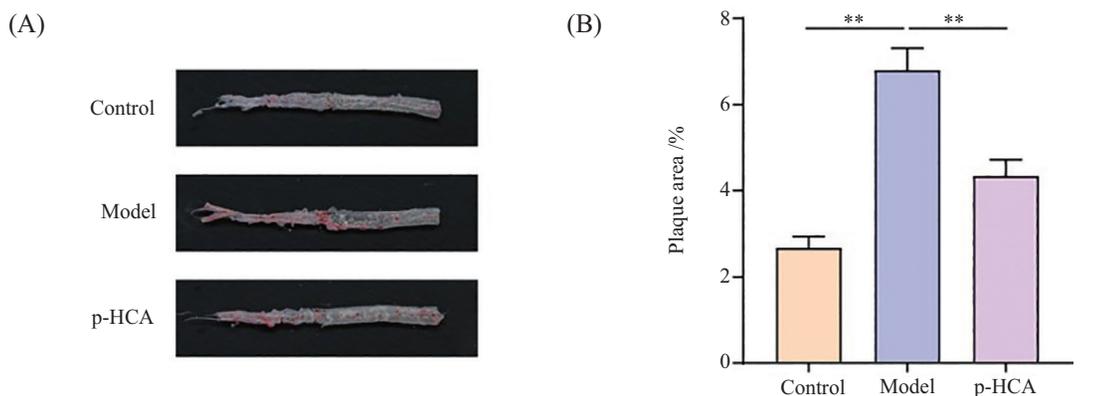
### 2.6 p-HCA减少ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉窦的脂质积累

通过主动脉窦冰冻油红O染色实验比较了各组ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉窦的脂质积累, 结果表明: p-HCA组ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉窦的脂质面积显著低于模型组

( $P<0.01$ )(图6A和图6B)。

### 2.7 p-HCA对ApoE<sup>-/-</sup>小鼠体重、脏器指数的影响

为了探究p-HCA对ApoE<sup>-/-</sup>小鼠体重的影响, 每周测一次小鼠的体重。如图7A所示, 随着周龄的增加, 三组小鼠的体重也随之增加, 并且p-HCA组小鼠的体重与对照组无明显差异。检测三组小鼠心脏、肝脏、肺和肾脏的器官指数发现: p-HCA组与模型组之间并无明显差异; 但有趣的是, 相比于对照组, 模型组ApoE<sup>-/-</sup>小鼠的脾脏脏器指数明显升高, 而经过p-HCA处理后, ApoE<sup>-/-</sup>小鼠脾脏的脏器指数则明显降低( $P<0.05$ )(图7B~图7F)。

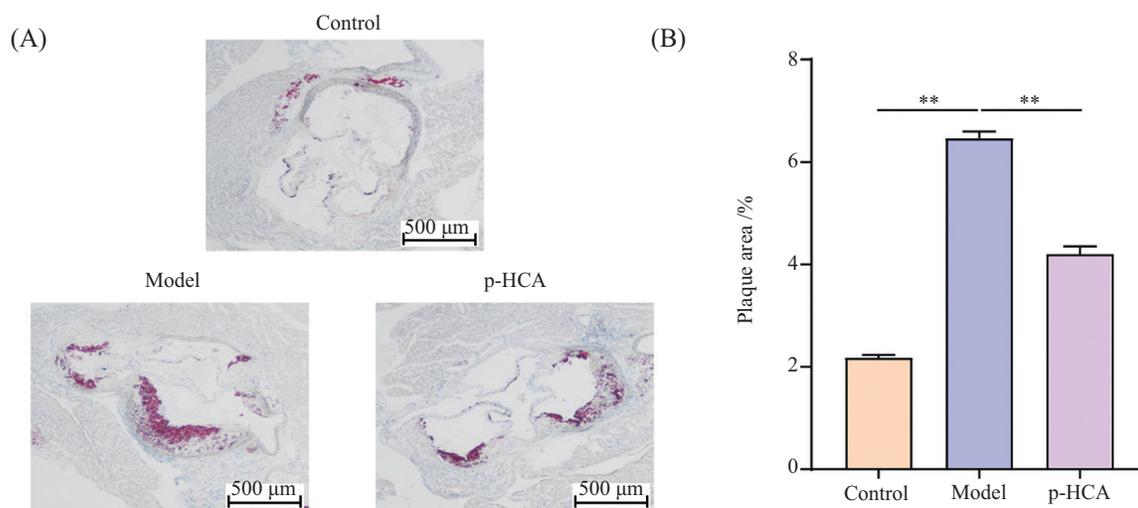


A: 主动脉油红O染色。B: 使用ImageJ软件分析主动脉病变面积。 \*\* $P<0.01$ 。结果表示为平均值 $\pm$ 标准差。

A: aortic oil red O staining. B: aortic lesion area was analyzed using ImageJ software. \*\* $P<0.01$ . Values were expressed as  $\bar{x}\pm s$ .

图5 p-HCA减少ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉的病变面积

Fig.5 p-HCA reduces lesion area of the aorta in ApoE<sup>-/-</sup> mice

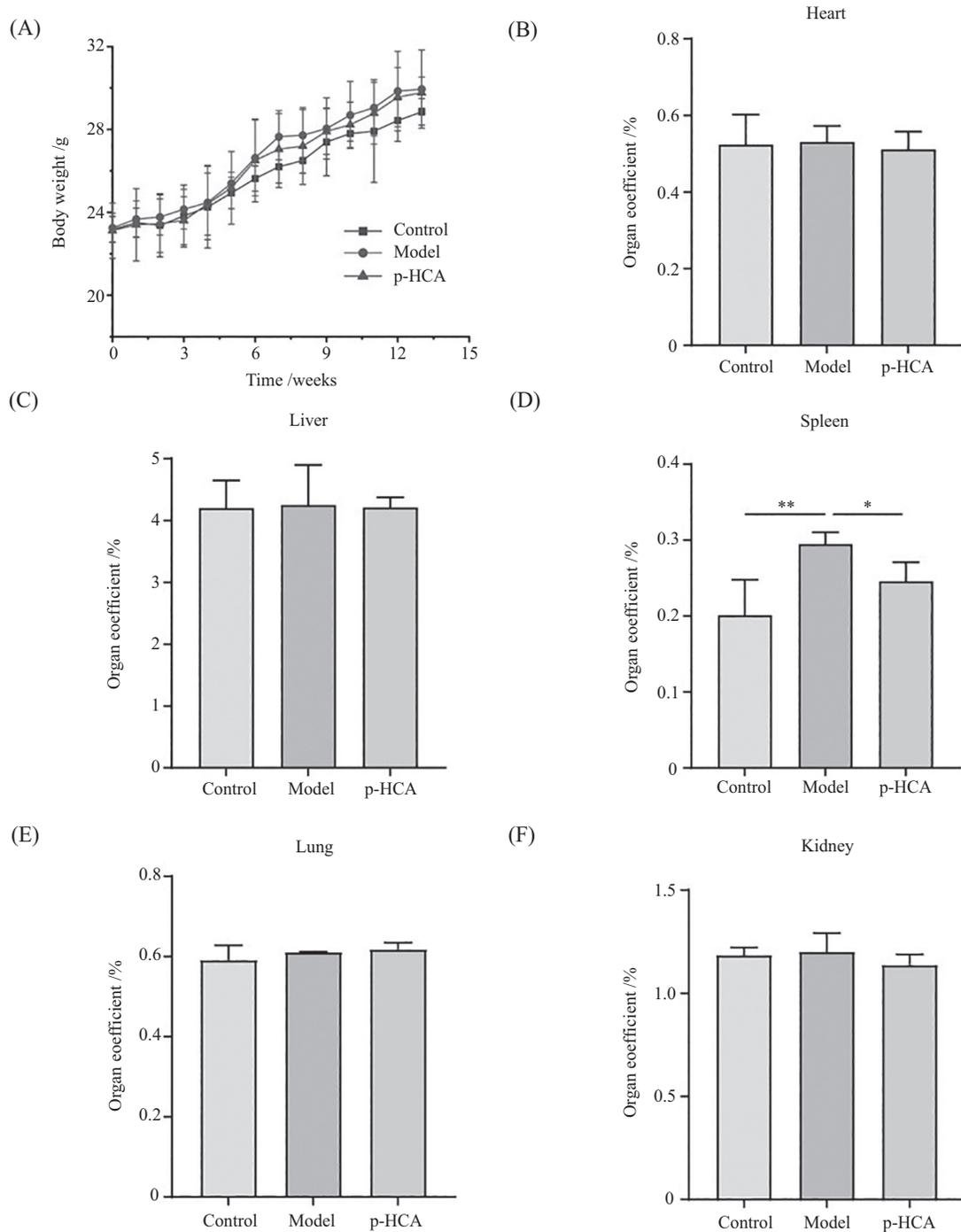


A: 主动脉窦冰冻油红O染色。B: 使用ImageJ软件分析主动脉窦病变面积。 \*\* $P<0.01$ 。结果表示为平均值 $\pm$ 标准差。

A: frozen oil red O staining of the aortic sinus. B: aortic sinus lesion area analysed using ImageJ software. \*\* $P<0.01$ . Values were expressed as  $\bar{x}\pm s$ .

图6 p-HCA减少ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉窦的脂质积累

Fig.6 p-HCA lessens lipid accumulation in the aortic sinus of ApoE<sup>-/-</sup> mice



A: ApoE<sup>-/-</sup>小鼠体重。B~F: ApoE<sup>-/-</sup>小鼠心脏、肝脏、脾脏、肺以及肾脏的脏器指数。\**P*<0.05, \*\**P*<0.01。结果表示为平均值±标准差。

A: body weight of ApoE<sup>-/-</sup> mice. B-F: organ coefficients of heart, liver, spleen, lung, and kidney of ApoE<sup>-/-</sup> mice. \**P*<0.05, \*\**P*<0.01. Values were expressed as  $\bar{x} \pm s$ .

图7 p-HCA对ApoE<sup>-/-</sup>小鼠体重、脏器指数的影响

Fig.7 Effects of p-HCA on body weight and organ coefficient in ApoE<sup>-/-</sup> mice

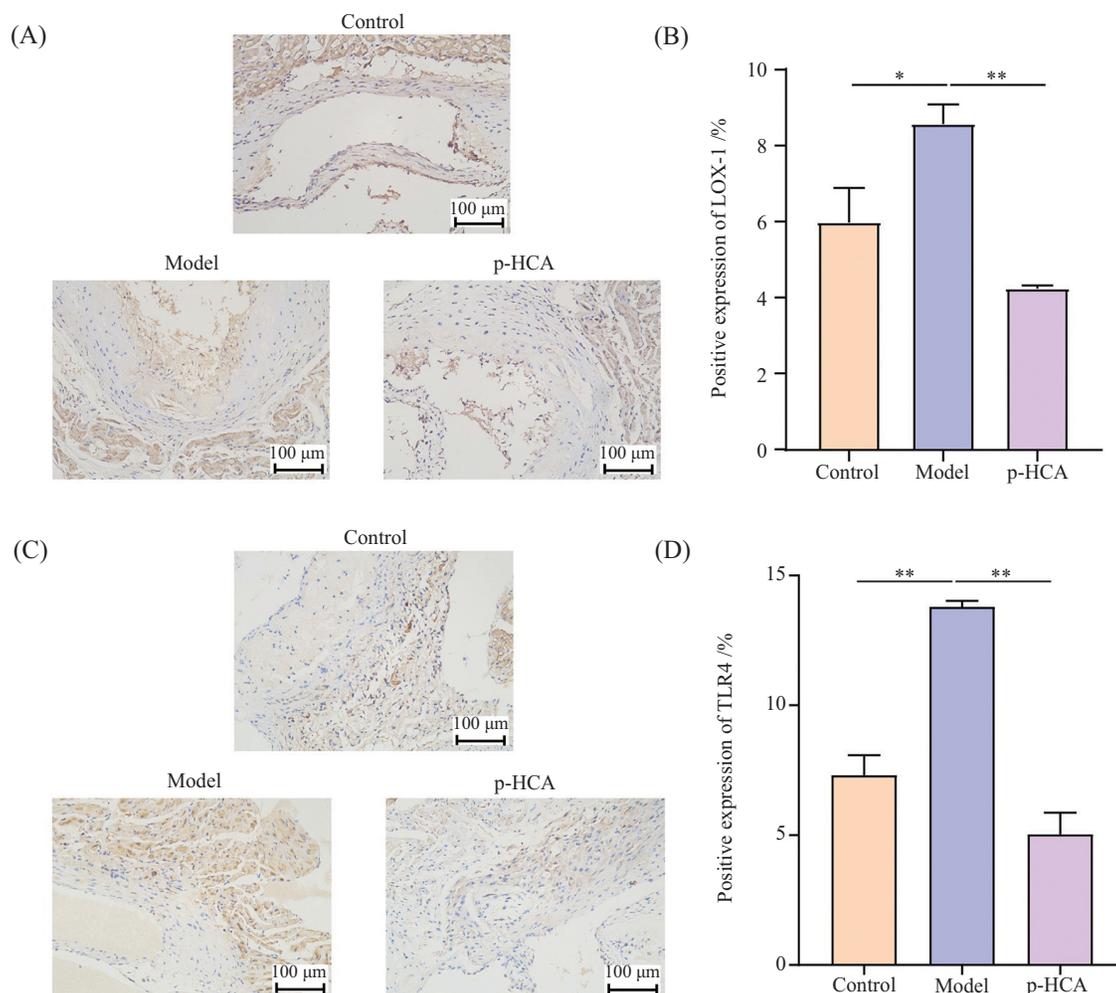
## 2.8 p-HCA降低ApoE<sup>-/-</sup>小鼠脂质吞噬相关蛋白LOX-1和TLR4的表达水平

为了检测p-HCA对ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉窦中脂质吞噬相关蛋白LOX-1和TLR4的影响,对ApoE<sup>-/-</sup>小鼠的主动脉窦进行了免疫组化实验。结果表明:与

细胞水平实验结果一致,p-HCA可以降低脂质吞噬相关蛋白LOX-1和TLR4的表达水平(图8)。

## 2.9 p-HCA降低ApoE<sup>-/-</sup>小鼠STAT3和IL-6的表达水平

细胞实验结果发现p-HCA能够抑制巨噬细胞



A: 主动脉窦中蛋白LOX-1的免疫组化染色结果。阳性表达呈现棕色, 细胞核经染色后为蓝色。B: 利用ImageJ软件计算主动脉窦中蛋白LOX-1的相对表达量。C: 主动脉窦中蛋白TLR4的免疫组化染色结果。阳性表达呈现棕色, 细胞核经染色后为蓝色。D: 利用ImageJ软件计算主动脉窦中蛋白TLR4的相对表达量。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。结果表示为平均值 $\pm$ 标准差。

A: immunohistochemical staining results of protein LOX-1 in the aortic sinus. Positive expression is brown, and the nucleus is blue after staining. B: relative expression of protein LOX-1 in aortic sinus was analysed using ImageJ software. C: immunohistochemical staining results of protein TLR4 in aortic sinus. Positive expression is brown, and the nucleus is blue after staining. D: relative expression of protein TLR4 in aortic sinus was analysed using ImageJ software. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ . Values were expressed as  $\bar{x} \pm s$ .

图8 p-HCA降低ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉窦中脂质吞噬相关蛋白LOX-1和TLR4的表达水平

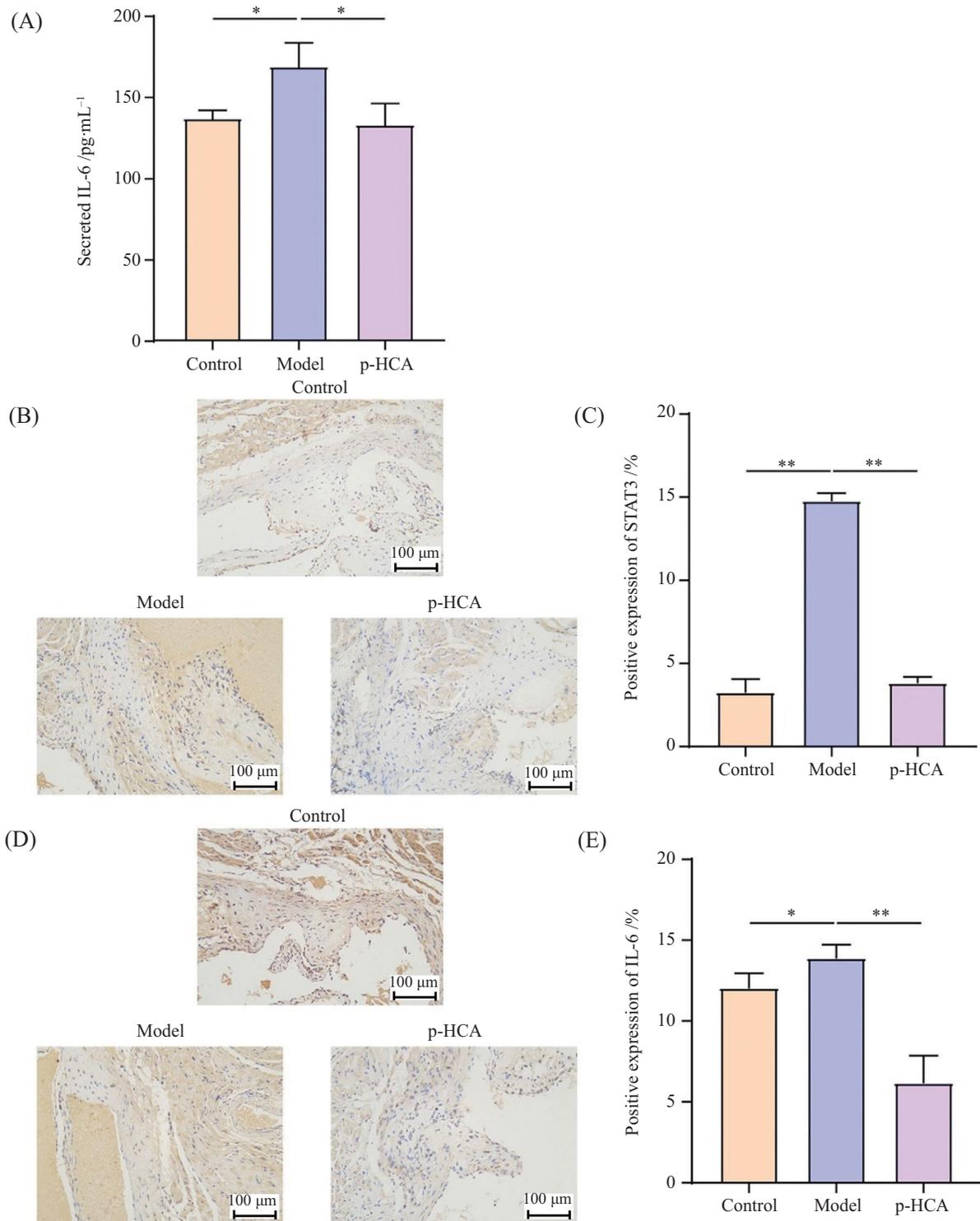
Fig.8 p-HCA decreases the expression of lipid phagocytosis-related proteins LOX-1 and TLR4 in the aortic sinus of ApoE<sup>-/-</sup> mice

中STAT3和IL-6的表达, 检测ApoE<sup>-/-</sup>小鼠血液中炎症因子IL-6发现, 与模型组相比, p-HCA组小鼠血液中炎症因子IL-6水平显著降低(图9A); 进一步检测ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉窦中STAT3和IL-6的表达量, 结果表明, p-HCA有效减少了炎症转录因子STAT3和炎症因子IL-6的表达量(图9B~图9E)。

### 3 讨论

动脉粥样硬化引发的心血管疾病已成为危害人类生命健康的首要问题<sup>[14]</sup>。主动脉中由脂质积累和炎症反应诱发形成的泡沫细胞是动脉粥样硬化发

展的关键因素。LOX-1是巨噬细胞摄取ox-LDL的主要受体之一, 其高表达能有效促进巨噬细胞源性泡沫细胞的形成<sup>[15]</sup>; TLR4通过增加ox-LDL的摄取、激活炎症通路等方式促进巨噬细胞泡沫化<sup>[16]</sup>, 已有研究表明, TLR4能够有效激活STAT3<sup>[17]</sup>且STAT3激活后能显著增加IL-6的分泌<sup>[18]</sup>。TLR4/STAT3轴在调控机体健康中至关重要, 如阿魏酸通过靶向调控TLR4/JAK2/STAT3信号通路有效减轻了血小板减少的症状<sup>[19]</sup>; 黄曲霉素通过芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)增加TLR4/STAT3通路相关蛋白的表达水平进而促进结肠炎的发展<sup>[20]</sup>; 白藜芦醇



A: ELISA试剂盒测定p-HCA处理后小鼠血清中IL-6的含量。B: 主动脉窦中蛋白STAT3的免疫组化染色结果。阳性表达呈现棕色, 细胞核经染色后为蓝色。C: 利用ImageJ软件计算主动脉窦中蛋白STAT3的相对表达量。D: 主动脉窦中蛋白IL-6的免疫组化染色结果。阳性表达呈现棕色, 细胞核经染色后为蓝色。E: 利用ImageJ软件分析主动脉窦中蛋白IL-6的相对表达量。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。结果表示为平均值±标准差。

A: the content of IL-6 in serum of mice after p-HCA treatment was determined using an ELISA kit. B: immunohistochemical staining results of protein IL-6 in aortic sinus. Positive expression is brown, and the nucleus is blue after staining. C: relative expression of protein STAT3 in aortic sinus was analysed using ImageJ software. D: immunohistochemical staining results of protein IL-6 in aortic sinus. Positive expression is brown, and the nucleus is blue after staining. E: relative expression of protein IL-6 in aortic sinus was analysed using ImageJ software. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ . Values were expressed as  $\bar{x} \pm s$ .

图9 p-HCA降低ApoE<sup>-/-</sup>小鼠STAT3和IL-6的表达水平

Fig.9 p-HCA decreases the expression of STAT3 and IL-6 in ApoE<sup>-/-</sup> mice

能够通过抑制TLR4的表达和相关炎症反应来发挥保护心血管的功效<sup>[21]</sup>。本研究发现,p-HCA能有效抑制巨噬细胞源性泡沫细胞形成,其作用机制与下调LOX-1、TLR4、STAT3和IL-6的表达密切相关。但p-HCA是直接作用于TLR4还是通过调控其他中间分子间接抑制TLR4/STAT3通路的,需要进一步研究。

植物中的多酚组分作为天然的活性成分通过调节不同通路在抗动脉粥样硬化中发挥着积极的作用。如姜黄素通过降低p38促分裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)的磷酸化水平减少了ox-LDL诱导的清道夫受体CD36表达量,进而抑制了巨噬细胞向泡沫细胞的转化<sup>[22]</sup>;丹参酮IIA通过网膜素-1(omentin-1)/ATP结合盒转运体A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)通路增加了巨噬细胞中胆固醇的外排,发挥了抗动脉粥样硬化的作用<sup>[23]</sup>。由此可见,清道夫受体CD36、胆固醇外排相关蛋白ABCA1等蛋白均在抑制动脉粥样硬化发展中发挥着作用,p-HCA能否调控这些蛋白有待后续实验验证。

综上所述,p-HCA通过降低LOX-1、TLR4、STAT3和IL-6的表达水平进而减少了巨噬细胞源性泡沫细胞的形成,最终发挥了抗动脉粥样硬化的效应。这为将p-HCA用于动脉粥样硬化的防治提供了新的理论依据。

### 参考文献 (References)

- [1] 刘明波, 何新叶, 杨晓红, 等. 《中国心血管健康与疾病报告2023》要点解读[J]. 中国心血管杂志(LIU M B, HE X Y, YANG X H, et al. Interpretation of report on cardiovascular health and diseases in China 2023 [J]. Chinese Journal of Cardiovascular Medicine), 2024, 29(4): 305-24.
- [2] 杨莎莎, 胡清凤, 王辉波. 烟酰胺单核苷酸在心血管疾病中的作用[J]. 中华老年心脑血管病杂志(YANG S S, HU Q F, WANG H B. The role of nicotinamide mononucleotide in cardiovascular disease [J]. Chinese Journal of Geriatric Heart Brain and Vessel Diseases), 2025, 27(4): 523-6.
- [3] BOREN J, WILLIAMS K J. The central role of arterial retention of cholesterol-rich apolipoprotein-B-containing lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis: a triumph of simplicity [J]. Curr Opin Lipidol, 2016, 27(5): 473-83.
- [4] ZHU Y, XIAN X, WANG Z, et al. Research progress on the relationship between atherosclerosis and inflammation [J]. Biomolecules, 2018, 8(3): 1-11.
- [5] HALPER J. Basic components of vascular connective tissue and extracellular matrix [J]. Adv Pharmacol, 2018, 81: 95-127.
- [6] HUANG Z, ZHOU Z, MA Y, et al. Mito-Tempo alleviates ox-LDL-provoked foam cell formation by regulating Nrf2/NLRP3 signaling [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2024, 88(7): 759-67.
- [7] LIANG X, ZHANG J, YU J, et al. Quercetin ameliorates ox-LDL-induced cellular senescence of aortic endothelial cells and macrophages by p16/p21, p53/SERPINE1, and AMPK/mTOR pathways [J]. Eur J Med Res, 2025, 30(1): 359.
- [8] GIANOPOULOS I, DASKALOPOULOU S S. Macrophage profiling in atherosclerosis: understanding the unstable plaque [J]. Basic Res Cardiol, 2024, 119(1): 35-56.
- [9] PEI K, OU J, HUANG J, et al. p-coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities [J]. J Sci Food Agric, 2016, 96(9): 2952-62.
- [10] YU X D, ZHANG D, XIAO C L, et al. p-coumaric acid reverses depression-like behavior and memory deficit via inhibiting AGE-RAGE-mediated neuroinflammation [J]. Cells, 2022, 11(10): 1-15.
- [11] MANI A, KUSHWAHA K, KHURANA N, et al. p-coumaric acid attenuates high-fat diet-induced oxidative stress and nephropathy in diabetic rats [J]. J Anim Physiol Anim Nutr, 2022, 106(4): 872-80.
- [12] TEHAMI W, NANI A, KHAN N A, et al. New insights into the anticancer effects of p-coumaric acid: focus on colorectal cancer [J]. Dose Response, 2023, 21(1): 1-9.
- [13] SHEN Y, SONG X, LI L, et al. Protective effects of p-coumaric acid against oxidant and hyperlipidemia-an *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 111: 579-87.
- [14] CESARO A, ACERBO V, INDOLFI C, et al. The clinical relevance of the reversal of coronary atherosclerotic plaque [J]. Eur J Intern Med, 2024, 129: 16-24.
- [15] AKHMEDOV A, SAWAMURA T, CHEN C H, et al. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1): a crucial driver of atherosclerotic cardiovascular disease [J]. Eur Heart J, 2021, 42(18): 1797-807.
- [16] BAGHERI B, KHATIBIYAN FEYZABADI Z, NOURI A, et al. Atherosclerosis and Toll-like receptor4 (TLR4), lectin-like oxidized low-density lipoprotein-1 (LOX-1), and proprotein convertase subtilisin/kexin type9 (PCSK9) [J]. Mediators Inflamm, 2024, 2024: 5830491.
- [17] FU X Q, LIU B, WANG Y P, et al. Activation of STAT3 is a key event in TLR4 signaling-mediated melanoma progression [J]. Cell Death Dis. 2020, 11(4): 246.
- [18] HU Z, DENG N, LIU K, et al. CNTF-STAT3-IL-6 axis mediates neuroinflammatory cascade across Schwann cell-neuron-microglia [J]. Cell Rep, 2020, 31(7): 107657.
- [19] LIAO R, HUANG M, LIU Z, et al. Ferulic acid promotes thrombopoiesis via TLR4/JAK2/STAT3 signaling: a novel therapeutic strategy for thrombocytopenia [J]. Biochem Pharmacol, 2025, 239: 117088.
- [20] ZHANG L, CHENG D, ZHANG J, et al. Role of macrophage AHR/TLR4/STAT3 signaling axis in the colitis induced by non-canonical AHR ligand aflatoxin B1 [J]. J Hazard Mater, 2023, 452: 131262.
- [21] SUN J, ZHANG M, CHEN K, et al. Suppression of TLR4 ac-

- tivation by resveratrol is associated with STAT3 and Akt inhibition in oxidized low-density lipoprotein-activated platelets [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018 , 836: 1-10.
- [22] MIN K J, UM H J, CHO K H, et al. Curcumin inhibits oxLDL-induced CD36 expression and foam cell formation through the inhibition of p38 MAPK phosphorylation [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 58: 77-85.
- [23] TAN Y L, OU H X, ZHANG M, et al. Tanshinone IIA promotes macrophage cholesterol efflux and attenuates atherosclerosis of apoE<sup>-/-</sup> mice by Omentin-1/ABCA1 pathway [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2019, 20(5): 422-32.