

本文引用：汪霞，周果，霍欢欢，等. 鸢尾素通过抑制内皮炎症减缓动脉粥样硬化的发生和发展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(7): 595-601. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.07.006.

[文章编号] 1007-3949(2025)33-07-0595-07

· 实验研究 ·

## 鸢尾素通过抑制内皮炎症减缓动脉粥样硬化的发生和发展

汪霞，周果，霍欢欢，何奔

上海市胸科医院 上海交通大学医学院附属胸科医院心内科，上海市 200030

**[摘要]** [目的] 研究鸢尾素对血管内皮炎症以及小鼠动脉粥样硬化(As)的影响。[方法] 将ApoE<sup>-/-</sup>小鼠随机分为对照组、As组和As+鸢尾素组,每组10只。对照组小鼠给予普通饮食。As组小鼠给予颈动脉部分结扎结合西方饮食喂养。As+鸢尾素组小鼠在As模型基础上同时腹腔给予鸢尾素处理。取颈动脉组织进行病理染色和免疫荧光染色。体外培养人主动脉内皮细胞(HAEC),鸢尾素处理后给予胆固醇结晶(CC)刺激。采用Western blot检测血管细胞黏附分子1(VCAM-1)和细胞间黏附分子1(ICAM-1)的蛋白水平。采用RT-qPCR检测炎症因子白细胞介素1β(IL-1β)、白细胞介素6(IL-6)和趋化因子(C-C基序)配体2(CCL2)的表达。采用细胞黏附实验检测单核细胞在内皮细胞上的黏附。[结果] As组小鼠颈动脉斑块面积明显大于对照组( $P<0.05$ ),而As+鸢尾素组小鼠相较于As组斑块面积减少( $P<0.05$ )。与对照组相比,As组小鼠颈动脉VCAM-1的蛋白表达增加( $P<0.05$ ),CD68<sup>+</sup>巨噬细胞数量增加( $P<0.05$ ),CC的沉积增加( $P<0.05$ ),而鸢尾素能够抑制VCAM-1的蛋白表达( $P<0.05$ ),减少CD68<sup>+</sup>巨噬细胞数量( $P<0.05$ )以及CC的沉积( $P<0.05$ )。离体水平上,CC组HAEC的VCAM-1和ICAM-1表达增加( $P<0.05$ ),单核细胞黏附增加( $P<0.05$ ),而鸢尾素能够抑制CC诱导的VCAM-1和ICAM-1的蛋白表达增加( $P<0.05$ ),减少单核细胞的黏附( $P<0.05$ )。CC组的HAEC中IL-1β、IL-6和CCL2的mRNA水平增加( $P<0.05$ ),而鸢尾素能够抑制CC诱导的IL-1β、IL-6和CCL2的mRNA表达( $P<0.05$ )。[结论] 鸢尾素能够抑制动脉粥样硬化早期血管炎症,从而减缓动脉粥样硬化的发生发展。

[关键词] 鸢尾素； 动脉粥样硬化； 内皮细胞； 炎症

[中图分类号] R5；R363

[文献标识码] A

## Irisin alleviates the occurrence and development of atherosclerosis by inhibiting endothelial inflammation

WANG Xia, ZHOU Guo, HUO Huanhuan, HE Ben

Department of Cardiology, Shanghai Chest Hospital & Chest Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200030

**[ABSTRACT]** **Aim** To investigate the effect of irisin on endothelial inflammation and atherosclerosis (As) in mice. **Methods** ApoE<sup>-/-</sup> mice were randomly divided into control group, As model group, and irisin group (treated with irisin based on the As model), with 10 mice in each group. The carotid tissues were stained using pathological techniques and immunofluorescence. Human aortic endothelial cells (HAEC) were cultured *in vitro*, treated with irisin, and stimulated with cholesterol crystal (CC). The protein levels of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) were then detected by Western blot. The expression of inflammatory cytokines interleukin-1β (IL-1β), interleukin-6 (IL-6) and chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) were detected by RT-qPCR. The adhesion of monocytes was assessed using cell adhesion assay. **Results** The carotid plaque area in the mice of As model group was significantly increased compared with that in control group ( $P<0.05$ ). In contrast, the plaque area was re-

[收稿日期] 2024-07-25

[修回日期] 2024-12-26

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82130012 和 81830010); 中德科学基金研究交流项目(M-0526); 上海市心律失常研究中心项目(2022ZZ01008); SHDC 重大疾病多中心临床研究项目(SHDC2020CR1039B)

[作者简介] 汪霞,助理研究员,主要研究方向为血管稳态与重构的调节机制及干预,E-mail:wangxia31610@163.com。通信作者何奔,主任医师,博士研究生导师,主要研究方向为血管稳态与重构的调节机制及干预,E-mail:heben241@126.com。

duced in the irisin group compared with the As model group ( $P<0.05$ )。Compared with the control group, the expression of VCAM-1, the number of CD68<sup>+</sup> macrophages, and the deposition of CC were increased in the carotid arteries of the As model group ( $P<0.05$ ) , while irisin could reduce the expression of VCAM-1, the number of CD68<sup>+</sup> macrophages, and the deposition of CC ( $P<0.05$ )。At the *in vitro* level, the expression of VCAM-1 and ICAM-1, as well as the adhesion of monocytes in CC-stimulated HAEC, were increased ( $P<0.05$ )。However, irisin could inhibit the increased expression of VCAM-1 and ICAM-1 ( $P<0.05$ ) , as well as the adhesion of monocytes induced by CC ( $P<0.05$ )。The mRNA levels of IL-1 $\beta$ , IL-6 and CCL2 in HAEC of CC stimulated group were increased ( $P<0.05$ ) , while irisin could inhibit the mRNA expressions of IL-1 $\beta$ , IL-6 and CCL2 induced by CC ( $P<0.05$ )。

**Conclusion** Irisin can inhibit vascular inflammation, thereby reducing the occurrence and progression of atherosclerosis.

[KEY WORDS] irisin; atherosclerosis; endothelial cell; inflammation

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)是全球首位死亡原因,也是我国居民健康的“头号杀手”。动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是导致心血管疾病发生发展的重要病因。其病理过程包括内皮功能障碍、脂质代谢紊乱、平滑肌细胞异常增殖与迁移、炎症细胞浸润及一系列炎症反应等,引起管腔狭窄或者阻塞,最终导致心血管事件的发生<sup>[1]</sup>。目前临幊上联合使用他汀类药物、抗血小板药物和降压药虽然能够一定程度上减缓As的发展,降低急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)的发病率,但仍有一部分ACS患者会再次发作急性心脏事件。因此,深入研究As的致病机制,对早期评估、诊断和治疗心血管疾病具有重要临床意义。

内皮损伤是As形成和发展过程中许多病理变化的首要原因。内皮细胞功能障碍驱动巨噬细胞浸润,平滑肌细胞增殖和分化,引起血管功能受损,促进As形成<sup>[2]</sup>。研究表明,胆固醇结晶(cholesterol crystal, CC)可能是As发病的重要因素。我们前期研究显示,CC介导的内皮炎症促进As斑块形成和发展<sup>[3]</sup>。临幊数据表明,在晚期As斑块中,CC能够促进斑块易损和破裂<sup>[4]</sup>。

鸢尾素(irisin)是近年发现的可分泌型肌源细胞因子,它是由含Ⅲ型纤连蛋白域蛋白5(fibronectin type Ⅲ domain containing 5, FNDC5)经过蛋白酶水解在C末端被切割产生的112个氨基酸长度的多肽,随后被分泌到血液中<sup>[5]</sup>。研究显示,体内鸢尾素的水平与心血管疾病、内分泌代谢病、肿瘤等均有密切相关性<sup>[6]</sup>。此外,鸢尾素能够减轻内皮细胞增殖和老化<sup>[7]</sup>。然而,鸢尾素是否能够通过抑制CC诱导的内皮炎症,减轻As的发生发展尚不清楚。本研究通过给予载脂蛋白E基因敲除(AopE<sup>-/-</sup>)小鼠颈动脉部分结扎结合西方饮食建立As模型,探索鸢尾素对As的影响及其分子机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料和试剂

鸢尾素购自美国 Cayman Chemical 公司,西方饮食饲料购自戴茨生物科技有限公司,胆固醇购自Sigma公司。血管细胞黏附分子1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)抗体(A0279)和细胞间黏附分子1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)抗体(A23661)购自ABclonal公司。 $\beta$ -actin抗体(AF2811)和HRP标记二抗(A0352)购自碧云天公司,PrimeScript<sup>TM</sup> RT-PCR试剂盒(RR014B)购自日本TAKARA公司。

### 1.2 As模型的建立及分组

6~8周龄的ApoE<sup>-/-</sup>雄性小鼠30只,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。随机分为3组,每组10只。对照组的小鼠给予普通饲料饲养;As组小鼠给予颈动脉部分结扎结合西方饮食饲料饲养,腹腔给予生理盐水;As+鸢尾素组的小鼠在As模型基础上经腹腔注射100 $\mu$ g/kg鸢尾素(生理盐水配制),每周3次;饲养1周或4周后经戊巴比妥钠麻醉小鼠,留取颈动脉组织进行后续实验。As组和As+鸢尾素组的小鼠通过腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉,并用加热垫将体温维持在37℃。小鼠实施颈动脉部分结扎手术,钝性剥离暴露左颈总动脉远端分支后,结扎左颈总动脉除左甲状腺动脉外的所有分支,从而减少血流量。之后,缝合切口。术后立即饲喂西方饮食饲料(17%蛋白,43%碳水化合物,40%脂肪)。

### 1.3 取材

用戊巴比妥钠麻醉小鼠,迅速剖开小鼠的胸腹部,从左心室缓慢灌流PBS。分离颈部皮肤,取颈动脉置于4%多聚甲醛保存,用于后续HE染色、油红O染色以及免疫荧光染色。

#### 1.4 激光共聚焦显微镜检测

冰冻切片经固定、染色、封片后利用蔡司共聚焦显微镜 (LSM 710) 观察颈动脉斑块内 CC 的沉积。操作流程为新建激光通道, 设置相应的参数, 包括通道的波长为 402~408 nm, 勾选反射, 光强度为 2, 参数设定完成后按照常规操作观察 CC, 晶体反射出的光信号是白色。

#### 1.5 细胞培养

人主动脉内皮细胞 (human aortic endothelial cell, HAEC) 和人急性单核白血病细胞 (THP-1) 购自 ATCC 公司。细胞培养在添加 10% 胎牛血清和抗生素 (100 kU/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素) 的 DMEM 培养基中, 培养箱条件设为 37 °C、5%CO<sub>2</sub>。细胞培养到 70%~80% 汇合时用于后续的实验。对照组细胞采用磷酸盐缓冲液 (phosphate-buffered saline, PBS) 处理, CC 组细胞采用 0.5 g/L CC 刺激, 鸢尾素组细胞采用 20 nmol/L 鸢尾素处理, CC+ 鸢尾素组细胞采用 CC 和鸢尾素处理。

#### 1.6 颈动脉斑块 HE 染色和油红 O 染色

小鼠颈动脉组织用 OCT 包埋后, 进行冰冻切片。在颈动脉标本远端分叉处每隔 200 μm 连续切 20 片。切片用苏木精和伊红 (HE) 染色。染色后, 通过利用乙醇和二甲苯浓度对切片进行脱水。小鼠冰冻切片用油红 O 染色 10 min, 染色后用 60% 异丙醇浸泡, 蒸馏水洗涤。

#### 1.7 免疫荧光染色

冰冻切片用 PBS 洗涤后, 4% 甲醛固定 20 min, 0.2% Triton X-100 渗透 10 min, PBS 洗涤后室温下用 5% BSA 封闭 1 h 后, 加 1:100 一抗孵育过夜。次日用 PBS 洗 15 min×3 次, 加 1:200 荧光二抗, 室温避光孵育 1 h, 然后封片、晾干, 共聚焦显微镜观察细胞免疫荧光。

#### 1.8 单核细胞黏附实验

将 HAEC 接种在 24 孔板内, 细胞长到 70%~80% 汇合时加入相应的药物处理。THP-1 细胞用细胞膜荧光探针 Dil-Red 进行标记后, 加入 24 孔板中与 HAEC 共培养 40 min。40 min 后用 PBS 清洗去除未黏附的 THP-1 细胞, 荧光显微镜下观察并统计带荧光标记的 THP-1 细胞。

#### 1.9 Western blot

将细胞取出后用 PBS 洗 3 遍, 加入 RIPA 裂解液, 提取蛋白, BCA 法蛋白定量后进行蛋白电泳, 并将蛋白样品由凝胶转至 PVDF 膜, 将一抗 (VCAM-1:

1:1 000; ICAM-1:1:1 000) 于 4 °C 孵育过夜, 次日将二抗 (IgG 抗体:1:5 000) 室温孵育 1 h, 加入 ECL 化学发光液后, 采用 Amersham Image680 扫描机进行图像分析, 用 Image J 定量强度, 计算其与 β-actin 灰度值的比值。

#### 1.10 CC 的准备

CC 的制备依据前期发表文章<sup>[3]</sup>。将 25 g 胆固醇溶解在 2 L 预热 (60 °C) 的 95% 乙醇中。加热后, 用 Whatmann-1 型滤纸过滤混合物, 去除不需要的碎片。混合物在室温下放置过夜, 沉淀的 CC 用 Whatmann-1 滤纸过滤, 室温下干燥。同样的步骤重复 2 次以获得水合 CC。然后用研钵和研杵研磨这些晶体, 并将它们储存在一个琥珀色的瓶子里, 置于 -20 °C。

#### 1.11 荧光定量 PCR

利用 TRIzol 试剂从细胞中提取 RNA, 之后利用 TAKARA PrimeScript™ RT-PCR 试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA。然后将 cDNA 与 SYBR® Premix Ex Taq™ 试剂盒以及引物混合, 最终体积为 10 μL。RT-qPCR 扩增使用的热循环条件如下: 95 °C 预变性 5 min, 连续扩增 40 个循环 (95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火 1 min)。应用 Applied Biosystems Real time PCR 系统检测目的基因的表达, 并使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  表示目的基因的表达。

#### 1.12 统计学方法

计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较行方差齐性检验后采用单因素方差分析, 方差不齐采用邓恩多重比较检验, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

#### 2.1 鸢尾素减轻小鼠血管内皮炎症, 抑制血管内 CC 沉积

ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠颈动脉部分结扎结合西方饮食喂养 1 周后, 取颈动脉组织进行免疫荧光染色。通过共聚焦显微镜观察到晶体反射出的信号是白色, 因此图中白色部分为 CC。结果显示, 与对照组相比, As 组小鼠颈动脉 CC 沉积增加了约  $11.41 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  (*P*<0.05), VCAM-1 表达增加了 4.85 倍 (*P*<0.05)。与 As 组相比, As+ 鸢尾素组小鼠颈动脉 CC 沉积减少了约  $3.31 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  (*P*<0.05), VCAM-1 的表达降低了 53.17% (*P*<0.05; 图 1)。

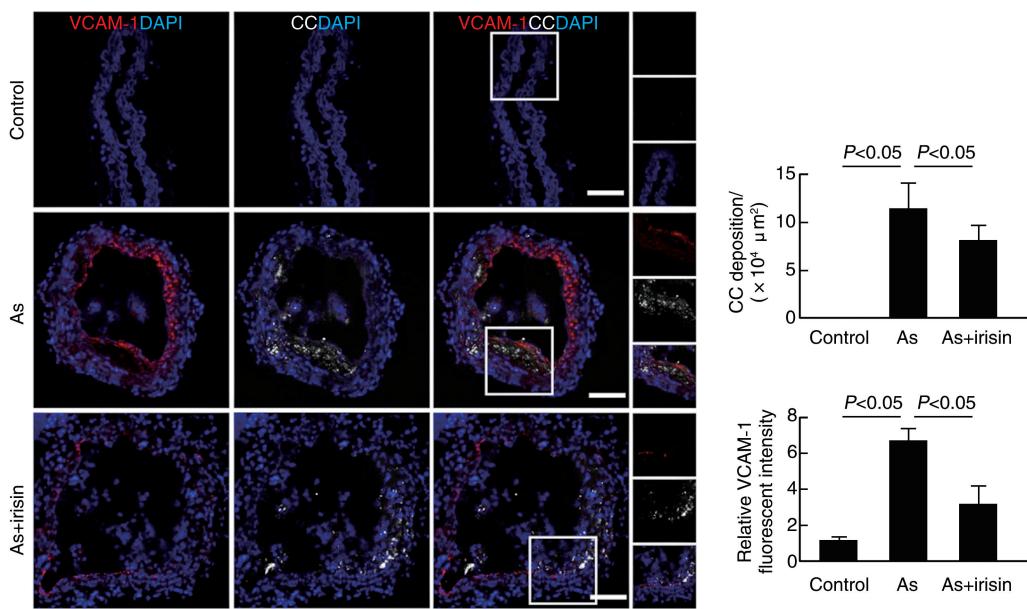


图 1. 鸢尾素抑制颈动脉中 VCAM-1 的表达和 CC 沉积 (n=6)

红色荧光为 VCAM-1, 蓝色为细胞核 (DAPI), 白色为 CC。左列的图片为 VCAM-1+DAPI, 中间为 CC+DAPI, 右列为 VCAM-1+CC+DAPI。

每组最右侧三幅图分别为白色方框区域的放大, 由上到下依次为 VCAM-1、CC 以及 VCAM-1+CC+DAPI。Bar=50  $\mu\text{m}$ 。

Figure 1. Irisin inhibits the expression of VCAM-1 and CC deposition in carotid arteries (n=6)

## 2.2 鸢尾素减轻小鼠巨噬细胞浸润, 抑制血管内 CC 沉积

ApoE<sup>-/-</sup>小鼠颈动脉部分结扎结合西方饮食喂养4周后, 取颈动脉组织进行免疫荧光染色。结果显示, 与对照组相比, As组小鼠颈动脉CC沉积增加

了约  $26.81 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  ( $P < 0.05$ ), CD68<sup>+</sup>巨噬细胞数量增加了5.24倍 ( $P < 0.05$ )。与As组相比, As+鸢尾素组的小鼠颈动脉CC沉积减少了  $10.4 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , CD68<sup>+</sup>巨噬细胞数量降低了38.74% ( $P < 0.05$ ; 图2)。

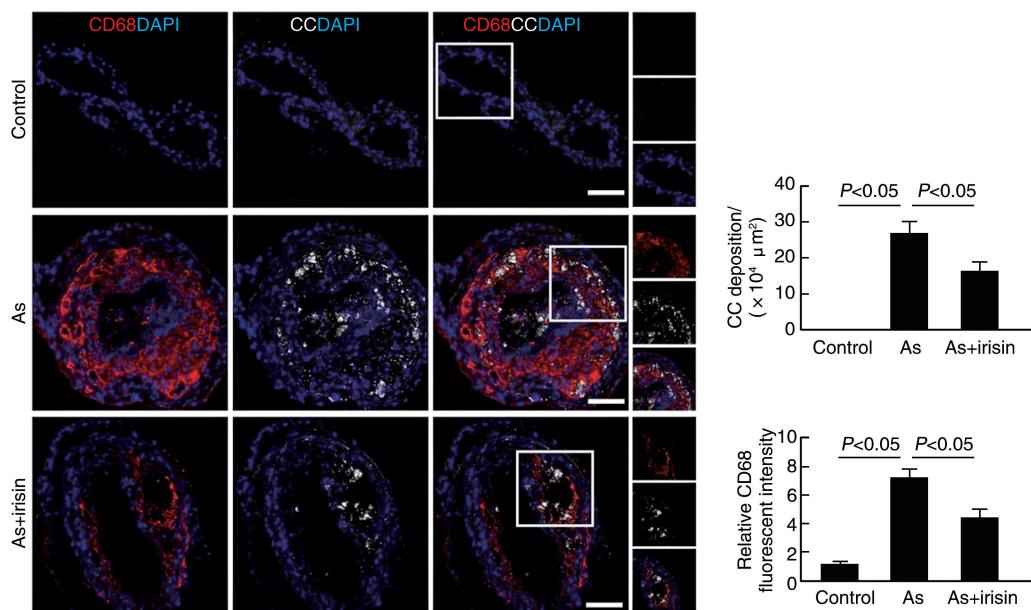


图 2. 鸢尾素抑制颈动脉斑块内 CD68<sup>+</sup> 巨噬细胞浸润和 CC 沉积 (n=6)

红色荧光为 CD68, 蓝色为 DAPI, 白色为 CC。左列的图片为 CD68+DAPI, 中间为 CC+DAPI, 右列为 CD68+CC+DAPI。

每组最右侧三幅图为白色方框区域的放大, 由上到下依次为 CD68、CC 以及 CD68+CC+DAPI。Bar=50  $\mu\text{m}$ 。

Figure 2. Irisin inhibits CD68<sup>+</sup> macrophage infiltration and CC deposition in carotid plaques (n=6)

### 2.3 鸢尾素抑制颈动脉斑块的进展

ApoE<sup>-/-</sup>小鼠颈动脉部分结扎结合西方饮食喂养4周后,取颈动脉组织进行染色。HE染色结果显示,与As组相比,As+鸢尾素组小鼠颈动脉斑块

面积减少了48.74% ( $P<0.05$ ;图3A)。油红O染色结果显示,与As组相比,As+鸢尾素组小鼠脂质沉积减少了43.42% ( $P<0.05$ ;图3B)。

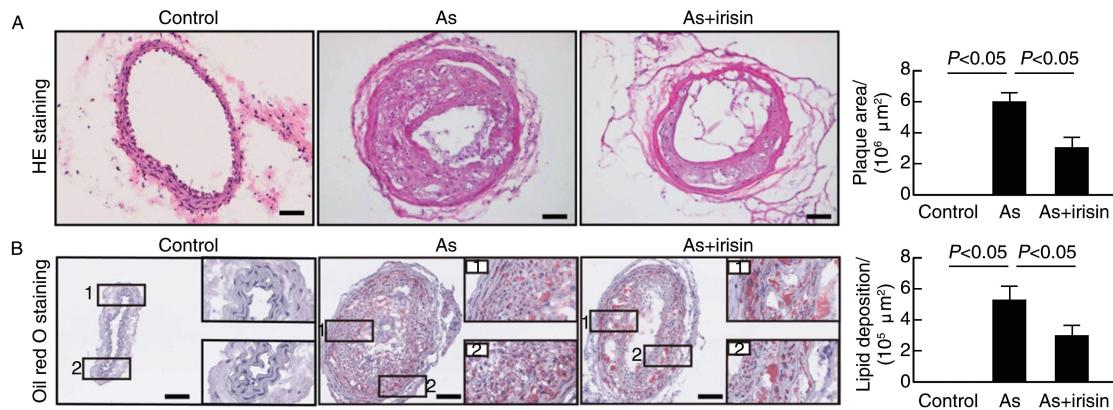


图3. 鸢尾素抑制小鼠颈动脉斑块的进展( $n=6$ )。

A为颈动脉HE染色,B为颈动脉油红O染色。Bar=50  $\mu\text{m}$ 。

Figure 3. Irisin inhibits the progression of carotid plaques in mice ( $n=6$ )

### 2.4 离体水平上,鸢尾素抑制CC诱导的黏附分子和炎症因子的表达

Western blot检测结果显示,与对照组相比,CC组细胞中ICAM-1表达增加了5.57倍( $P<0.05$ ),VCAM-1表达增加了1.71倍( $P<0.05$ )。与CC组相比,CC+鸢尾素组细胞中ICAM-1的表达降低了84.75% ( $P<0.05$ ),VCAM-1的表达降低了61.75% ( $P<0.05$ ;图4)。与对照组相比,CC组细胞中白细

胞介素1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ ,IL-1 $\beta$ )mRNA表达增加了3.34倍( $P<0.05$ ),白细胞介素6(interleukin-6,IL-6)mRNA的表达增加了1.51倍( $P<0.05$ ),趋化因子(C-C基序)配体2[chemokine (C-C motif) ligand 2,CCL2]mRNA的表达增加了1.42倍( $P<0.05$ );与CC组相比,CC+鸢尾素组细胞中IL-1 $\beta$ mRNA的表达降低了44.35%,IL-6mRNA的表达降低了51.33%,CCL2mRNA的表达降低了40.20% ( $P<0.05$ ;图4)。

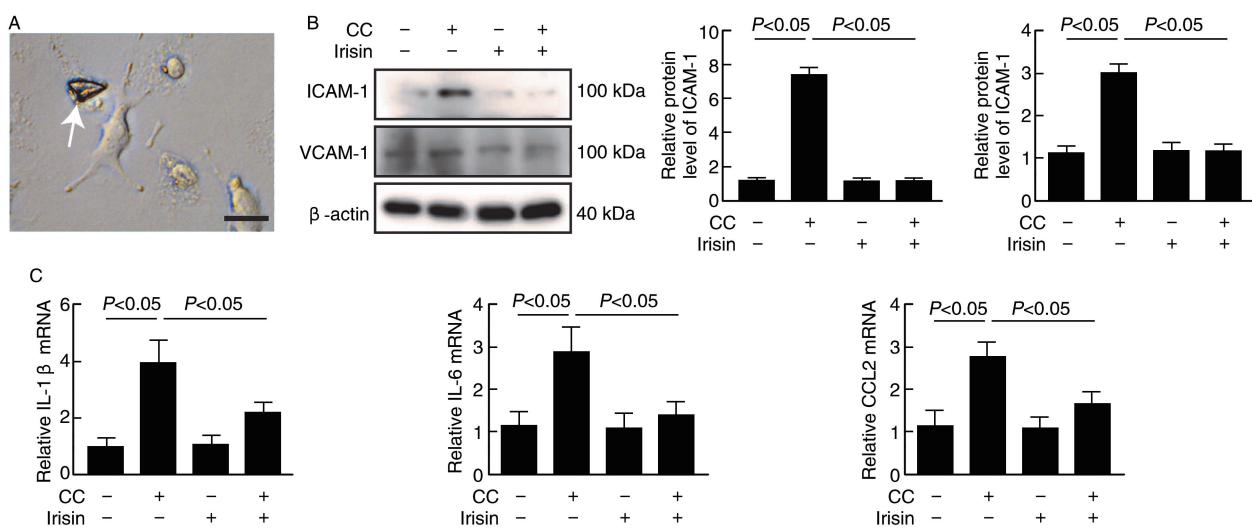


图4. 鸢尾素抑制内皮细胞中VCAM-1和ICAM-1的蛋白表达以及IL-1 $\beta$ 、IL-6和CCL2的mRNA表达

A为CC(0.5 g/L)刺激HAE,显微镜在明场条件下的图片,箭头所指为CC,Bar=10  $\mu\text{m}$ 。B为CC和鸢尾素(20 nmol/L)处理HAE 24 h后,Western blot检测VCAM-1和ICAM-1的蛋白水平( $n=6$ )。C为RT-qPCR检测IL-1 $\beta$ 、IL-6和CCL2的mRNA水平( $n=6$ )。

Figure 4. Irisin inhibits the protein expression of VCAM-1 and ICAM-1 in endothelial cells, as well as the mRNA expression of IL-1 $\beta$ , IL-6 and CCL2

## 2.5 离体水平上,鸢尾素抑制单核细胞黏附

细胞黏附实验结果显示,与对照组相比,CC 组单核细胞黏附的数目增加了 2.54 倍( $P<0.05$ )。与

CC 组相比,CC+鸢尾素组的单核细胞在内皮黏附的数目降低了 45.04% ( $P<0.05$ ;图 5)。

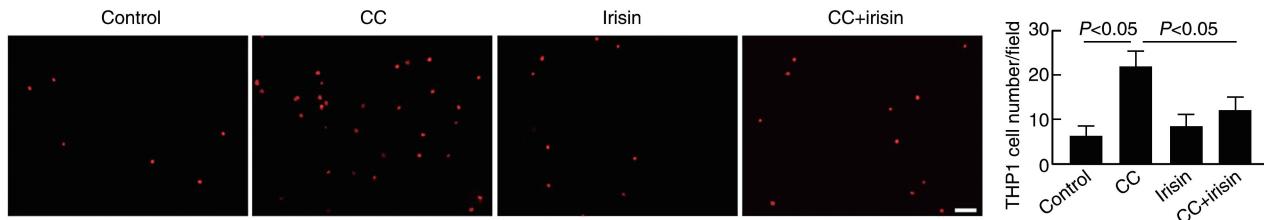


图 5. 鸢尾素抑制 CC 诱导的单核细胞黏附( $n=6$ )

0.5 g/L CC 和 20 nmol/L 鸢尾素处理 HAEC 24 h 后,加入荧光标记的 THP-1 细胞,二者孵育 40 min 后显微镜下观察。Bar = 50  $\mu$ m。

Figure 5. Irisin inhibits CC-induced monocyte adhesion ( $n=6$ )

## 3 讨 论

As 是一种慢性进行性病变,是心血管疾病的主要原因之一。内皮细胞损伤是心血管疾病发生发展的始动因素。As 相关危险因素,如氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)、CC、高糖以及剪切力改变等都能引发血管损伤<sup>[8-9]</sup>。其中 CC 被认为是 As 病变的标志,是 As 斑块的重要组成成分,在 As 斑块形成的早期即可出现,且随着斑块进展而增加<sup>[3]</sup>。由于这种针状结晶可以穿透内皮细胞破坏斑块,甚至在晚期易损斑块中导致血栓形成,因此被认为具有很大的破坏性。虽然成熟的 As 病变坏死中心含有肉眼可见的 CC 沉积,但晚期 CC 的积累并不能作为原发性炎症刺激因子。大量研究发现,CC 出现在 As 斑块的起始阶段,并与早期炎症反应有关<sup>[10-11]</sup>。我们前期的研究表明,在 As 过程中,即使没有免疫细胞浸润,CC 也存在于内皮下空间,这表明 CC 可能是 As 的初始诱因<sup>[3]</sup>。

越来越多的证据表明,鸢尾素通过抑制氧化应激、改善血脂异常、减少细胞损伤和增加内皮功能来预防 As<sup>[12]</sup>。鸢尾素通过抑制 ox-LDL 诱导的细胞炎症和凋亡,减轻小鼠 As<sup>[13]</sup>。最新的研究显示,富含鸢尾素的细胞外囊泡通过增加沉默调节蛋白 6 (sirtuin 6, SIRT6) 的稳定性来延缓血管老化<sup>[14]</sup>。这些研究提示,鸢尾素具有血管保护作用。

炎症在 As 的发展中至关重要,内皮炎症被认为是炎症细胞向斑块募集的必要条件<sup>[15]</sup>。这一过程中,CC 通过刺激内皮细胞表达黏附分子,促进单核细胞对内皮黏附,导致内皮细胞损伤<sup>[16]</sup>。然而,鸢尾素是否减轻 CC 诱导的内皮炎症未知。

本研究结果发现,鸢尾素能够抑制小鼠颈动脉

斑块进展和内皮炎症。先前的研究表明,高脂喂养 2 周后,主动脉窦即可出现 CC,这表明 CC 通常出现在斑块容易形成的区域<sup>[11]</sup>。动脉的弯曲和分叉处的血管区域具有剪应力低等特性,通常被认为是 As 易感部位。因此,我们利用 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠采用部分结扎左颈总动脉结合西方饮食喂养来研究 As 过程中 CC 的形成和作用。为进一步探索鸢尾素对 CC 诱导的内皮炎症的影响,我们在离体水平上培养 HAEC,利用 CC 刺激细胞,检测内皮黏附分子 VCAM-1 和 ICAM-1 的蛋白水平以及炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 CCL2 的 mRNA 水平,发现鸢尾素能够减少 CC 诱导的 VCAM-1 和 ICAM-1 的蛋白表达水平以及 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 CCL2 的 mRNA 表达水平。此外本研究还检测了单核细胞的黏附,发现鸢尾素能够减少 CC 诱导的单核细胞向内皮黏附。这些结果表明鸢尾素可能通过抑制 CC 诱导的内皮炎症,从而减轻 As。同时我们的在体实验还发现鸢尾素处理组小鼠血管中 CC 含量下降,说明鸢尾素除了能缓解 CC 诱导的内皮黏附分子的表达,还可能通过其他途径减轻 As,如减少 CC 在内皮的沉积,提示鸢尾素能够通过多方因素来发挥作用。

综上,鸢尾素能够通过减轻内皮炎症,减轻 As 或延缓 As 的发生发展。尽管我们证实了鸢尾素具有抗 As 的效应,但其背后的分子机制尚未阐明,其抑制血管炎症的具体分子机制还需进一步研究。另一方面,CC 倾向于在易于形成斑块的血管区域出现,如动脉树的弯曲和分叉处,这里往往伴随着低剪切应力。本研究采用低剪切应力结合西方饮食喂养的方法构建 As 模型,虽然可以快速诱导 As,但并不能真实反映人类 As 的病理过程。因此,还需要在慢性 As 模型中进一步研究鸢尾素在 CC 诱导的

内皮炎症中的作用和机制。

[参考文献]

- [1] WANG X, HE B. Endothelial dysfunction: molecular mechanisms and clinical implications [J]. *Med Comm* (2020), 2024, 5(8): e651.
- [2] 雷雪丽, 王震. 中药天然产物调控内皮细胞防治动脉粥样硬化的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(1): 70-79.
- LEI X L, WANG Z. Research progress on the regulation of endothelial cells by natural products of traditional Chinese medicine in the prevention and treatment of atherosclerosis [J]. *Chin J Arterioscler*, 2023, 31(1): 70-79.
- [3] WANG X, FU W, ZHOU G, et al. Endothelial cell-derived cholesterol crystals promote endothelial inflammation in early atherogenesis[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2024, 41 (4/6): 201-215.
- [4] BAUMER Y, MEHTA N N, DEY A K, et al. Cholesterol crystals and atherosclerosis [J]. *Eur Heart J*, 2020, 41 (24): 2236-2239.
- [5] MAAK S, NORHEIM F, DREVON C A, et al. Progress and challenges in the biology of FNDC5 and irisin[J]. *Endocr Rev*, 2021, 42(4): 436-456.
- [6] 胡小春, 叶丛, 马瑞松, 等. 血清鸢尾素、脂联素水平与颈动脉粥样硬化的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(8): 7-12.
- HU X C, YE C, MA R S, et al. Relationship between serum irisin and adiponectin levels and carotid atherosclerosis [J]. *Chin J Mod Med*, 2023, 33(8): 7-12.
- [7] CHEN J, LI K, SHAO J, et al. Irisin suppresses nicotine-mediated atherosclerosis by attenuating endothelial cell migration, proliferation, cell cycle arrest, and cell senescence [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 851603.
- [8] ZHANG Y, ZHU Z, CAO Y, et al. Rnd3 suppresses endothelial cell pyroptosis in atherosclerosis through regulation of ubiquitination of TRAF6 [J]. *Clin Transl Med*, 2023, 13(9): e1406.
- [9] HE L, ZHANG C L, CHEN Q, et al. Endothelial shear stress signal transduction and atherogenesis: from mechanisms to therapeutics[J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 235: 108152.
- [10] ABELA G S. Cholesterol crystals piercing the arterial plaque and intima trigger local and systemic inflammation [J]. *J Clin Lipidol*, 2010, 4(3): 156-164.
- [11] DUEWELL P, KONO H, RAYNER K J, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals [J]. *Nature*, 2010, 464 (7293): 1357-1361.
- [12] CHENG Z B, HUANG L, XIAO X, et al. Irisin in atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 522: 158-166.
- [13] ZHANG Y, MU Q, ZHOU Z, et al. Protective effect of irisin on atherosclerosis via suppressing oxidized low density lipoprotein induced vascular inflammation and endothelial dysfunction[J]. *PLoS One*, 2016, 11(6): e158038.
- [14] CHI C, FU H, LI Y H, et al. Exerkine fibronectin type-III domain-containing protein 5/irisin-enriched extracellular vesicles delay vascular ageing by increasing SIRT6 stability [J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(43): 4579-4595.
- [15] BAUMER Y, DEY A K, GUTIERREZ-HUERTA C A, et al. Hyperlipidaemia and IFN gamma/TNF alpha synergism are associated with cholesterol crystal formation in endothelial cells partly through modulation of lysosomal pH and cholesterol homeostasis [J]. *eBioMedicine*, 2020, 59: 102876.
- [16] SHU F, CHEN J, MA X, et al. Cholesterol crystal-mediated inflammation is driven by plasma membrane destabilization[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1163.

(此文编辑 许雪梅)