

# 芦荟苷通过调控巨噬细胞极化改善动脉粥样硬化的机制研究<sup>Δ</sup>

田野<sup>1\*</sup>, 陈线茹<sup>2</sup>, 梅向辉<sup>1</sup>, 李百超<sup>1</sup>, 杜文涛<sup>2#</sup> (1. 河北工程大学临床医学院, 河北邯郸 056038; 2. 河北工程大学附属医院心血管内科, 河北邯郸 056002)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)22-2802-07  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.22.09



**摘要** 目的 探究芦荟苷(ALO)改善动脉粥样硬化(AS)的机制。方法 将8只C57BL/6J小鼠设为对照组(CON组),基础饲料喂养;将32只载脂蛋白E基因敲除(*APOE*<sup>-/-</sup>)小鼠随机分为模型组(MOD组),ALO低、高剂量组[ALO-L、ALO-H组,20、40 mg/(kg·d)]、阿托伐他汀阳性对照组[ATO组,4 mg/(kg·d)],每组8只,通过高脂饲料喂养构建AS小鼠模型。各组小鼠灌胃给药或等体积去离子水,持续8周。检测小鼠血脂水平,观察其主动脉病理结构变化,检测其主动脉中CD86<sup>+</sup>、CD206<sup>+</sup>表达,并检测其主动脉中诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、精氨酸酶1(Arg-1)、白细胞介素10(IL-10) mRNA和iNOS、Arg-1蛋白表达以及核因子κB p65(NF-κB p65)、信号转导和转录激活因子3(STAT3)蛋白的磷酸化水平。以脂多糖(LPS)诱导RAW264.7细胞构建巨噬细胞极化模型,考察ALO(400 μmol/L)对巨噬细胞极化的影响。**结果** 与MOD组相比,各给药小鼠的血脂(除ALO-L组小鼠血清中高密度脂蛋白胆固醇外)异常均被显著逆转( $P<0.05$ ),主动脉内膜结构亦明显改善,斑块面积均显著缩小( $P<0.01$ ),主动脉中CD86<sup>+</sup>相对荧光强度均显著降低、CD206<sup>+</sup>相对荧光强度均显著升高( $P<0.01$ ),iNOS、TNF-α mRNA表达水平均显著降低( $P<0.05$ );ALO-H组、ATO组小鼠主动脉中Arg-1、IL-10 mRNA及Arg-1蛋白表达水平均显著升高( $P<0.05$ ),iNOS蛋白表达水平及NF-κB p65、STAT3蛋白的磷酸化水平均显著降低( $P<0.05$ )。细胞实验结果显示,ALO可显著降低LPS诱导的M1型巨噬细胞比例( $P<0.01$ ),升高M2型巨噬细胞比例( $P<0.01$ )。**结论** ALO可抑制巨噬细胞向M1型极化并促进其向M2型极化,改善AS模型小鼠血脂代谢紊乱,减少主动脉斑块形成,改善主动脉内膜结构;该作用机制可能与抑制NF-κB/STAT3信号通路有关。

**关键词** 芦荟苷;动脉粥样硬化;巨噬细胞极化;NF-κB/STAT3信号通路

## Mechanism of aloin ameliorating atherosclerosis through regulating macrophage polarization

TIAN Ye<sup>1</sup>, CHEN Xianru<sup>2</sup>, MEI Xianghui<sup>1</sup>, LI Baichao<sup>1</sup>, DU Wentao<sup>2</sup> (1. School of Clinical Medicine, Hebei University of Engineering, Hebei Handan 056038, China; 2. Dept. of Cardiovascular Medicine, the Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Hebei Handan 056002, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To investigate the mechanism by which aloin (ALO) ameliorates atherosclerosis (AS). **METHODS** Eight C57BL/6J mice were assigned to the control group (CON group) and fed a standard diet; thirty-two apolipoprotein E-knockout (*APOE*<sup>-/-</sup>) mice were randomly divided into model group (MOD group), ALO low-dose and high-dose groups [ALO-L group, ALO-H group, 20, 40 mg/(kg·d)], and atorvastatin positive control group [ATO group, 4 mg/(kg·d)], with 8 mice in each group, establishing the AS model through feeding with a high-fat diet. The mice were administered the drug via gavage or given an equal volume of deionized water for 8 consecutive weeks. The lipid levels in the serum of mice were measured, and the pathological structural changes in their aortas were observed. The expressions of macrophage polarization markers (CD86<sup>+</sup>, CD206<sup>+</sup>) in the aorta were determined, along with the mRNA expressions of inducible nitric oxide synthase (iNOS), tumor necrosis factor-α (TNF-α), arginase-1 (Arg-1), and interleukin-10 (IL-10), as well as the protein expressions of iNOS and Arg-1, and the phosphorylation levels of nuclear factor κB p65 (NF-κB p65) and signal transduction and activator of transcription 3 (STAT3) proteins. Additionally, a macrophage polarization model was established using lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7 cells, and the effect of ALO (400 μmol/L) on the cellular polarization phenotype was investigated. **RESULTS** Compared with the MOD group, administration groups all showed significant improvement in dyslipidemia (except for high-density lipoprotein cholesterol in the serum of ALO-L group) ( $P<0.05$ ); aortic intimal structure improved significantly, plaque area was reduced significantly ( $P<0.01$ ); the CD86<sup>+</sup> relative fluorescence intensity in the aorta decreased significantly, the CD206<sup>+</sup> relative fluorescence intensity increased significantly ( $P<0.01$ ), while the expressions of iNOS and TNF-α mRNA were down-regulated significantly ( $P<0.05$ ); mRNA expressions of Arg-1 and IL-10, and protein expression of Arg-1 were

**Δ 基金项目** 邯郸市科学技术研究与发展计划项目 (No. 19422083011-11)  
\* 第一作者 硕士研究生。研究方向:心血管疾病基础。E-mail: 17760270029@163.com  
# 通信作者 主任医师,硕士生导师,博士。研究方向:冠心病基础及介入治疗。E-mail: 1961147104@qq.com

increased significantly in ALO-H group and ATO group ( $P<0.05$ ); the protein expressions of iNOS, and the phosphorylation levels of NF- $\kappa$ B p65 and STAT3 protein were decreased significantly ( $P<0.05$ ). *In vitro* experiments further confirmed that ALO significantly reduced the proportion of LPS-induced M1-type macrophages but increased the proportion of M2-type macrophages ( $P<0.01$ ). **CONCLUSIONS** ALO inhibits M1-type macrophage polarization and promotes M2-type polarization, ameliorates dyslipidemia and reduces arterial plaque formation in AS model mice, improve the structure of the aortic intima potentially through suppression of the NF- $\kappa$ B/STAT3 signaling pathway.

**KEYWORDS** aoin; atherosclerosis; macrophage polarization; NF- $\kappa$ B/STAT3 signaling pathway

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是全球心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)死亡的首要病理基础,其特征为血管壁慢性炎症、脂质代谢紊乱与动脉斑块形成<sup>[1]</sup>。AS病变可累及冠状动脉、脑动脉等重要血管,由其引发的心肌梗死、缺血性脑卒中及外周动脉疾病是CVD致死的主要原因<sup>[2]</sup>。在AS复杂的病理网络中,巨噬细胞表型极化失衡被视为驱动斑块进展的关键环节。巨噬细胞在动脉壁脂质微环境中可极化为M1型(促炎型)和M2型(抗炎型),前者高表达诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6),后者高表达精氨酸酶1(arginase-1, Arg-1)、IL-10等<sup>[3]</sup>。M1型巨噬细胞通过释放促炎因子与活性氧加剧血管内皮损伤,而M2型巨噬细胞则通过增强胆固醇逆向转运和组织修复能力稳定斑块<sup>[4]</sup>。目前,临床仍以他汀类药物作为治疗AS的一线用药,但其长期应用所导致的肝肾功能损伤、横纹肌溶解等不良反应已引起广泛关注<sup>[5]</sup>。因此,探寻具有较低毒副作用的用于防治AS的天然化合物具有重要临床意义与研究价值。

芦荟是一种分布广泛的多年生草本药用植物,其提取物及活性成分具有丰富的药理学活性<sup>[6]</sup>。芦荟苷(aloin, ALO)是芦荟属植物中主要的蒽醌类活性成分。既往研究证明,ALO可抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的巨噬细胞炎症反应,减少促炎因子释放并抑制细胞凋亡<sup>[7]</sup>。这提示其可能通过调控巨噬细胞的功能,在减轻AS炎症中发挥作用。同时,ALO还可改善慢性酒精性肝损伤小鼠脂质代谢紊乱、减轻氧化应激损伤<sup>[8]</sup>。鉴于ALO在抑制巨噬细胞炎症、调节脂质代谢及改善氧化应激等方面的活性与AS的核心病理机制高度契合,本课题组推测ALO可能对AS具有潜在的干预作用。鉴于此,本研究以高脂饮食喂养的载脂蛋白E基因敲除(*APOE*<sup>-/-</sup>)小鼠构建AS模型,从调控巨噬细胞极化平衡的角度出发,探讨ALO对AS主动脉斑块形成及内膜结构的影响,并探讨其具体分子机制,旨在为AS治疗药物的开发提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括Mini-PROTEAN Tetra型蛋白垂直电泳仪、CFX96 Touch型荧光定量PCR仪、iMark型酶标仪(美国Bio-Rad公司),FACSAria型流式

细胞仪(美国BD Biosciences公司),ImageQuant 800型化学发光成像仪(美国Cytiva公司),3-30KS型离心机(美国Sigma公司),DMi8型荧光倒置显微镜(德国Leica公司),JB-P5型石蜡包埋机、JT-12J型脱水机(武汉俊杰电子有限公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

ALO对照品(批号C16968464,纯度 $\geq 97\%$ )购自上海麦克林生化科技股份有限公司;阿托伐他汀钙片(批号8190137,规格20 mg)购自晖致制药(大连)有限公司;LPS(批号426Y039)购自北京索莱宝生物科技有限公司;特级胎牛血清(批号SA231114)购自武汉普诺赛生命科技有限公司;总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)检测试剂盒(批号均为20250421)和甘油三酯(triglyceride, TG)检测试剂盒(批号20250418)均购自南京建成生物工程研究所;兔源iNOS、Arg-1、核因子 $\kappa$ B p65(nuclear factor- $\kappa$ B p65, NF- $\kappa$ B p65)、磷酸化NF- $\kappa$ B p65(p-NF- $\kappa$ B p65)抗体(批号分别为F115311、F087512、F144512、F140307)均购自上海埃必威生物技术有限公司;兔源信号转导和转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)、磷酸化STAT3(p-STAT3)抗体(批号分别为P14PE1P、P28PE3P)均购自成都正能生物技术有限公司;兔源 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗(批号分别为AC240922007、AC2410151558)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;荧光一抗CD86(批号3523022236)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;荧光一抗CD206(批号079103)购自武汉三鹰生物技术有限公司;荧光二抗(批号f2765)购自美国Thermo Fisher Scientific公司;引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

### 1.3 动物

SPF级*APOE*<sup>-/-</sup>小鼠32只,同品系的SPF级C57BL/6J小鼠8只,7周龄,体重18~22 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验动物合格证号为SCXK(京)2024-0001。动物饲养于河北工程大学附属医院实验动物中心SPF级实验室[动物使用许可证号为SYXK(冀)2023-001],在通风环境下分笼饲养(每笼4只)。饲养环境温度20~25℃,相对湿度为50%~60%,12 h明/12

h暗交替;小鼠自由进食和饮水,隔天更换垫料。本研究动物实验方案已获得河北工程大学附属医院动物伦理委员会批准(伦理审查批号:IACUC-Hebeu-2025-0007)。

1.4 细胞

小鼠单核巨噬细胞白血病细胞(RAW264.7)购自武汉梓杉生物技术有限公司。

2 方法

2.1 动物实验

2.1.1 分组、造模与给药

将8只C57BL/6J小鼠作为对照组(CON组),给予普通饲料喂养,自由饮水。将32只APOE<sup>-/-</sup>小鼠以随机数字表法分为模型组(MOD组)、ALO低剂量组(ALO-L组)、ALO高剂量组(ALO-H组)和阿托伐他汀阳性对照组(ATO组),每组8只,给予高脂饲料(配方:40%脂肪,1.25%胆固醇,0.5%胆酸)喂养。喂养12周后,ALO-L组、ALO-H组、ATO组小鼠分别按20、40、4 mg/(kg·d)灌胃相应药物<sup>[9-10]</sup>,CON组和MOD组小鼠灌胃等体积去离子水;每2周测定体重1次,根据体重变化调整灌胃量,持续给药8周。在实验结束前最后一次测定小鼠体重(即末周体重),分析ALO对小鼠体重的影响。

2.1.2 标本采集

实验结束后小鼠禁食不禁水12 h,使用异氟烷麻醉小鼠,摘除眼球取血后使用颈椎脱臼法将其处死。将采集到的血液于室温下静置2 h,在4℃下以3 500 r/min离心15 min,将上层血清转移至新的1.5 mL离心管中。解剖小鼠,剥离主动脉,留取标本用于后续实验。

2.1.3 小鼠血脂水平测定

将各组小鼠的血清样本解冻后,按照相应试剂盒说明书操作,使用酶标仪检测小鼠血清中TG、TC、LDL-C、HDL-C水平。

2.1.4 小鼠主动脉斑块面积检测

采用油红O染色法检测。每组随机抽取3根小鼠主动脉进行油红O染色。将完整的小鼠主动脉剥离后置于4%多聚甲醛溶液中固定24 h,去除血管表面脂肪后纵向剖开血管,然后将主动脉浸入60%异丙醇中3~5 s,接着再浸入油红O染色液中,在37℃下染色1 h。取出血管,使用60%异丙醇分化去除血管外背景色,将染好的血管铺开,置于黑色背景板上拍照。使用Image J软件对斑块面积进行定量分析。主动脉组织上红色部分为脂质沉积,颜色越深、范围越广表示脂质沉积越多、AS病变程度越高。

2.1.5 小鼠主动脉病理学形态观察

采用苏木精-伊红(HE)染色法观察。剥离出小鼠主动脉弓部分,剔除血管表面脂肪后置于4%多聚甲醛溶液中固定24 h。取出血管并使用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗,使用滤纸吸干表面水分后依次进行脱水、包埋、切片(厚4 μm)。脱蜡后进行HE染色并在显微镜下拍照。

2.1.6 小鼠主动脉中巨噬细胞极化标志物表达检测

采用免疫荧光法检测。将“2.1.5”项下处理完毕的主动脉石蜡切片(每组随机抽取3只小鼠样本)脱蜡并进行抗原修复,使用PBS冲洗完毕后滴加稀释好的正常山羊血清,室温封闭30 min,以减少非特异性染色。滴加CD86和CD206一抗(稀释比例均为1:500),于4℃冰箱中孵育过夜;PBS洗涤后加入荧光二抗(稀释比例为1:2 000),室温孵育50 min。使用DAPI染液进行细胞核避光孵育5 min,滴加抗荧光淬灭剂后封片,置于荧光显微镜下观察并拍照。采用Image J软件对荧光强度进行定量分析:绿色荧光对应M1型巨噬细胞表面标志物CD86<sup>+</sup>,红色荧光对应M2型巨噬细胞表面标志物CD206<sup>+</sup>;荧光强度越高,表示对应表型(M1或M2型)的巨噬细胞的极化程度越高。

2.1.7 小鼠主动脉中巨噬细胞极化相关基因表达检测

采用RT-qPCR法检测。每组随机抽取3只小鼠主动脉样本,剪取适量组织,按照RNA提取试剂盒说明书操作提取并检测RNA的浓度及纯度,逆转录合成cDNA,以cDNA为模板进行RT-qPCR反应。PCR反应体系为:2×SYBR Green Premix(10 μL),正、反向引物各0.4 μL,cDNA模板2 μL,无核酸酶水7.2 μL。反应程序为:95℃预变性30 s;95℃变性10 s,65℃退火10 s,72℃延伸30 s,共40个循环。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,采用2<sup>-ΔΔCT</sup>法计算目的基因mRNA的相对表达水平。引物序列及扩增产物大小见表1。

表1 引物序列及扩增产物大小

基因名称	序列(5'→3')	产物大小/bp
iNOS	正向:GTTCTCAGCCCAACAATACAAGA	127
	反向:GTGGACGGGTCGATGTCAC	
TNF-α	正向:ATGTCCTCAGCCTCTTCTCATTC	179
	反向:GCTTGCTCACTCGAATTTTGAGA	
Arg-1	正向:CATATCTGCCAAAGACATCGTG	196
	反向:GACATCAAAGCTCAGGTGAATC	
IL-10	正向:GCTCTTACTGACTGGCATGAG	105
	反向:CGCAGCTCTAGGAGCATGTG	
GAPDH	正向:CAAAGTGGAGATTGTTGCCAT	96
	反向:CCGTTGAATTGCGCGTGA	

2.1.8 小鼠主动脉组织中iNOS、Arg-1与NF-κB/STAT3信号通路相关蛋白表达检测

采用Western blot法检测。每组随机抽取3只小鼠主动脉样本,剪取部分组织,加入适量RIPA裂解液低温研磨并提取蛋白,使用BCA蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度。取20 μg变性后的蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(浓缩胶电压120 V,分离胶电压90 V),并在恒流300 mA下转膜90 min至聚偏二氟乙烯膜,使用5%脱脂奶粉或5%牛血清白蛋白室温摇床封闭2 h;使用TBST洗膜3次、每次10 min,加入iNOS、Arg-1、p-NF-κB p65、NF-κB p65、p-STAT3、STAT3一抗(稀释比例均为1:1 000)和β-actin(稀释比例为1:5 000),4℃下孵育过夜;次日回收一抗后使用TBST洗膜3次、每次10



min,室温摇床孵育二抗(稀释比例为1:8 000)1 h;再次洗膜3次后显影,使用Image J软件对条带进行灰度值定量分析。以目的蛋白与内参蛋白( $\beta$ -actin)条带灰度值的比值表示目的蛋白的表达水平,以p-NF- $\kappa$ B p65与NF- $\kappa$ B p65、p-STAT3与STAT3的灰度值比值表示NF- $\kappa$ B p65、STAT3蛋白的磷酸化水平。

2.2 细胞实验

2.2.1 细胞培养

将RAW264.7细胞复苏后加入含有10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素的高糖DMEM培养基中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>恒温培养箱中培养。每天换液,待细胞密度生长至80%~90%时进行传代或铺板操作。

2.2.2 细胞分组及干预

将细胞分为CON组、LPS组、ALO+LPS组,并以5×10<sup>4</sup>个/孔接种于6孔板中,每组设置3个复孔。参照既往研究<sup>[11]</sup>,CON组正常培养细胞不进行干预;LPS组细胞过夜贴壁后加入100 ng/mL的LPS诱导24 h建立极化模型;ALO+LPS组细胞于造模前4 h加入400 μmol/L的ALO进行预处理,随后加入100 ng/mL的LPS诱导24 h。

2.2.3 巨噬细胞极化比例检测

采用流式细胞术检测。用PBS将干预结束后的细胞吹打下来转移至离心管中,以1 500 r/min离心5 min,弃上清液并使用PBS洗涤细胞沉淀2次,再次以1 500 r/min离心5 min,弃上清液,加入100 μL PBS重悬细胞;按说明书剂量添加相应抗体,移液器吹打混匀,4℃避光孵育30 min。孵育结束后,加入1 mL PBS,以1 500 r/min离心5 min,PBS洗涤2次,弃上清液。每管中加入500 μL PBS重悬细胞后,置于流式管中上机检测,分别以F4/80<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup>、F4/80<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup>表示M1、M2型巨噬细胞的比例。

2.3 统计学方法

采用SPSS 26软件对数据进行统计分析,使用GraphPad Prism 10.1软件作图。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用LSD-*t*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 ALO对小鼠体重的影响

与CON组[(30.78±1.03) g]相比,MOD组小鼠的末周体重[(34.76±1.06)g]显著升高( $P<0.05$ );与MOD组相比,ALO-L组、ALO-H组、ATO组小鼠的末周体重[分别为(33.60±1.73)、(33.33±23.73)、(33.63±1.63) g]差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

3.2 ALO对小鼠血脂水平的影响

与CON组相比,MOD组小鼠血清中TG、TC、LDL-C水平均显著升高( $P<0.01$ ),HDL-C水平显著降低( $P<0.01$ )。与MOD组相比,各给药组小鼠血清中TG、TC、LDL-C水平均显著降低( $P<0.05$ ),ALO-H组、ATO组小鼠血清中HDL-C水平均显著升高( $P<0.05$ )。结果见表2。

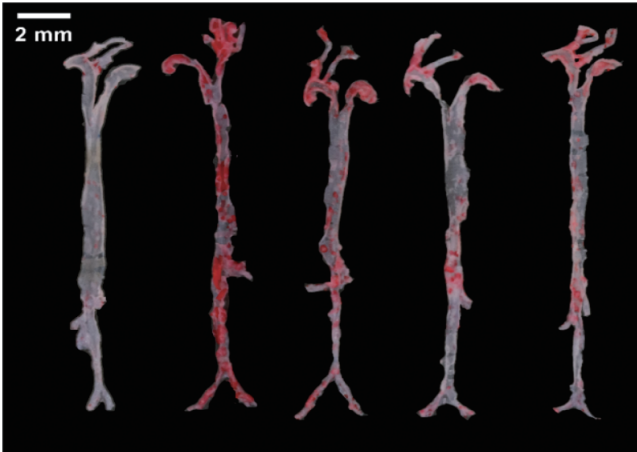
表2 各组小鼠血脂水平比较( $\bar{x} \pm s, n=8, \text{mmol/L}$ )

组别	TG	TC	LDL-C	HDL-C
CON组	0.67±0.24	1.73±0.27	0.97±0.30	3.01±0.59
MOD组	7.70±1.16 <sup>a</sup>	17.02±3.24 <sup>a</sup>	12.83±2.12 <sup>a</sup>	1.25±0.27 <sup>a</sup>
ALO-L组	5.96±1.07 <sup>b</sup>	12.67±2.91 <sup>b</sup>	8.75±1.48 <sup>b</sup>	1.78±0.39
ALO-H组	4.12±0.85 <sup>b</sup>	8.45±2.39 <sup>b</sup>	6.04±0.49 <sup>b</sup>	2.81±0.35 <sup>b</sup>
ATO组	3.38±0.89 <sup>b</sup>	7.07±1.53 <sup>b</sup>	4.91±1.10 <sup>b</sup>	2.44±0.56 <sup>b</sup>

a:与CON组相比, $P<0.01$ ;b:与MOD组相比, $P<0.05$ 。

3.3 ALO对小鼠主动脉斑块及病理结构的影响

油红O染色结果(图1、表3)显示,与CON组相比,MOD组小鼠主动脉斑块面积显著增加( $P<0.01$ );与MOD组比较,各给药组小鼠主动脉斑块面积均显著缩小( $P<0.01$ )。HE染色结果(图2)显示,与CON组相比,MOD组小鼠主动脉可见不同程度内膜增厚、平滑肌细胞排列紊乱,管腔内可见明显斑块形成以及大量炎症细胞浸润;与MOD组相比,各给药组小鼠主动脉斑块面积均缩小,内膜结构改善。



A. CON组 B. MOD组 C. ALO-L组 D. ALO-H组 E. ATO组

图1 各组小鼠主动脉油红O染色结果

表3 各组小鼠主动脉斑块面积及巨噬细胞极化标志物表达情况比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	主动脉斑块面积/cm <sup>2</sup>	CD86相对荧光强度	CD206相对荧光强度
CON组	0.04±0.01	4.26±0.68	18.75±5.96
MOD组	0.62±0.08 <sup>a</sup>	87.37±4.97 <sup>a</sup>	34.32±6.11
ALO-L组	0.31±0.05 <sup>b</sup>	60.30±3.30 <sup>b</sup>	62.23±7.43 <sup>b</sup>
ALO-H组	0.26±0.10 <sup>b</sup>	48.17±1.22 <sup>b</sup>	83.51±7.62 <sup>b</sup>
ATO组	0.30±0.04 <sup>b</sup>	50.95±7.73 <sup>b</sup>	75.31±5.77 <sup>b</sup>

a:与CON组相比, $P<0.01$ ;b:与MOD组相比, $P<0.01$ 。

3.4 ALO对小鼠主动脉中巨噬细胞极化标志物表达的影响

如表3、图3所示,与CON组相比,MOD组小鼠主动脉中CD86<sup>+</sup>相对荧光强度显著升高( $P<0.01$ ),CD206<sup>+</sup>相对荧光强度差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与MOD组相比,各给药组小鼠主动脉中CD86<sup>+</sup>相对荧光强度均显著降低( $P<0.01$ ),CD206<sup>+</sup>相对荧光强度均显著升高( $P<0.01$ )。

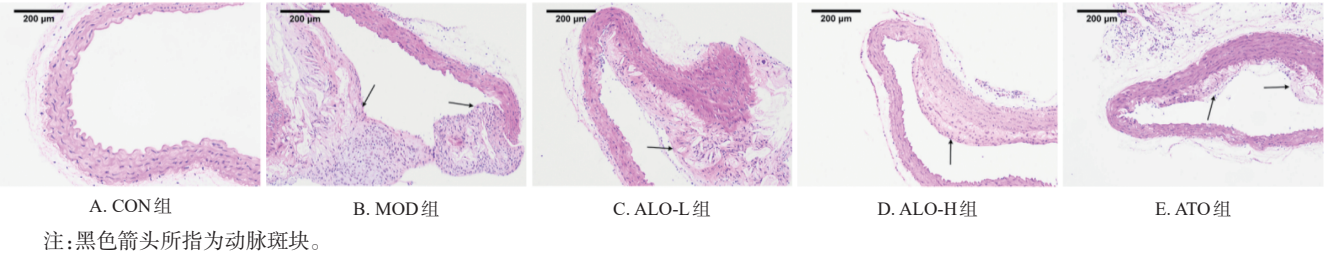


图2 各组小鼠主动脉弓 HE 染色显微图

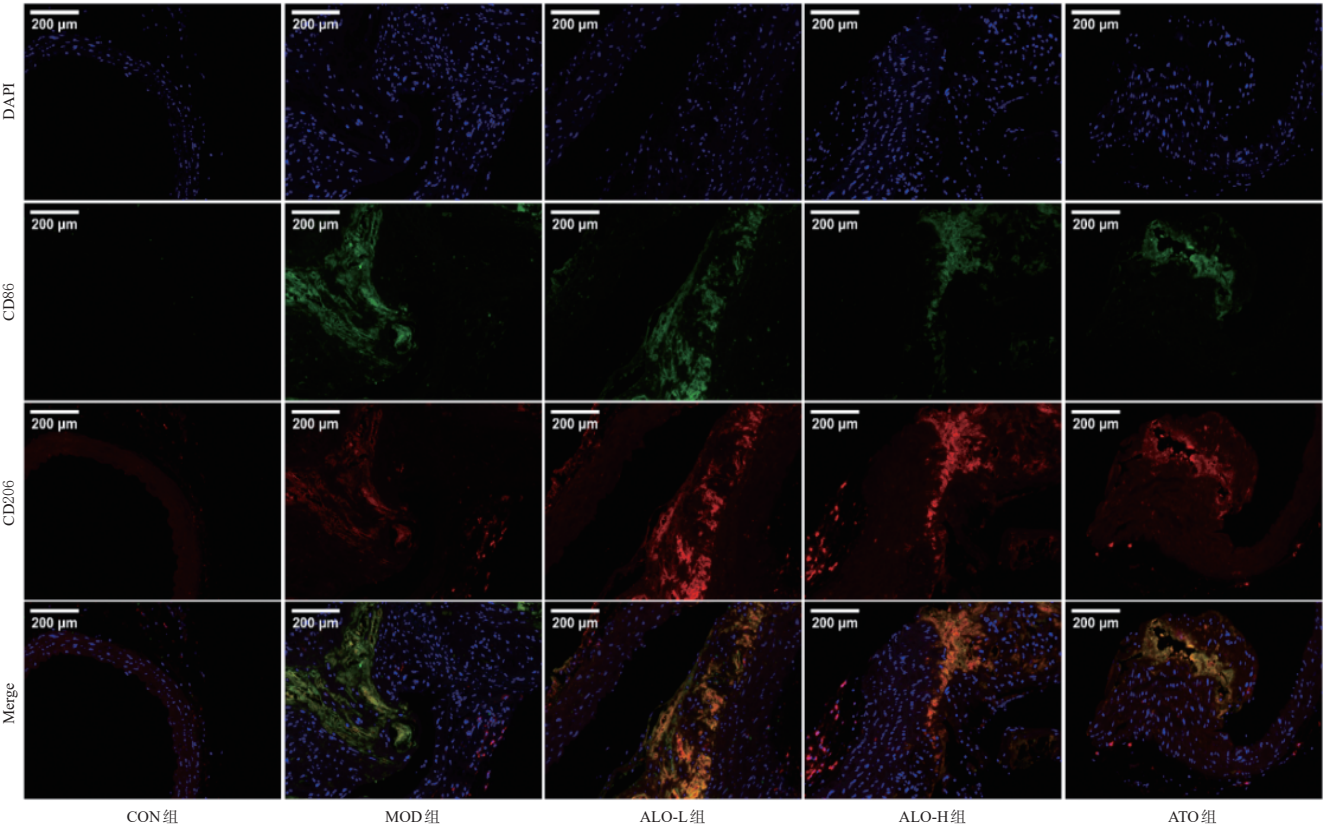


图3 各组小鼠主动脉中巨噬细胞极化标志物荧光显微图

3.5 ALO对小鼠主动脉中巨噬细胞极化相关基因表达的影响

与CON组相比,MOD组小鼠主动脉中*iNOS*、*TNF-α* mRNA 表达水平均显著升高( $P<0.01$ ), *Arg-1*、*IL-10* mRNA 表达水平均显著降低( $P<0.01$ )。与MOD组相比,各给药组小鼠主动脉中*iNOS*、*TNF-α* mRNA 表达水平均显著降低( $P<0.05$ ), *ALO-H*组和*ATO*组小鼠主动脉中*Arg-1*、*IL-10* mRNA 表达水平均显著升高( $P<0.05$ )。结果见表4。

表4 各组小鼠主动脉中巨噬细胞极化相关基因表达水平( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	iNOS	TNF-α	Arg-1	IL-10
CON组	1.01±0.03	1.01±0.01	1.04±0.03	1.05±0.03
MOD组	62.36±4.66 <sup>a</sup>	12.93±2.53 <sup>a</sup>	0.19±0.06 <sup>a</sup>	0.49±0.15 <sup>a</sup>
ALO-L组	55.59±6.71 <sup>b</sup>	6.10±3.28 <sup>b</sup>	0.60±0.08	0.92±0.17
ALO-H组	27.57±1.42 <sup>b</sup>	3.44±2.30 <sup>b</sup>	0.70±0.30 <sup>b</sup>	1.76±0.28 <sup>b</sup>
ATO组	27.14±3.03 <sup>b</sup>	5.00±1.06 <sup>b</sup>	0.85±0.25 <sup>b</sup>	2.09±0.22 <sup>b</sup>

a: 与CON组相比, $P<0.01$ ; b: 与MOD组相比, $P<0.05$ 。

3.6 ALO对小鼠主动脉中*iNOS*、*Arg-1*与NF-κB/STAT3信号通路相关蛋白表达的影响

与CON组相比,MOD组小鼠主动脉中*iNOS*蛋白表达水平以及NF-κB p65、STAT3蛋白的磷酸化水平均显著升高( $P<0.01$ );与MOD组相比,ALO-H组和ATO组小鼠主动脉中*iNOS*蛋白表达水平及NF-κB p65、STAT3蛋白的磷酸化水平均显著降低( $P<0.05$ ), *Arg-1*蛋白表达水平均显著升高( $P<0.05$ )。结果见图4、表5。

3.7 ALO对RAW264.7巨噬细胞极化表型的影响

与CON组相比,LPS组M1型巨噬细胞比例显著升高( $P<0.01$ ), M2型巨噬细胞比例差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与LPS组相比,ALO+LPS组M1型巨噬细胞比例显著降低( $P<0.01$ ), M2型巨噬细胞比例显著升高( $P<0.01$ )。结果见图5、表6。

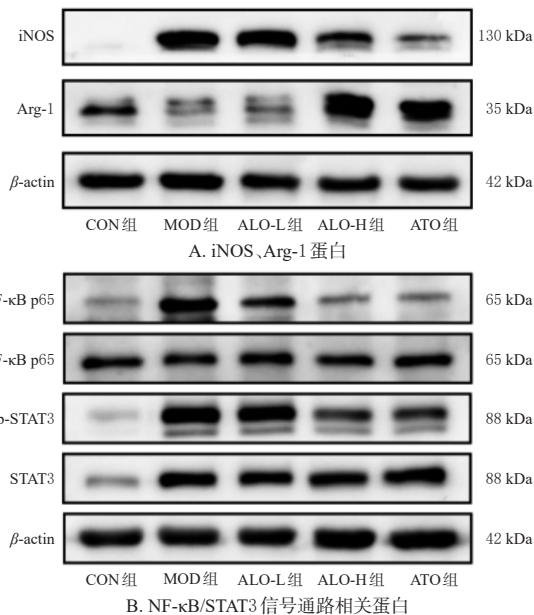


图4 各组小鼠主动脉中iNOS、Arg-1与NF-κB/STAT3信号通路相关蛋白表达的电泳图

表5 各组小鼠主动脉中iNOS、Arg-1与NF-κB/STAT3信号通路相关蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	iNOS/ $\beta$ -actin	Arg-1/ $\beta$ -actin	p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65	p-STAT3/STAT3
CON组	0.13 $\pm$ 0.09	0.52 $\pm$ 0.03	0.59 $\pm$ 0.01	0.26 $\pm$ 0.09
MOD组	1.17 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	0.49 $\pm$ 0.08	1.33 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	1.41 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
ALO-L组	1.09 $\pm$ 0.22	0.64 $\pm$ 0.18	0.92 $\pm$ 0.32	1.19 $\pm$ 0.10
ALO-H组	0.53 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	0.93 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	0.42 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	0.45 $\pm$ 0.27 <sup>b</sup>
ATO组	0.40 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	0.88 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	0.47 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.52 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>

a: 与CON组相比,  $P < 0.01$ ; b: 与MOD组相比,  $P < 0.05$ 。

#### 4 讨论

AS作为CVD的关键基础病变,随着我国CVD患病人数的持续上升,其预防与治疗成为维护居民健康的重要环节<sup>[12]</sup>。*APOE*<sup>-/-</sup>小鼠在AS中的研究于20世纪90年

表6 各组巨噬细胞极化表型比例( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

组别	F4/80 <sup>+</sup> CD86 <sup>+</sup>	F4/80 <sup>+</sup> CD206 <sup>+</sup>
CON组	7.91 $\pm$ 1.34	2.08 $\pm$ 0.33
LPS组	45.73 $\pm$ 1.72 <sup>a</sup>	2.30 $\pm$ 0.63
ALO+LPS组	16.33 $\pm$ 2.54 <sup>b</sup>	18.47 $\pm$ 1.77 <sup>b</sup>

a: 与CON组相比,  $P < 0.01$ ; b: 与LPS组相比,  $P < 0.01$ 。

代初步建立<sup>[13]</sup>,经大量实验验证,该模型已成为国际公认的用于研究自发性高脂血症相关AS的理想动物模型,并且通过高脂饲料喂养可以显著加速AS病变的进展<sup>[14]</sup>。本研究基于前期对“新型抗AS药物需求”的背景,以*APOE*<sup>-/-</sup>小鼠为实验对象,采用高脂饲料喂养法构建AS模型,通过油红O与HE染色技术观察各组小鼠主动脉的病理形态学特征。结果显示,MOD组小鼠主动脉可见显著脂质沉积及AS斑块形成,伴随有主动脉内膜明显增厚、血管平滑肌细胞排列紊乱,且局部有大量炎症细胞浸润,符合AS典型病理表现;而各给药组小鼠的主动脉AS斑块面积显著缩小,炎症细胞浸润程度明显减轻,同时主动脉内膜结构得到显著修复与改善。此外,本研究观察到,ALO可显著调节AS模型小鼠的血脂谱(降低LDL-C、TC、TG水平,升高HDL-C水平),有效纠正AS相关的脂质代谢紊乱。这表明ALO可通过调节脂质代谢紊乱、减轻主动脉炎症反应、抑制脂质异常沉积等途径,发挥对AS病理损伤的改善作用。

在AS病情不断进展的过程中,巨噬细胞极化失衡是一个重要的驱动因素。M1、M2型巨噬细胞在AS病变中的分布影响了AS的进展和消退<sup>[15]</sup>。因此,探讨巨噬细胞极化机制对AS的预防和治疗具有重要意义。本研究结果显示,ALO可下调斑块中M1型巨噬细胞比例,上调M2型巨噬细胞比例;Western blot及RT-qPCR实验进一步验证了ALO可抑制M1型巨噬细胞极化、促进M2型巨噬细胞极化。此外,为探究ALO对巨噬细胞极化的直接调控作用,本研究以小鼠巨噬细胞系

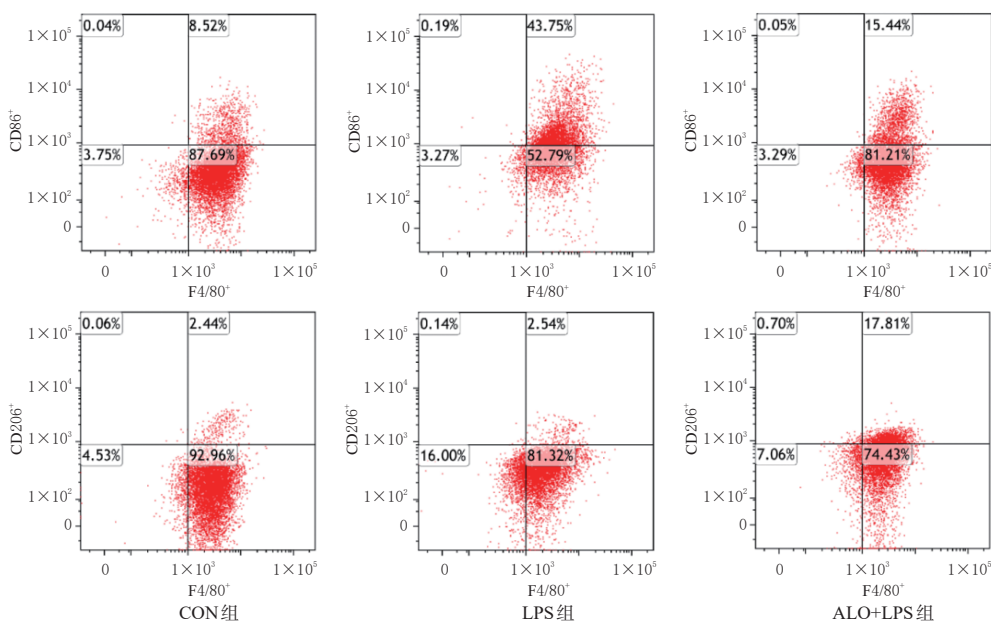


图5 ALO对RAW264.7巨噬细胞极化表型的影响



RAW264.7为研究对象,采用LPS诱导构建巨噬细胞极化模型,使用ALO进行干预,通过流式细胞术检测各组M1、M2型巨噬细胞的比例。结果显示,与CON组相比,LPS组M1型巨噬细胞比例显著升高,而M2型巨噬细胞比例无显著变化,提示LPS成功诱导巨噬细胞向M1型(促炎型)极化;经ALO干预后,M1型巨噬细胞比例显著降低,同时M2型巨噬细胞比例明显升高。这证明ALO可有效抑制LPS诱导的巨噬细胞向M1型(促炎型)巨噬细胞极化,并促进其向M2型(抗炎型)巨噬细胞极化,表明ALO具备调控巨噬细胞极化平衡的作用。

NF- $\kappa$ B作为一种关键的炎症调节因子,可被LPS、TNF- $\alpha$ 等刺激,进而入核与M1型巨噬细胞相关基因(如iNOS、IL-6)的启动子区域结合并增强其转录,与AS的发生发展密切相关,故抑制NF- $\kappa$ B激活能显著延缓AS进程<sup>[16]</sup>。STAT3是STAT家族中研究最为广泛的成员,在组织和细胞中广泛分布<sup>[17]</sup>。研究证明,STAT3在AS进展中起关键作用,抑制STAT3信号通路激活可减轻AS炎症反应,减少小鼠主动脉脂质沉积,改善血管壁细胞功能障碍<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,与CON组相比,MOD组小鼠主动脉中NF- $\kappa$ B p65、STAT3蛋白的磷酸化水平显著升高,提示AS病理状态下NF- $\kappa$ B/STAT3信号通路被显著激活;而经ALO干预后小鼠主动脉中NF- $\kappa$ B p65、STAT3蛋白的磷酸化水平平均明显降低,表明ALO可通过抑制主动脉中NF- $\kappa$ B/STAT3信号通路的激活,从分子层面调控AS相关的炎症与病理损伤过程。

综上所述,ALO可纠正AS模型小鼠血脂代谢紊乱,减少主动脉斑块形成,改善主动脉内膜结构;同时ALO能抑制巨噬细胞向M1型(促炎型)转化、促进其向M2型(抗炎型)转化,从而延缓AS进展,其机制可能与抑制NF- $\kappa$ B/STAT3信号通路有关。但本研究尚未使用通路抑制剂验证ALO与信号通路关键蛋白的相互作用,后续将会完善实验方案,对ALO调控巨噬细胞极化和改善AS病情的深度机制进行研究,为AS的防治提供新的思路与依据。

## 参考文献

- [1] KONG P, CUI Z Y, HUANG X F, et al. Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1):131.
- [2] MARTIN S S, ADAY A W, ALLEN N B, et al. 2025 heart disease and stroke statistics: a report of US and global data from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2025, 151(8):e41-e660.
- [3] LI H X, CAO Z Q, WANG L L, et al. Macrophage subsets and death are responsible for atherosclerotic plaque formation[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:843712.
- [4] JINNOUCHI H, GUO L, SAKAMOTO A, et al. Diversity of macrophage phenotypes and responses in atherosclerosis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(10):1919-1932.
- [5] COLLABORATION C T T. Efficacy and safety of statin therapy in older people: a meta-analysis of individual par-

ticipant data from 28 randomised controlled trials[J]. *Lancet*, 2019, 393(10170):407-415.

- [6] SÁNCHEZ M, GONZÁLEZ-BURGOS E, IGLESIAS I, et al. Pharmacological update properties of *Aloe vera* and its major active constituents[J]. *Molecules*, 2020, 25(6):1324.
- [7] LEE W, YANG S M, LEE C H, et al. Aloin reduces inflammatory gene iNOS via inhibition activity and p-STAT-1 and NF- $\kappa$ B[J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 126:67-71.
- [8] CUI Y, YE Q, WANG H Y, et al. Aloin protects against chronic alcoholic liver injury via attenuating lipid accumulation, oxidative stress and inflammation in mice[J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37(12):1624-1633.
- [9] XU Q S, FAN Y H, LOOR J J, et al. Aloin protects mice from diet-induced non-alcoholic steatohepatitis via activation of Nrf2/HO-1 signaling[J]. *Food Funct*, 2021, 12(2):696-705.
- [10] ZHANG J, WANG X Y, GUAN B Y, et al. Qing-Xin-Jie-Yu Granule inhibits ferroptosis and stabilizes atherosclerotic plaques by regulating the GPX4/xCT signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 301:115852.
- [11] LUO X, ZHANG H W, WEI X D, et al. Aloin suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory response and apoptosis by inhibiting the activation of NF- $\kappa$ B[J]. *Molecules*, 2018, 23(3):517.
- [12] 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.
- [13] ZHANG S H, REDDICK R L, PIEDRAHITA J A, et al. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E[J]. *Science*, 1992, 258(5081):468-471.
- [14] DAUGHERTY A, TALL A R, DAEMEN M J A P, et al. Recommendation on design, execution, and reporting of animal atherosclerosis studies: a scientific statement from the American Heart Association[J]. *Circ Res*, 2017, 121(6):e53-e79.
- [15] HOU P B, FANG J K, LIU Z H, et al. Macrophage polarization and metabolism in atherosclerosis[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(10):691.
- [16] MUSSBACHER M, DERLER M, BASÍLIO J, et al. NF- $\kappa$ B in monocytes and macrophages: an inflammatory master regulator in multitasked immune cells[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1134661.
- [17] MYERS S A, GOTTSCHALK R A. Mechanisms encoding STAT functional diversity for context-specific inflammatory responses[J]. *Curr Opin Immunol*, 2022, 74:150-155.
- [18] FU X Y, SUN Z J, LONG Q Y, et al. Glycosides from Buyang huanwu Decoction inhibit atherosclerotic inflammation via JAK/STAT signaling pathway[J]. *Phytomedicine*, 2022, 105:154385.

(收稿日期:2025-07-08 修回日期:2025-09-25)

(编辑:林 静)