

本文引用: 谭超, 张仪, 王子焱, 徐艺嘉, 李明笑, 张国民. 姜黄素通过 miR-125a-3p/S1PR3 通路调控 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化及胆固醇流出蛋白 ABCA1/G1 表达的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(5): 898-906.

姜黄素通过 miR-125a-3p/S1PR3 通路调控 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化及胆固醇流出蛋白 ABCA1/G1 表达的研究

谭超^{1,2,3}, 张仪^{1,2}, 王子焱^{1,2}, 徐艺嘉¹, 李明笑¹, 张国民^{1*}

1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007;

3. 湖南中医药大学中医学国内一流建设学科, 湖南长沙 410208

〔摘要〕 目的 探讨姜黄素对人单核细胞白血病细胞(THP-1)源性巨噬细胞泡沫化及胆固醇流出蛋白三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 A1/G1(ABCA1/G1)表达的影响,及其对 miR-125a-3p 表达和鞘氨醇-1-磷酸受体 3(S1PR3)蛋白水平的调控机制。方法 以 THP-1 源性巨噬细胞为研究对象,分为空白组、模型组、姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组。除空白组外其余各组采用氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导 THP-1 源性巨噬细胞形成泡沫化模型。模型诱导成功后,空白组、模型组予以完全培养基培养,姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组分别予以姜黄素、miR-125a-3p 抑制剂、阿托伐他汀钙共培养。采用油红 O 染色观察细胞形态;酶法检测细胞内总胆固醇(TC)、胆固醇酯(CE)含量;流式细胞术检测细胞极化水平;RT-qPCR 测定细胞内 miR-125a-3p、S1PR3 mRNA 的表达水平;Western blot 检测 S1PR3、ABCA1、ABCG1 蛋白表达水平;ELISA 检测炎症因子白细胞介素(IL)-6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)表达水平。结果 与空白组比较,模型组细胞内橘红色颗粒显著增加,泡沫细胞形成率升高($P<0.05$);TC、CE 水平升高($P<0.05$);M1 型巨噬细胞极化程度升高($P<0.05$);IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平升高($P<0.05$);miR-125a-3p、S1PR3 mRNA 表达上调($P<0.05$);ABCA1、ABCG1 蛋白表达降低($P<0.05$)。与模型组比较,姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组及阳性药物组细胞内橘红色颗粒显著减少,泡沫细胞形成率降低($P<0.05$);TC、CE 及胆固醇酯化率下降($P<0.05$);M2 型巨噬细胞极化程度升高($P<0.05$);miR-125a-3p、S1PR3 mRNA 表达下调($P<0.05$),ABCA1、ABCG1 蛋白表达升高($P<0.05$)。与模型组比较,姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平降低($P<0.05$)。结论 姜黄素可有效抑制 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化,其机制可能与下调 miR-125a-3p 表达、降低 S1PR3 过度表达,进而上调胆固醇流出蛋白 ABCA1/G1 水平有关。

〔关键词〕 姜黄素;THP-1 源性巨噬细胞;巨噬细胞;泡沫化;鞘氨醇-1-磷酸受体 3;miR-125a-3p

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.05.004

Curcumin regulation of foam cell formation and cholesterol efflux proteins ABCA1/G1 expression in THP-1-derived macrophages via the miR-125a-3p/S1PR3 pathway

TAN Chao^{1,2,3}, ZHANG Yi^{1,2}, WANG Ziyang^{1,2}, XU Yijia¹, LI Mingxiao¹, ZHANG Guomin^{1*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 3. The Domestic First-class Discipline Construction Project of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

〔收稿日期〕 2025-10-30

〔基金项目〕 湖南省自然科学基金科卫联合项目(2022JJ70112);第六批全国中医临床优秀人才研修项目(中医药青年拔尖人才培养项目)(国中医药人教函[2025]256号);湖南省“十四五”中医药骨干人才项目[湘中医药[2024]3号(骨干人才)]。

〔通信作者〕 * 张国民,男,博士,教授,博士研究生导师, E-mail: 003334@hnucm.edu.cn。

[Abstract] Objective To explore the effects of curcumin on foam cell formation and the expression of cholesterol efflux proteins adenosine triphosphate-binding cassette transporter A1/G1 (ABCA1/G1) in human monocytic leukemia cell (THP-1)-derived macrophages, as well as its regulatory mechanisms on miR-125a-3p expression and sphingosine-1-phosphate receptor 3 (S1PR3) protein levels. **Methods** THP-1-derived macrophages were used as the research subject and divided into blank group, model group, curcumin group, miR-125a-3p inhibitor group, and positive drug group. Except for the blank group, all groups were induced with oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) to establish a foam cell model in THP-1-derived macrophages. After successful induction, the blank and model groups were cultured in complete medium, while the curcumin, miR-125a-3p inhibitor, and positive drug groups were co-cultured with curcumin, miR-125a-3p inhibitor, and atorvastatin calcium, respectively. Oil Red O staining was used to observe cell morphology; enzymatic methods were used to determine intracellular total cholesterol (TC) and cholesterol ester (CE) levels; flow cytometry was employed to assess macrophage polarization; RT-qPCR was applied to measure intracellular miR-125a-3p and S1PR3 mRNA expression levels; Western blot was used to test the protein expression levels of S1PR3, ABCA1, and ABCG1; and ELISA was used to determine the levels of inflammatory cytokines interleukin (IL)-6, IL-1 β , and tumor necrosis factor- α (TNF- α). **Results** Compared with the blank group, the model group showed a significant increase in intracellular orange-red lipid droplets and foam cell formation rate ($P<0.05$); elevated TC and CE levels ($P<0.05$); increased M1 macrophage polarization ($P<0.05$); increased levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α ($P<0.05$); upregulated expression of miR-125a-3p and S1PR3 mRNA ($P<0.05$); and decreased protein expression of ABCA1 and ABCG1 ($P<0.05$). Compared with the model group, the curcumin, miR-125a-3p inhibitor, and positive drug groups showed significantly reduced intracellular orange-red lipid droplets and foam cell formation rate ($P<0.05$); decreased TC, CE, and cholesterol esterification rate ($P<0.05$); increased M2 macrophage polarization ($P<0.05$); downregulated expression of miR-125a-3p and S1PR3 mRNA ($P<0.05$); and increased protein expression of ABCA1 and ABCG1 ($P<0.05$). Compared with the model group, the curcumin and miR-125a-3p inhibitor groups also exhibited reduced levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α ($P<0.05$). **Conclusion** Curcumin can effectively inhibit foam cell formation in THP-1-derived macrophages. Its mechanism may be related to downregulation of miR-125a-3p expression, reduction of S1PR3 overexpression, and subsequent upregulation of the cholesterol efflux proteins ABCA1/G1.

[Keywords] curcumin; THP-1-derived macrophage; macrophage; foam cell formation; sphingosine-1-phosphate receptor 3; miR-125a-3p

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是以脂质稳态失调为特征的慢性炎症性血管疾病,作为多数心血管疾病的病理基础,其所致的心脑血管急性事件与慢性损伤,已成为中国城乡居民的首要死因^[1]。巨噬细胞作为 AS 病变的主要细胞类型,在 AS 的发生和发展中起着核心作用^[2]。在 AS 病理进程中,循环单核细胞浸润至血管内皮下并分化为巨噬细胞。这些巨噬细胞在过量摄取氧化低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)等修饰脂蛋白后发生脂质蓄积并最终形成标志性的泡沫细胞,进而介导脂质沉积,该过程是 AS 病理进程中斑块形成的核心环节^[3]。因而,促进巨噬细胞内胆固醇流出、抑制泡沫细胞形成、减少动脉壁脂质沉积,对临床防治 AS 具有重要意义。

非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)在 AS

的分子调控中起重要作用。微小 RNA(microRNA, miRNA)是长度为 18~25 个核苷酸、进化上保守的非编码 RNA,有研究证明,miR-125a-3p 为 AS 的促进因素;在 ox-LDL 诱导的损伤微环境中,miR-125a-3p 可通过抑制抗凋亡基因[如 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma 2, Bcl-2)]或促泡沫化基因[如鞘氨醇-1-磷酸受体 3(sphingosine-1-phosphate receptor 3, S1PR3)]的表达,促进内皮细胞凋亡,抑制内皮细胞生长,同时可调控巨噬细胞泡沫化相关基因表达,从而参与 AS 发病的病理过程^[4-5]。鞘氨醇-1-磷酸受体(sphingosine-1-phosphate receptor, S1PR)是一种 G 蛋白偶联受体,具有 S1PR1、S1PR2、S1PR3、S1PR4 和 S1PR5 共 5 个亚型,其通过与鞘氨醇-1-磷酸(sphingosine-1-phosphate, S1P)结合发挥功能作用^[6]。最新研究证实,S1PR3 在巨噬细胞中可通过多

种机制下调促进胆固醇外排的关键蛋白三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 A1G1(ATP-binding cassette transporter A1/G1, ABCA1/G1)的表达,抑制胆固醇外流^[5,7]。姜黄素作为一种从姜黄、郁金及莪术等传统药用植物中提取的多酚类化合物,具有行气活血、通经止痛等功效。近年来,科学研究进一步揭示了姜黄素在医药领域的广泛潜力^[8-10]。有研究指出,姜黄素具有抗炎、抗氧化、抗纤维化、降血脂及抗血栓作用,能通过抑制 miRNA 发挥抗 AS 作用,提示其具备作为心血管疾病治疗药物的潜在价值^[11-13]。

本研究基于以上前期研究^[5,7,11],提出假设:姜黄素可干预 AS 进程,其机制可能与 miR-125a-3p/S1PR3 调控巨噬细胞胆固醇外流密切相关,并涉及关键转运蛋白 ABCA1 和 ABCG1。

1 材料

1.1 细胞株

人单核细胞白血病细胞(human monocytic leukemia cell line, THP-1)细胞株购自武汉普诺赛生命科技有限公司(批号:CL-0233)。

1.2 主要药品与试剂

姜黄素、佛波酯(phorbol ester, PMA)(美国 Am-Beed 公司,批号:A147405-AR0、A175370-QQ7);人 ox-LDL(广州奕源生物科技有限公司,批号:YB-002);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号:G2026-200T);miR-125a-3p 抑制剂(广州市锐博生物科技有限公司,批号:Y0217);油红 O 染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号:G1262);CD86 抗体、CD206 抗体(美国 eBioscience 公司,批号:17-2069-42、12-0869-42);鼠源抗 ABCA1 抗体、兔源抗 S1PR3 抗体、抗 ABCG1 抗体(英国 Abcam 公司,批号:ab18180、GB23303、ab52617);兔源抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号:GB15002);白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)ELISA 试剂盒(上海抚生实业有限公司,批号:260107B05、260107A12、260107B10)。

1.3 主要仪器

CO₂ 培养箱(上海一恒科学仪器有限公司,型

号:BNP-150CH);细胞计数仪(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,型号:C100-SE);酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司,型号:RT-6100);荧光定量 PCR 仪(美国 BioRad 公司,型号:CFX Connect)。

2 方法

2.1 THP-1 细胞培养及 THP-1 源性巨噬细胞的诱导分化

配制 10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、含 1%青霉素-链霉素的 RPMI-1640 培养液,将细胞置于培养液中,于 37℃、5%CO₂ 的培养箱内常规培养,每 2.5 天换液 1 次。待细胞生长至对数期后,收集细胞,使用含有 120 nmol/L PMA 的完全培养基继续孵育 48 h,以诱导 THP-1 细胞分化为巨噬细胞。

2.2 药物配制及细胞毒性检测

将适量姜黄素与阿托伐他汀钙粉末分别溶于二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)中,配制为 50 mmol/L 的保存液,于-20℃储存。使用前用培养基稀释至所需浓度,并确保培养基中 DMSO 的终浓度 $\leq 0.1\%$ 。调整细胞浓度为 1×10^5 /mL,按每孔 1×10^4 个细胞接种至 96 孔板,在 37℃、5%CO₂ 培养箱中放置 48 h 使细胞贴壁。随后,分别更换为含有不同终浓度姜黄素(0、5、10、20、40、80 μ mol/L)或阿托伐他汀钙(0、5、10、20、40、80 μ mol/L)的 RPMI-1640 培养液,继续培养 24 h。每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液,孵育 4 h 后,参照试剂盒说明书测定吸光度以评估细胞活性。通过该方法筛选出后续实验所用药物的适宜浓度,以排除因药物毒性导致的实验误差。

2.3 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化模型的诱导及实验分组

诱导 THP-1 细胞分化为巨噬细胞后,分为空白组、模型组、姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组。除空白组外,将其余组培养基更换成含 50 μ g/mL ox-LDL 的无血清 RPMI-1640 培养液,于 37℃、5%CO₂ 培养箱中共同孵育 4 h,油红 O 染色见细胞内橘红色颗粒形成,提示模型诱导成功^[14]。模型诱导成功后,姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组分别予以 20 μ mol/L 姜黄素溶液、50 nmol/L miR-125a-3p 抑制剂溶液、10 μ mol/L 阿托伐他汀钙溶液共培养 48 h。

2.4 油红 O 染色和泡沫细胞形成率测定

THP-1 细胞泡沫化并分组干预后,弃去上清液,使用 PBS 冲洗 3 次,每次 5 min,4%多聚甲醛固定 30 min,镜下观察细胞形态改变,确认细胞固定良好。固定后使用油红 O 染色液染色 10 min,异丙醇快速漂洗 10 s,PBS 冲洗 3 次后,甘油封片。显微镜下观察:将胞内含 ≥ 5 个较大橘红色颗粒的细胞判定为泡沫细胞。每样本随机选取 10 个视野进行计数,分别记录泡沫细胞数与细胞总数,并按以下公式计算泡沫细胞形成率:泡沫细胞形成率(%)=(泡沫细胞数/总细胞数) $\times 100\%$ 。

2.5 细胞内胆固醇含量测定

诱导模型并分组干预后,收集细胞后按试剂盒说明书处理。参照试剂盒说明书测定吸光度,计算总胆固醇(total cholesterol, TC)、胆固醇酯(cholesterol ester, CE)含量,胆固醇酯化率=(CE/TC) $\times 100\%$ 。

2.6 RT-PCR 法检测细胞 miR-125a-3p、S1PR3 mRNA 表达量

采用 Trizol 法提取样本总 RNA。取 1 μg 总 RNA 进行逆转录反应,以合成的互补 DNA(complementary DNA, cDNA)进行目的基因扩增。将制备好的 cDNA 进行 PCR 扩增,完成后放入荧光定量 PCR 仪中反应,反应结束后进行扩增曲线、熔解曲线的分析和结果统计,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因的表达量。引物序列见表 1。

2.7 流式细胞术检测巨噬细胞极化水平

收集各组细胞,用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次。加入荧光标记的 CD86 抗体,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下孵育 30 min。染色结束后,用 PBS 洗涤 2 次。将上述细胞重悬于 1 mL 细胞固定液中,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光固定 30 min。固定结束后离心弃去固定液,向获得的细胞沉淀中加入 1 $\times$ 破膜工作液,孵育 30 min。离心得到细胞沉淀,用染色缓冲液清洗细胞 2 次。向细胞沉淀中加

入荧光标记的 CD206 抗体,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下孵育 30 min。用染色缓冲液清洗细胞 3 次后,加入 200 μL 染色缓冲液重悬细胞,上机检测。

2.8 Western blot 检测 S1PR3、ABCA1、ABCG1 蛋白表达

提取细胞总蛋白,加入适量的 4 $\times$ 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)上样缓冲液,将混合后的样品煮沸 5 min,SDS-聚丙烯酰胺(polyacrylamide, PAGE)凝胶电泳后转移至 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶室温封闭 2 h,加入稀释过的 S1PR3 (1:4 000)、ABCA1(1:200)、ABCG1(1:1 000)和兔抗 GAPDH(1:3 000)一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜。TBST 洗涤 10 min,重复 3 次后加入稀释过的二抗(1:5 000),室温孵育 1 h,TBST 洗涤 10 min,重复 3 次。将洗涤后的 PVDF 膜加入 ECL 发光液充分浸没,反应 1 min,放入化学发光仪中显影、定影,将胶片进行扫描存档,采用 AlphaEaseFC 6.0 软件处理系统分析目标条带的光密度值。

2.9 ELISA 检测 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达

收集各组细胞样本。分别设置标准品孔、空白孔与样本孔。标准品孔加入不同浓度标准品 50 μL ,空白孔加入标本稀释液 50 μL ,样本孔加入待测样本 50 μL 。除空白孔外,各孔加入 50 μL 生物素化抗原,混匀后封板,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 60 min,洗涤。每孔加入 50 μL 酶标亲和素,封板后 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,洗涤 5 次。避光条件下 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min 后,每孔加入 50 μL 终止液,于 15 min 内在 450 nm 波长下测定各孔 OD 值。

2.10 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计学软件处理,结果以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。计量资料若数据满足正态分布且方差齐时,多组间均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法;若数据不满足正态性时,采用非参数检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

表 1 U6、miR-125a-3p、GAPDH、S1PR3 基因引物序列
Table 1 Primer sequences for U6, miR-125a-3p, GAPDH, and S1PR3

引物名称	正向序列(5'-3')	反向序列(5'-3')	长度/bp
U6	CTCGCTTCGGCAGCACA	AACGCTTCACGAATTTGCGT	94
miR-125a-3p	ACACTCCAGCTGGGACAGGTGAGGTTCTTG	TGCTGCTCGTGGAGTCG	65
GAPDH	GGAAGCTTGTCATCAATGGAAATC	TGATGACCCCTTTTGGCTCCC	168
S1PR3	CCTCTACGCACGCATCTACTTC	AACACGCTCACCACAATCACC	117

3 结果

3.1 姜黄素、阿托伐他汀钙细胞毒性检测结果

与 0 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素比较, 5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素对细胞活性无显著影响 ($P>0.05$), 80 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素使 THP-1 巨噬细胞活性下降 ($P<0.05$)。与 0 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀钙比较, 5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀钙对细胞活性无显著影响 ($P>0.05$)。详见图 1。结合实验前期文献研究结果^[15-16], 确定以姜黄素浓度 20 $\mu\text{mol/L}$ 、阿托伐他汀钙浓度 10 $\mu\text{mol/L}$ 为实验干预浓度, 作为下一步实验的基础。

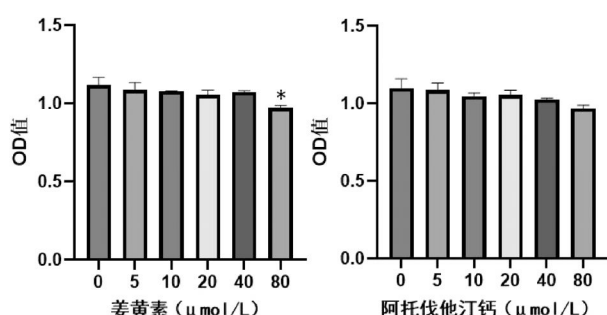


图 1 不同浓度姜黄素、阿托伐他汀钙对细胞活性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.1 Effects of varying concentrations of curcumin and atorvastatin calcium on cell viability ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注: 与 0 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素比较, $*P<0.05$ 。

3.2 各组细胞油红 O 染色镜下观察结果

与空白组比较, 模型组、姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组细胞内均可见大片橘红色颗粒; 与模型组比较, 姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组细胞内橘红色颗粒数显著减少。详见图 2。

3.3 各组细胞泡沫细胞形成率比较

与空白组比较, 模型组、姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组泡沫细胞形成率增加 ($P<$

0.05)。与模型组比较, 姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组泡沫细胞形成率降低 ($P<0.05$)。与阳性药物组比较, 姜黄素组泡沫细胞形成率降低 ($P<0.05$), miR-125a-3p 抑制剂组泡沫细胞形成率升高 ($P<0.05$)。详见图 3。

3.4 各组细胞胆固醇水平比较

模型组 $\text{CE/TC}>50\%$, 表明模型复制成功。与空白组比较, 模型组、姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组 TC 、 CE 、 CE/TC 升高 ($P<0.05$)。与模型组比较, 姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组 TC 、 CE 、 CE/TC 水平降低 ($P<0.05$)。与阳性药物组比较, 姜黄素组 TC 、 CE 、 CE/TC 降低, miR-125a-3p 抑制剂组 TC 、 CE 、 CE/TC 升高 ($P<0.05$)。详见表 2。

3.5 各组细胞 miR-125a-3p、S1PR3 mRNA 表达水平比较

与空白组比较, 模型组、姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组 miR-125a-3p、S1PR3 mRNA 表达水平升高 ($P<0.05$)。与模型组比较, 姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组 miR-125a-3p、S1PR3 mRNA 表达水平降低 ($P<0.05$)。与阳性药物组比较, 姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组 miR-125a-3p 表达水平降低 ($P<0.05$), 姜黄素组 S1PR3 mRNA 表达水平降低 ($P<0.05$), miR-125a-3p 抑制剂组 S1PR3 mRNA 表达水平升高 ($P<0.05$)。详见表 3。

3.6 各组细胞巨噬细胞极化水平比较

与空白组比较, 模型组、姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组巨噬细胞极化方向以 M1 型为主, M2 型巨噬细胞极化水平降低 ($P<0.05$)。与模型组比较, 姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组巨噬细胞 M2 型极化程度升高 ($P<0.05$)。与阳性药物组比较, 姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组 M2 型极化程度升高 ($P<0.05$)。详见表 4、图 4。

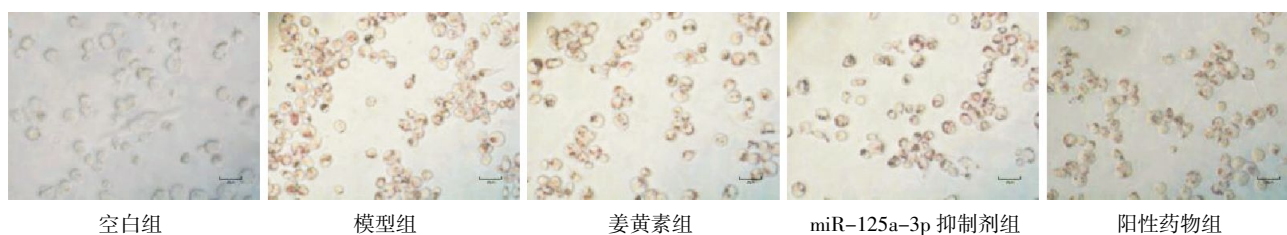


图 2 各组细胞油红 O 染色图 ($\times 400$)

Fig.2 Oil Red O staining images in each group of cells ($\times 400$)

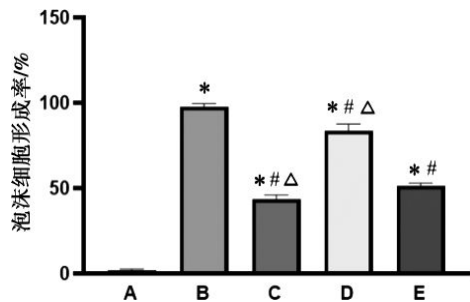


图 3 各组细胞泡沫细胞形成率比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.3 Comparison of foam cell formation rates among different groups of cells ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注:A.空白组;B.模型组;C.姜黄素组;D.miR-125a-3p 抑制剂组;E.阳性药物组。与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与阳性药物组比较, $\Delta P<0.05$ 。

表 2 各组细胞胆固醇水平比较($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 2 Comparison of cholesterol levels among different groups of cells ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别	TC/(mmol/g)	CE/(mmol/g)	CE/TC/%
空白组	1.54±0.06	0.38±0.04	25.10±2.70
模型组	4.40±0.10*	2.75±0.12*	62.52±1.75*
姜黄素组	2.84±0.06*# Δ	0.93±0.01*# Δ	32.82±1.28*# Δ
miR-125a-3p 抑制剂组	3.19±0.07*# Δ	1.39±0.04*# Δ	43.70±0.73*# Δ
阳性药物组	2.85±0.09*#	1.09±0.04*#	38.36±2.07*#

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与阳性药物组比较, $\Delta P<0.05$ 。

表 3 各组细胞 miR-125a-3p、S1PR3 mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 3 Comparison of miR-125a-3p and S1PR3 mRNA expression levels among different groups of cells ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别	miR-125a-3p mRNA	S1PR3 mRNA
空白组	1.17±0.04	1.03±0.10
模型组	3.19±0.12*	1.50±0.05*
姜黄素组	1.59±0.02*# Δ	1.18±0.02*# Δ
miR-125a-3p 抑制剂组	1.70±0.26*# Δ	1.38±0.03*# Δ
阳性药物组	2.15±0.24*#	1.31±0.02*#

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与阳性药物组比较, $\Delta P<0.05$ 。

表 4 各组细胞巨噬细胞极化水平比较($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 4 Comparison of macrophage polarization levels among different groups of cells ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别	M2/M1
空白组	3.28±0.92
模型组	0.26±0.04*
姜黄素组	1.08±0.05*# Δ
miR-125a-3p 抑制剂组	0.45±0.06*# Δ
阳性药物组	0.33±0.05*

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与阳性药物组比较, $\Delta P<0.05$ 。

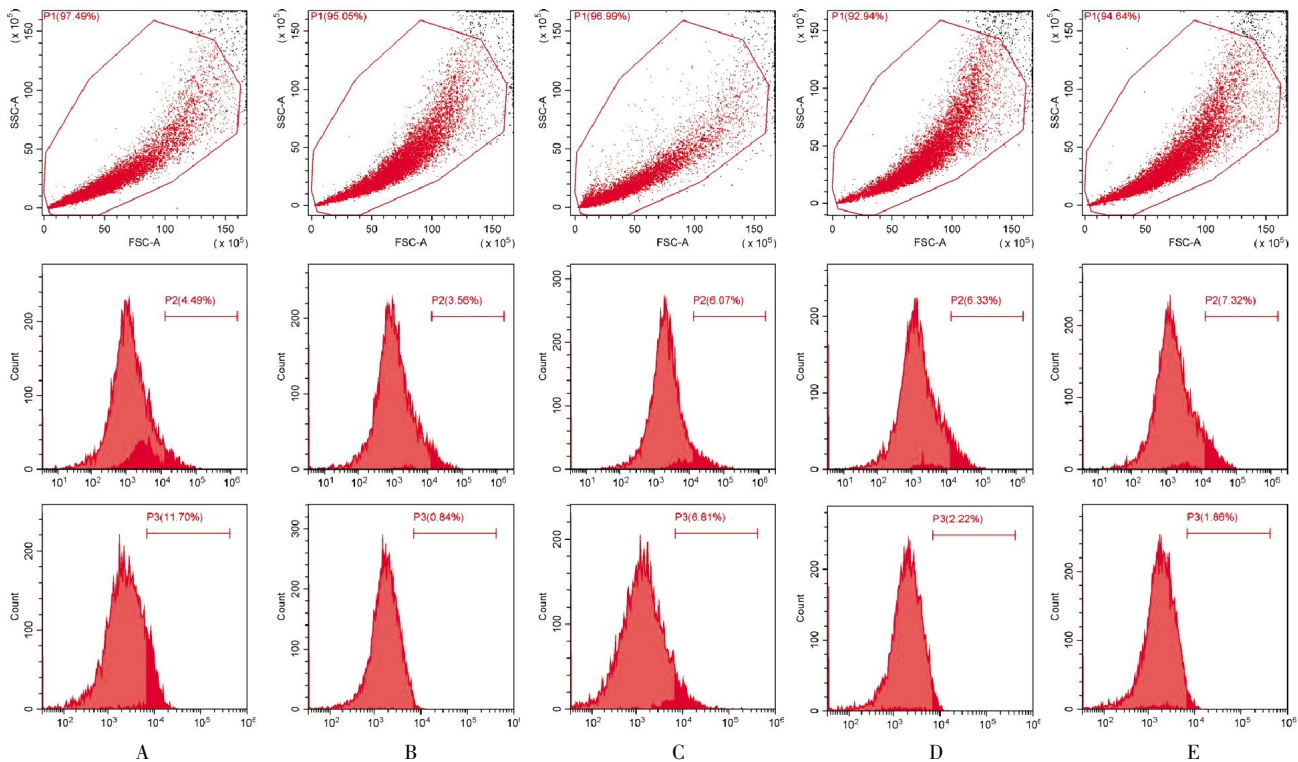


图 4 各组巨噬细胞极化水平比较

Fig.4 Comparison of macrophage polarization levels among different groups of cells

注:A.空白组;B.模型组;C.姜黄素组;D.miR-125a-3p 抑制剂组;E.阳性药物组。

3.7 各组细胞 S1PR3、ABCA1、ABCG1 蛋白表达水平比较

与空白组比较,模型组、姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组 S1PR3 表达水平升高,ABCA1、ABCG1 表达水平降低($P<0.05$)。与模型组比较,姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组 S1PR3 表达水平降低,ABCA1、ABCG1 表达水平升高($P<0.05$)。与阳性药物组比较,姜黄素组 S1PR3 表达水平降低,ABCA1、ABCG1 表达水平升高($P<0.05$);miR-125a-3p 抑制剂组 S1PR3 表达水平升高,ABCA1、ABCG1 表达水平降低($P<0.05$)。详见图 5、表 5。

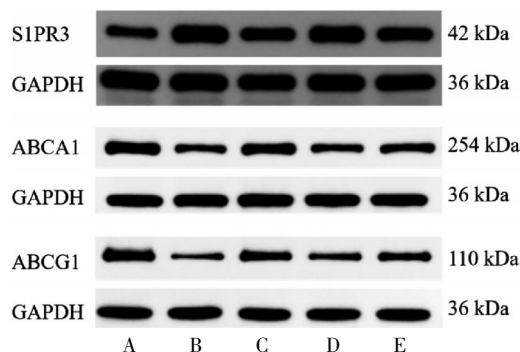


图 5 各组细胞 S1PR3、ABCA1、ABCG1 蛋白表达条带图
($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig.5 Protein expression bands of S1PR3, ABCA1, and ABCG1 in each group of cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

注:A.空白组;B.模型组;C.姜黄素组;D.miR-125a-3p 抑制剂组;E.阳性药物组。

3.8 各组细胞 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达水平比较

与空白组比较,模型组、姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组、阳性药物组 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均升高($P<0.05$)。与模型组比较,姜黄素组、miR-125a-3p 抑制剂组 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达水平降低($P<0.05$),阳性药物组 TNF- α 表达水平降低($P<0.05$)。与阳性药物组比较,姜黄素组、miR-125a-3p

表 5 各组细胞 S1PR3、ABCA1、ABCG1 蛋白表达水平比较
($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Comparison of S1PR3, ABCA1, and ABCG1 protein expression levels among different groups of cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	S1PR3/GAPDH	ABCA1/GAPDH	ABCG1/GAPDH
空白组	0.44 $\pm$ 0.17	1.22 $\pm$ 0.07	1.15 $\pm$ 0.07
模型组	0.99 $\pm$ 0.28*	0.39 $\pm$ 0.04*	0.45 $\pm$ 0.06*
姜黄素组	0.60 $\pm$ 0.01* Δ	0.96 $\pm$ 0.1* Δ	0.96 $\pm$ 0.07* Δ
miR-125a-3p 抑制剂组	0.80 $\pm$ 0.11* Δ	0.66 $\pm$ 0.09* Δ	0.71 $\pm$ 0.06* Δ
阳性药物组	0.70 $\pm$ 0.19* Δ	0.79 $\pm$ 0.08* Δ	0.81 $\pm$ 0.07* Δ

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与阳性药物组比较, $\Delta P<0.05$ 。

抑制剂组 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达水平降低($P<0.05$)。详见表 6。

4 讨论

AS 是一种以动脉壁脂质沉积和慢性炎症为特征的疾病^[17]。中医虽无此病名,但根据其临床表现,可将其归属于“脉痹”“胸痹”“心痛”等范畴,其核心病机为痰浊、瘀血痹阻血脉,与现代医学的脂质代谢紊乱与炎症理论相通^[11-13]。

泡沫细胞形成是 AS 的早期关键事件^[16]。现有研究表明,S1PR3 蛋白及其配体鞘氨醇-1-磷酸在 AS 炎症反应中扮演重要角色,可趋化并激活巨噬细胞,直接干预 AS 病理进程^[17]。巨噬细胞表达多种参与胆固醇转运的跨膜蛋白,其胆固醇稳态高度依赖于 ABCA1、ABCG1 等转运蛋白^[18]。ABCA1/G1 的激活能够介导细胞内脂质及胆固醇向载脂蛋白 A-I(apolipoprotein A-I, ApoA-I)外流,进而形成新生前 β -高密度脂蛋白^[19-20],并在 B 组 1 型清道夫受体(scavenger receptor class B type I, SR-B1)的协助下转化为成熟的高密度脂蛋白^[21-22]。ABCA1/ABCG1 介导的胆固醇外流是体内胆固醇逆转运的起始关键步骤,有助于将体内过剩的脂质排出体外,从而降低 AS 的发病风险^[22]。

表 6 各组细胞 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=6, \text{pg/mL}$)

Table 6 Comparison of IL-6, IL-1 β , and TNF- α expression levels among different groups of cells ($\bar{x}\pm s, n=6, \text{pg/mL}$)

组别	IL-6	IL-1 β	TNF- α
空白组	288.96 $\pm$ 62.35	715.51 $\pm$ 108.44	503.10 $\pm$ 58.33
模型组	825.29 $\pm$ 34.96*	2 077.62 $\pm$ 122.37*	1 246.04 $\pm$ 24.30*
姜黄素组	612.25 $\pm$ 16.01* Δ	1 245.20 $\pm$ 109.52* Δ	796.04 $\pm$ 118.03* Δ
miR-125a-3p 抑制剂组	675.47 $\pm$ 60.59* Δ	1 629.47 $\pm$ 70.50* Δ	942.28 $\pm$ 38.27* Δ
阳性药物组	715.46 $\pm$ 43.34*	1 953.13 $\pm$ 76.17*	1 063.45 $\pm$ 40.07* Δ

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与阳性药物组比较, $\Delta P<0.05$ 。

研究发现,miR-125a-3p可能通过靶向调控S1PR3表达参与AS进程。在AS病理过程中miR-125a-3p/S1PR3激活下游核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路^[23-24],促使TNF- α 、IL-6及IL-1 β 等炎症因子释放,并抑制ABCA1/ABCG1表达,同时加剧炎症反应与阻碍胆固醇外流,形成恶性循环^[25-27]。在AS病灶区的泡沫细胞中,可检测到脂质内吞/摄取相关途径的活化水平升高,表现为A组1型清道夫受体(scavenger receptor class A type I, SR-A1)表达上调,其介导的脂质摄取增强,而ABCA1/G1介导的胆固醇外排能力下降,最终导致脂质大量蓄积^[27]。因此,干预miR-125a-3p/S1PR3信号轴可同时抑制炎症并促进胆固醇外流,为动脉粥样硬化的治疗与预防提供潜在新靶点。

姜黄素是姜黄的主要活性成分,具有显著的抗炎、抗氧化及调节脂质代谢的作用^[28]。现有研究表明,姜黄素能够上调ABCA1/ApoA-I表达^[29],激活ox-LDL诱导的泡沫化巨噬细胞中的肝X受体(liver X receptor, LXR)-ABCA1/SR-BI通路,促进巨噬细胞胆固醇外流,减轻泡沫细胞形成^[30]。本研究从miR-125a-3p/S1PR3轴探讨姜黄素抑制巨噬细胞泡沫化的分子机制。实验结果显示,经ox-LDL诱导后,模型组巨噬细胞中miR-125a-3p与S1PR3表达显著升高,细胞内TC、CE水平及胆固醇酯化率显著升高,提示泡沫化进程加剧。姜黄素干预可有效下调miR-125a-3p及S1PR3的表达,同时上调胆固醇外流关键蛋白ABCA1与ABCG1的水平,显著降低TC、CE含量与胆固醇酯化率,miR-125a-3p抑制剂组呈现相似变化,提示姜黄素可能通过抑制miR-125a-3p的表达,进而下调其靶点S1PR3,上调ABCA1/ABCG1介导的胆固醇外流,从而减轻脂质蓄积。

本研究发现,姜黄素在调节巨噬细胞表型极化和抗炎方面亦表现出显著作用。实验结果表明,姜黄素干预可显著提高THP-1源性巨噬细胞中M2抗炎表型亚群比例,同时减少M1型极化,并抑制炎症因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的释放。同样,miR-125a-3p抑制剂也表现出类似的促M2、抑M1及抗炎效应。该结果进一步支持miR-125a-3p/S1PR3轴在调控巨噬细胞极化的方向中具有潜在关键作用,并与姜黄素的调控作用相一致,提示姜黄素可能通过靶向抑制该信号轴介导巨噬细胞向抗炎表型转化。

此外,本研究以阿托伐他汀作为阳性对照,既往研究显示其有明确的脂质代谢调控及抗炎效果^[31-32]。本研究结果显示,阿托伐他汀在降低脂质沉积及部分调节靶点如TNF- α 方面显示出明确效果,但与模型组比较,其对IL-6、IL-1 β 水平的影响无显著差异,这可能与药物浓度、作用时间或细胞类型特异性有关。

综上所述,姜黄素可有效抑制THP-1源性巨噬细胞泡沫化,减少细胞内脂质蓄积。其机制与下调miR-125a-3p/S1PR3表达,进而上调胆固醇流出蛋白ABCA1与ABCG1水平,并促进巨噬细胞向M2抗炎表型极化有关。上述结果有助于揭示姜黄素抗AS的分子机制,为以miR-125a-3p/S1PR3轴为靶点的AS干预策略提供理论依据,亦为中医药现代化研究提供参考。受限于实验条件及实验成本,本研究对于miR-125a-3p/S1PR3对胆固醇逆转运及炎症网络的调控机制的探讨仅限于细胞水平,未来需在ApoE^{-/-}小鼠等AS动物模型中进一步验证该通路的体内作用,并深入探索其下游的调控网络。

参考文献

- [1] 国家心血管病中心,中国心血管健康与疾病报告编写组.中国心血管健康与疾病报告2024概要[J].中国循环杂志,2025,40(6):521-559.
- [2] CHEN W, SCHILPEROORT M, CAO Y H, et al. Macrophage-targeted nanomedicine for the diagnosis and treatment of atherosclerosis[J]. Nature Reviews Cardiology, 2022, 19(4): 228-249.
- [3] AJOOBABADY A, PRATICO D, LIN L, et al. Inflammation in atherosclerosis: Pathophysiology and mechanisms[J]. Cell Death & Disease, 2024, 15: 817.
- [4] ZHU Y, TIAN X F, WANG Y, et al. Inhibition of lncRNA NFIA-AS1 alleviates abnormal proliferation and inflammation of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis by regulating miR-125a-3p/AKT1 axis[J]. International Journal of Genomics, 2023, 2023: 8437898.
- [5] XIA F, ZENG Q R. miR-125a-3p aggravates ox-LDL-induced HUVEC injury through BAMBI[J]. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 2022, 36(11): e23198.
- [6] CARTIER A, HLA T. Sphingosine 1-phosphate: Lipid signaling in pathology and therapy[J]. Science, 2019, 366(6463): 1-30.
- [7] DOU P P, TAN Y Q, LI K F, et al. MicroRNA expression profile of cholesterol metabolism analysis mediated by Thelenota ananas desulfated holothurin A saponin in RAW2647 macrophage-foam cells[J]. Food & Function, 2022, 13(21): 11049-11060.

- [8] LIU C F, ROKAVEC M, HUANG Z K, et al. Curcumin activates a ROS/KEAP1/NRF2/miR-34a/b/c cascade to suppress colorectal cancer metastasis[J]. *Cell Death & Differentiation*, 2023, 30(7): 1771-1785.
- [9] ZIA A, FARKHONDEH T, POURBAGHER-SHAHRI A M, et al. The role of curcumin in aging and senescence: Molecular mechanisms[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 134: 111119.
- [10] POURBAGHER-SHAHRI A M, FARKHONDEH T, ASHRAFIZADEH M, et al. Curcumin and cardiovascular diseases: Focus on cellular targets and cascades[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 136: 111214.
- [11] YANG C K, ZHU Q W, CHEN Y B, et al. Review of the protective mechanism of curcumin on cardiovascular disease[J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2024, 18: 165-192.
- [12] OUYANG S, ZHANG O, XIANG H, et al. Curcumin improves atherosclerosis by inhibiting the epigenetic repression of lncRNA MIAT to miR-124[J]. *Vascular*, 2022, 30(6): 1213-1223.
- [13] CHEN D C, ZHU C M, YE S W, et al. Curcumin ameliorates oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL)-caused damage in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) through the miR-599/MYD88/NF- κ B axis[J]. *Toxicology in Vitro*, 2022, 85: 105481.
- [14] LIAO Y L, ZHU E Z, ZHOU W X. Ox-LDL aggravates the oxidative stress and inflammatory responses of THP-1 macrophages by reducing the inhibition effect of miR-491-5p on MMP-9[J]. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2021, 8: 697236.
- [15] 古展鑫, 卢梦月, 刘锐, 等. 益脉降脂汤含药血清对 THP-1 源性泡沫细胞增殖活性和胆固醇含量的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(10): 2447-2452.
- [16] GROENEN A G, HALMOS B, TALL A R, et al. Cholesterol efflux pathways, inflammation, and atherosclerosis[J]. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2021, 56(4): 426-439.
- [17] KEUL P, LUCKE S, VON WNUCK LIPINSKI K, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor 3 promotes recruitment of monocyte/macrophages in inflammation and atherosclerosis[J]. *Circulation Research*, 2011, 108(3): 314-323.
- [18] MA C R, HUA Y Q, YANG S, et al. Wogonin attenuates atherosclerosis via KLF11-mediated suppression of PPAR α -YAP1-driven glycolysis and enhancement of ABCA1/G1-mediated cholesterol efflux[J]. *Advanced Science*, 2025, 12(23): 2500610.
- [19] CHEN L, ZHAO Z W, ZENG P H, et al. Molecular mechanisms for ABCA1-mediated cholesterol efflux[J]. *Cell Cycle*, 2022, 21(11): 1121-1139.
- [20] TARLING E J, EDWARDS P A. ATP binding cassette transporter G1 (ABCG1) is an intracellular sterol transporter[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(49): 19719-19724.
- [21] ACTON S, RIGOTTI A, LANDSCHULZ K T, et al. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor[J]. *Science*, 1996, 271(5248): 518-520.
- [22] TALL A R, YVAN-CHARVET L, TERASAKA N, et al. HDL, ABC transporters, and cholesterol efflux: Implications for the treatment of atherosclerosis[J]. *Cell Metabolism*, 2008, 7(5): 365-375.
- [23] ZENG M N, FENG A Z, WANG L, et al. Aralia saponin A isolated from *Achyranthes bidentata* Bl. ameliorates LPS/D-GalN induced acute liver injury via SPHK1/S1P/S1PR1 pathway in vivo and in vitro[J]. *International Immunopharmacology*, 2023, 124(Pt A): 110912.
- [24] LI Y, ZHANG L, REN P, et al. Qing-Xue-Xiao-Zhi formula attenuates atherosclerosis by inhibiting macrophage lipid accumulation and inflammatory response via TLR4/MyD88/NF- κ B pathway regulation[J]. *Phytomedicine*, 2021, 93: 153812.
- [25] TERLIZZI M, COLARUSSO C, SOMMA P, et al. S1P-induced TNF- α and IL-6 release from PBMCs exacerbates lung cancer-associated inflammation[J]. *Cells*, 2022, 11(16): 2524.
- [26] ZHANG M, HOU L J, TANG W Y, et al. Oridonin attenuates atherosclerosis by inhibiting foam macrophage formation and inflammation through FABP4/PPAR γ signalling[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2023, 27(24): 4155-4170.
- [27] CHISTIAKOV D A, MELNICHENKO A A, MYASOEDOVA V A, et al. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis[J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2017, 95(11): 1153-1165.
- [28] YADAV R, MISHRA S, CHATURVEDI R, et al. Therapeutic potential of curcumin in cardiovascular disease: Targeting atherosclerosis pathophysiology[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2025, 190: 118412.
- [29] TIAN M Y, ZHANG X, WANG L H, et al. Curcumin induces ABCA1 expression and apolipoprotein A-I-mediated cholesterol transmembrane in the chronic cerebral hypoperfusion aging rats[J]. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2013, 41(5): 1027-1042.
- [30] LIU T R, LI C, SUN H G, et al. Curcumin inhibits monocyte chemoattractant protein-1 expression and enhances cholesterol efflux by suppressing the c-Jun N-terminal kinase pathway in macrophage[J]. *Inflammation Research*, 2014, 63(10): 841-850.
- [31] LI X X, XIAO H, LIN C W, et al. Synergistic effects of liposomes encapsulating atorvastatin calcium and curcumin and targeting dysfunctional endothelial cells in reducing atherosclerosis[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2019, 14: 649-665.
- [32] ZENG J, WU Q, XIONG S Q, et al. Inhibition of EphA2 protects against atherosclerosis by synergizing with statins to mitigate macrophage inflammation[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023, 169: 115885.