本文引用：黄傲雪, 孙园迪, 隗世宜, 等. 紫苏醇通过抑制胆固醇摄取减轻氧化型低密度脂蛋白诱导的巨噬细胞泡沫化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2026, 34(10): 942-951, 1025. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2026.10.003.

·金俊飞教授代谢紊乱与心血管疾病专栏· [文章编号] 1007-3949(2026)34-10-0942-11

紫苏醇通过抑制胆固醇摄取减轻氧化型低密度脂蛋白诱导的巨噬细胞泡沫化

黄傲雪[1], 孙园迪[1], 隗世宜[1], 黄俊舒[1], 崔瀛洲[2], 徐成宝[1], 龚 克[1]

1. 湖北医药学院基础医学院胚胎干细胞研究湖北省重点实验室, 湖北省十堰市 442000;

2. 辽宁中医药大学杏林学院, 辽宁省沈阳市 110167

[摘 要] [目的] 探讨紫苏醇对氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化的影响及其潜在分子机制。[方法] 采用 CCK-8 法评估不同浓度紫苏醇对 THP-1 巨噬细胞活性的影响。以 50 mg/L ox-LDL 诱导 THP-1 巨噬细胞建立泡沫细胞模型, 分为空白对照组、ox-LDL 组、50 μmol/L 和 100 μmol/L 紫苏醇处理组。油红 O 染色评估细胞内脂质蓄积, DiI-ox-LDL 摄取实验和氟硼二吡咯标记胆固醇(BODIPY-CHO)外排实验分别检测胆固醇摄取与外排能力; 反转录实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)和 Western blot 检测分化簇 36(CD36)、凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1(LOX-1)、A 类 1 型清道夫受体(SR-A1)、ATP 结合盒转运体 A1(ABCA1)、ATP 结合盒转运体 G1(ABCG1)及 B 类 1 型清道夫受体(SR-B1)的 mRNA 和蛋白表达水平; 并利用 Western blot 检测 p65、p38 和 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)的磷酸化水平, 进一步采用 Diprovocim 进行回补实验, 以验证核因子 κB(NF-κB)信号是否参与紫苏醇的作用。[结果] 与模型组相比, 50 μmol/L 和 100 μmol/L 紫苏醇处理组油红 O 阳性染色面积显著减少($P<0.001$), DiI-ox-LDL 荧光强度明显降低($P<0.01$), 而标准化胆固醇外排率无显著变化($P>0.05$)。紫苏醇显著下调 CD36、LOX-1 和 SR-A1 的 mRNA 及蛋白表达水平($P<0.05$); ABCA1、ABCG1 和 SR-B1 的 mRNA 及蛋白表达无明显变化($P>0.05$)。紫苏醇显著抑制 p65 磷酸化($P<0.01$), 但对 p38 和 JNK 磷酸化无显著影响($P>0.05$)。Diprovocim 可恢复 p65 磷酸化($P<0.001$)及 CD36、LOX-1、SR-A1 的表达($P<0.05$), 并削弱紫苏醇的抗泡沫化效应。[结论] 紫苏醇可减少 ox-LDL 的摄取, 抑制 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化, 其机制与降低 NF-κB p65 磷酸化并下调 CD36、LOX-1 和 SR-A1 表达有关。

[关键词] 紫苏醇; 泡沫细胞; 巨噬细胞; 胆固醇代谢; 核因子 κB; 动脉粥样硬化

[中图分类号] R5; R363 [文献标识码] A

Perillyl alcohol attenuates oxidized low density lipoprotein-induced macrophage foam cell formation by inhibiting cholesterol uptake

Huang Aoxue[1], Sun Yuandi[1], Wei Shiyi[1], Huang Junshu[1], Cui Yingzhou[2], Xu Chengbao[1], Gong Ke[1]

1. *Hubei Key Laboratory of Embryonic Stem Cell Research, School of Basic Medical Sciences, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei* 442000, *China*; 2. *Xinglin College of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning* 110167, *China*

[**ABSTRACT**] **Aim** To investigate the effect of perillyl alcohol (POH) on oxidized low density lipoprotein (ox-LDL)-induced foam cell formation in THP-1-derived macrophages and its potential molecular mechanism. **Methods** Cell viability after treatment with different concentrations of POH was assessed by using the CCK-8 assay. THP-1-derived macrophages were assigned to the control group, ox-LDL group, or POH treatment groups (50 or 100 μmol/L). Foam cell formation was induced with 50 mg/L ox-LDL in the model and POH treatment groups. Intracellular lipid

[收稿日期] 2026-07-09 [修回日期] 2026-09-07

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82500549); 湖北省自然科学基金项目(2025AFB067, 2025AFB115); 湖北医药学院人才启动金(2024QDJZR004)

[作者简介] 黄傲雪, 研究方向为天然产物在心血管疾病中的应用及作用机制, E-mail: 2502522438@qq.com。通信作者徐成宝, 博士, 讲师, 研究方向为心血管疾病的病理机制与干预策略, E-mail: chengbao-xu@hbmu.edu.cn。通信作者龚克, 博士, 讲师, 硕士研究生导师, 研究方向为重大代谢性疾病和心血管疾病的病理机制与干预策略, E-mail: kegong@hbmu.edu.cn。

accumulation was evaluated by oil red O staining. Cholesterol uptake and efflux were assessed by using DiI-ox-LDL uptake and BODIPY-CHO efflux assays, respectively. The mRNA and protein expression levels of cluster of differentiation 36 (CD36), lectin-like oxidized-low density lipoprotein receptor-1 (LOX-1), scavenger receptor class A type 1 (SR-A1), ATP-binding cassette transporters A1 (ABCA1), ATP-binding cassette transporters G1 (ABCG1), and scavenger receptor class B type 1 (SR-B1) were measured by reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and Western blot, respectively. The phosphorylation levels of nuclear factor-kappa B (NF-κB) p65, p38 mitogen-activated protein kinase (p38), and c-Jun N-terminal kinase (JNK) were examined by Western blot. Diprovocim was further used in a rescue experiment to assess the involvement of NF-κB signaling. **Results** Compared with the ox-LDL group, treatment with 50 and 100 μmol/L POH significantly reduced the area of oil red O-positive staining ($P<0.001$) and DiI-ox-LDL fluorescence intensity ($P<0.01$), whereas the standardized cholesterol efflux rate was not significantly altered ($P>0.05$). POH markedly downregulated the mRNA and protein expression of CD36, LOX-1, and SR-A1 ($P<0.05$). ABCA1, ABCG1, and SR-B1 mRNA and protein levels were unchanged ($P>0.05$). POH significantly inhibited p65 phosphorylation ($P<0.01$), while p38 and JNK phosphorylation were not significantly affected ($P>0.05$). Diprovocim restored p65 phosphorylation ($P<0.001$) and the expression of CD36, LOX-1, and SR-A1 ($P<0.05$), and attenuated the inhibitory effects of POH. **Conclusion** POH reduces ox-LDL uptake and attenuates foam cell formation in THP-1-derived macrophages. These effects are associated with reduced NF-κB p65 phosphorylation and downregulated expression of CD36, LOX-1, and SR-A1.

[**KEY WORDS**] perillyl alcohol; foam cells; macrophage; cholesterol metabolism; nuclear factor-κB; atherosclerosis

动脉粥样硬化是缺血性心脑血管疾病的重要病理基础,其发生发展与脂质沉积、慢性炎症反应和血管壁细胞功能异常密切相关[1-2]。巨噬细胞源性泡沫细胞形成是动脉粥样硬化早期病变的重要事件,并参与斑块脂质核心形成和病变进展[3]。低密度脂蛋白进入血管内膜后可发生氧化修饰,形成氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein,ox-LDL)[3]。巨噬细胞持续摄取 ox-LDL 后,胆固醇及胆固醇酯在细胞内蓄积,进而诱导泡沫细胞形成[4-5]。

巨噬细胞胆固醇稳态主要取决于胆固醇摄取与外排之间的动态平衡[6]。清道夫受体介导的 ox-LDL 摄取是泡沫细胞形成的关键环节[7],抑制清道夫受体介导的 ox-LDL 摄取可减少巨噬细胞源性泡沫细胞的形成[8]。分化簇 36(cluster of differentiation 36,CD36)、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)和 A 类 1 型清道夫受体(scavenger receptor class A type 1,SR-A1)均参与修饰型脂蛋白识别和摄取[9-10]。相反,ATP 结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1,ABCA1)、ATP 结合盒转运体 G1(ATP-binding cassette transporter G1,ABCG1)和 B 类 1 型清道夫受体(scavenger receptor class B type 1,SR-B1)等分子参与胆固醇外排,有助于减轻细胞内脂质负荷[11]。因此,从摄取和外排两个方面评价候选药物作用,有助于明确其抗泡沫化机制。

天然活性成分是动脉粥样硬化干预研究的重要来源[12-13]。紫苏醇(perillyl alcohol,POH)是一种天然单萜类化合物,存在于多种植物精油中[14]。既往研究显示,POH 具有抗氧化、抗炎和免疫调节等生物学活性,并可降低巨噬细胞氧化应激水平[14-16]。最新研究还发现,POH 可在小鼠肝纤维化模型中减少巨噬细胞募集并减轻肝脏炎症[17]。然而,POH 能否干预 ox-LDL 诱导的巨噬细胞泡沫化,以及其作用是否与胆固醇摄取或外排改变有关,目前尚不明确。本研究以 ox-LDL 诱导的 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化模型为对象,观察 POH 对细胞脂质蓄积、ox-LDL 摄取、胆固醇外排及相关分子表达的影响,并初步探讨其可能机制,为 POH 调控巨噬细胞泡沫化提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 主要材料

POH 购自 Merck KGaA;CCK-8 试剂购自 Biosharp 公司;饱和油红 O 染液购自武汉赛维尔;DiI 标记的 ox-LDL(1,1′-dioctadecyl-3,3,3′,3′-tetramethylindocarbocyanine perchlorate labeled ox-LDL,DiI-ox-LDL)和 ox-LDL 购自广州奕源生物科技有限公司;总 RNA 提取液(TRIzol)购自 Invitrogen;SYBR Green One-Step RT-qPCR 试剂盒购自翌圣生物科技有限公司。氟硼二吡咯标记胆固醇(BODIPY-CHO)、Diprovocim 购自 MedChemExpress 公司;CD36、LOX-1、ABCA1、ABCG1 和 SR-A1 抗体购自 Proteintech;SR-B1 抗体购自 ABclonal;磷酸化核因子 κB p65(phospho-

rylated nuclear factor-kappa B p65, phospho-NF-κB p65)抗体购自 STARTER; NF-κB p65(p65)、p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)、磷酸化 p38 MAPK(Thr180/Tyr182 位点)、c-Jun 氨基末端激酶 1/2/3(c-Jun N-terminal kinase 1/2/3, JNK1/2/3)、磷酸化 JNK(Thr183/Tyr185 位点)、GAPDH 和热休克蛋白 90(heat shock protein 90, HSP90)抗体购自赛维尔。qPCR 引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成,序列见表 1。

表 1. qPCR 引物序列

Table 1. Primer sequences of qPCR

基因	上游(5′→3′)	下游(5′→3′)	产物长度/bp	退火温度/℃
ABCA1	GCTCAGTGGGATGGATGGCAAAG	CTCCGTCTGGCAATTAGCAGTCTC	108	56
CD36	CCTGAAGTTCCGTTCATTTTCC	TCCACAGTGTTCCTGTTGTTG	198	58
LOX-1	CCGGCAACAAGCAGAAGAAG	TGCTGGATGAAGTCCTGAACA	178	56
SR-A1	GAGGATGTGCTGAGACCTTTGG	TTTCCTCCAGCCCACTGTTCCT	122	56
ABCG1	GGCACCGCCATGAATGC	GTCTCAGTGGCCTCCATGTT	107	58
SR-B1	GAAGGCATCCCCACCTATCG	AGAAACAAGGGGGCACTGAA	146	58
β-actin	GCCGCCAGCTCACCAT	TCGTCGCCCACATAGGAATC	184	58

1.2 细胞培养

THP-1 细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司。细胞采用含 10% 胎牛血清、50 mg/L 青霉素-链霉素双抗的 RPMI-1640 完全培养基,于 37 ℃、含 5% CO_2 的恒温培养箱中常规培养。待细胞生长至对数期 80% ~90% 汇合时进行传代,每 2 ~3 天更换 1 次培养基。后续实验选用 10 代内生长状态良好的细胞。

1.3 泡沫细胞模型的制备和药物处理

取对数生长期 THP-1 细胞接种于培养板中,加入佛波酯(phorbol 12-myristate-13-acetate, PMA)至终浓度 100 μg/L,于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中孵育 24 h,诱导分化为巨噬细胞。根据实验内容,将细胞分为以下各组:(1)空白对照组:仅含 RPMI-1640 完全培养基;(2)ox-LDL 组:加入 50 mg/L ox-LDL;(3)低剂量药物组:加入 50 mg/L ox-LDL 与 50 μmol/L POH;(4)高剂量药物组:加入 50 mg/L ox-LDL 与 100 μmol/L POH;(5)Diprovocim 处理组:加入 50 mg/L ox-LDL 与 1 μmol/L Diprovocim;(6)Diprovocim 联合 POH 处理组:加入 50 mg/L ox-LDL、100 μmol/L POH 与 1 μmol/L Diprovocim。各组细胞于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中继续培养 24 h。处理结束后,细胞用于后续检测。胆固醇摄取和胆固醇外排实验分别按照 1.6 和 1.7 所述方案进行独立分组。

1.4 细胞活性检测

取对数生长期 THP-1 细胞,以 5×10^4 个/孔接种于 96 孔板中,并诱导分化为巨噬细胞。分别加入含不同浓度 POH(0、5、10、25、50、100、200、400、800、1 000 μmol/L)的完全培养基,每组设 4 个复孔,继续培养 24 h。参照文献方法[18],采用 CCK-8 法测定细胞活力。

1.5 油红 O 染色

取各组处理后的 THP-1 巨噬细胞,弃去培养液,用磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)轻柔洗涤;参照文献方法[19]进行后续染色处理,加入 4% 多聚甲醛室温固定 15 min,60% 异丙醇漂洗 1 次;滴加现配的油红 O 工作液室温避光染色 15 min,60% 异丙醇快速分化至背景干净,蒸馏水漂洗终止染色;在光学显微镜下观察细胞内脂滴形成情况,采用 Image J 软件对阳性染色面积进行定量分析。

1.6 胆固醇摄取实验

取 THP-1 细胞接种于内置细胞爬片的 24 孔板中,诱导分化为巨噬细胞。分别加入 50 μmol/L 和 100 μmol/L POH,孵育 24 h。处理结束后,参照文献方法[19]换入含 DiI 标记的 ox-LDL(DiI-ox-LDL, 10 mg/L)无血清培养基,于 37 ℃避光孵育 4 h。孵育结束后,弃去培养基,PBS 洗涤 3 次,4% 多聚甲醛固定 15 ~20 min,DAPI 染核 5 min,以抗荧光淬灭封片剂封片。采用 Image J 软件对红色荧光强度进行定量分析,以评估巨噬细胞对 ox-LDL 的摄取能力。

1.7 胆固醇外排实验

取 THP-1 细胞诱导分化为巨噬细胞,设置 BODIPY-CHO 阴性对照组、BODIPY-CHO 组以及 50 μmol/L 和 100 μmol/L POH 处理组。阴性对照组不加入 BODIPY-CHO,其余各组加入 BODIPY-CHO 至终浓度为 5 μmol/L,于 37 ℃避光孵育 2 h 进行荧光标记。标记结束后弃去标记液,PBS 洗涤 3 次,更换为

含 50 mg/L 高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)的无血清培养基诱导胆固醇外排,POH 处理组维持相应药物浓度,继续避光孵育 4 h。孵育结束后,弃去培养基,PBS 洗涤 3 次,4% 多聚甲醛固定 15 min,DAPI 染核 5 min,以抗荧光淬灭封片剂封片。采用正置荧光显微镜观察并拍照,采用 Image J 软件对 BODIPY 荧光强度进行定量分析。另设平行孔进行相同处理,孵育结束后收集培养基测定 BODIPY 荧光强度,同时测定细胞相关 BODIPY 荧光强度。胆固醇外排率按公式计算:胆固醇外排率(%)= 培养基荧光强度/(培养基荧光强度+细胞相关荧光强度)×100%。

1.8　实时荧光定量 PCR

实验处理结束后,采用 TRIzol 试剂提取各组细胞总 RNA,测定 RNA 浓度及纯度。取各组 1 μg 总 RNA,使用 HiScript Ⅱ Q Select 反转录试剂盒按照说明书反转录合成互补 DNA(complementary DNA, cDNA)。以所得 cDNA 为模板,参照表 1 所列引物序列,使用 SYBR Green 法进行反转录实时荧光定量 PCR(reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)检测。以各样本 β-actin mRNA 表达水平为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量。具体操作步骤参照文献方法[20]。

1.9　Western blot 检测相关蛋白表达

取对数生长期细胞接种于 6 孔板中,按实验方案给药后收集细胞,加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取总蛋白。BCA 法测定蛋白浓度后,取等量蛋白进行 SDS-PAGE,转至 PVDF 膜,封闭后加入一抗,于 4 ℃孵育过夜,次日加二抗室温孵育,采用全自动化学发光图像分析系统检测蛋白信号,采用 Image J 软件进行灰度值分析,以 GAPDH 或 HSP90 为内参校正目的蛋白相对表达量。具体操作步骤参照文献方法[21]。

1.10　统计学分析

所有数据来自至少 3 次独立实验,以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用 GraphPad Prism 软件进行统计分析,采用单因素或双因素方差分析结合事后检验。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　紫苏醇减轻 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞脂质蓄积

紫苏醇的化学结构式见图 1A。CCK-8 结果显示,经 0 ~ 1 000 μmol/L POH 处理 24 h 后,THP-1 源性巨噬细胞活性未见明显下降($P>0.05$;图 1B)。结合细胞活性结果及既往文献[15-16],后续实验选用 50 μmol/L 和 100 μmol/L POH 进行干预。

油红 O 染色显示,ox-LDL 处理后可见大量油红 O 阳性脂滴,提示泡沫细胞模型构建成功。与 ox-LDL 组比较,50 μmol/L 和 100 μmol/L POH 处理后油红 O 阳性染色面积分别降低约 75.74% 和 80.01%(均 $P<0.001$;图 1C、D)。结果提示,POH 可减轻 ox-LDL 诱导的 THP-1 源性泡沫细胞脂质蓄积。

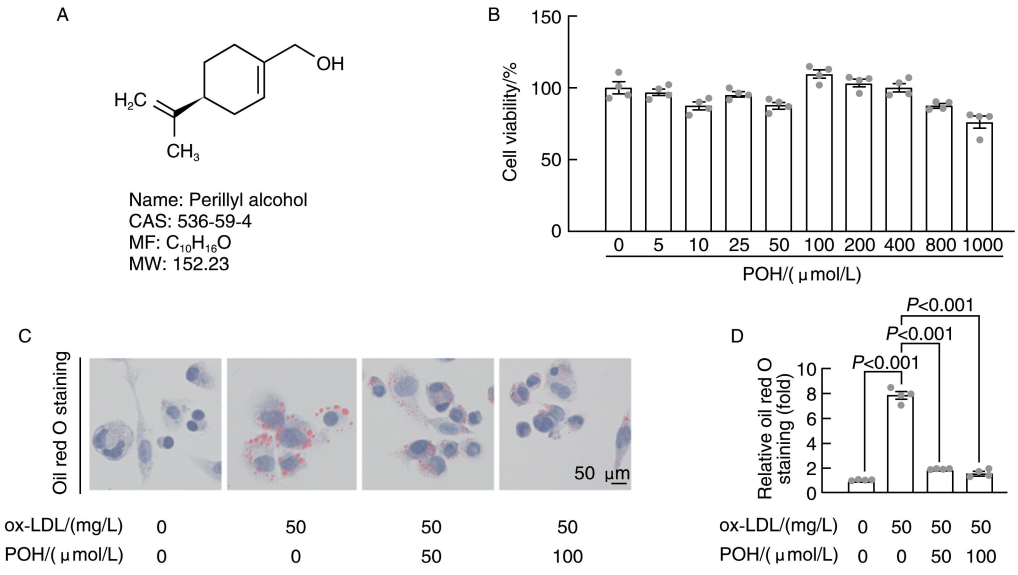


图 1. 紫苏醇缓解 ox-LDL 诱导的 THP-1 源性泡沫细胞脂质蓄积

A 为紫苏醇的化学结构式、CAS 号、分子式及相对分子质量;B 为 POH 处理 THP-1 源性巨噬细胞 24 h 后,采用 CCK-8 法测定的细胞活力($n=4$);C 为油红 O 染色图像;D 为油红 O 阳性染色面积的定量分析($n=4$)。

Figure 1. Perillyl alcohol attenuates lipid accumulation in ox-LDL-induced THP-1-derived foam cells

2.2 紫苏醇降低 THP-1 巨噬细胞对 ox-LDL 的摄取

为明确 POH 如何影响泡沫细胞脂质蓄积，进一步检测了 POH 对巨噬细胞 ox-LDL 摄取和胆固醇外排能力的影响。DiI-ox-LDL 摄取实验显示，未加入 DiI-ox-LDL 的阴性对照组仅见背景荧光，而加入 DiI-ox-LDL 后细胞出现明显红色荧光（图 2A）。与 DiI-ox-LDL 组比较，50 μmol/L 和 100 μmol/L POH 处理后 DiI-ox-LDL 荧光强度分别降低约 25.46% 和 54.11%（$P<0.01$；图 2B）。结果说明，POH 可抑制 THP-1 巨噬细胞对 ox-LDL 的摄取。

随后采用 BODIPY-CHO 标记并以 HDL 诱导胆固醇外排。未加入 BODIPY-CHO 的阴性对照组仅见背景荧光（图 2C）。与 BODIPY-CHO 组比较，50 μmol/L 和 100 μmol/L POH 处理后细胞内 BODIPY 荧光强度、培养基 BODIPY 荧光强度及细胞相关 BODIPY 荧光强度均无显著变化（均 $P>0.05$；图 2D-F）。进一步采用培养基荧光占培养基与细胞相关总荧光的比例计算标准化胆固醇外排率，BODIPY-CHO 阳性各组外排率均约为 20%，组间差异无统计学意义（$P>0.05$；图 2G）。上述结果表明，POH 减轻巨噬细胞脂质蓄积主要与抑制 ox-LDL 摄取有关，而对 HDL 介导的胆固醇外排无明显影响。

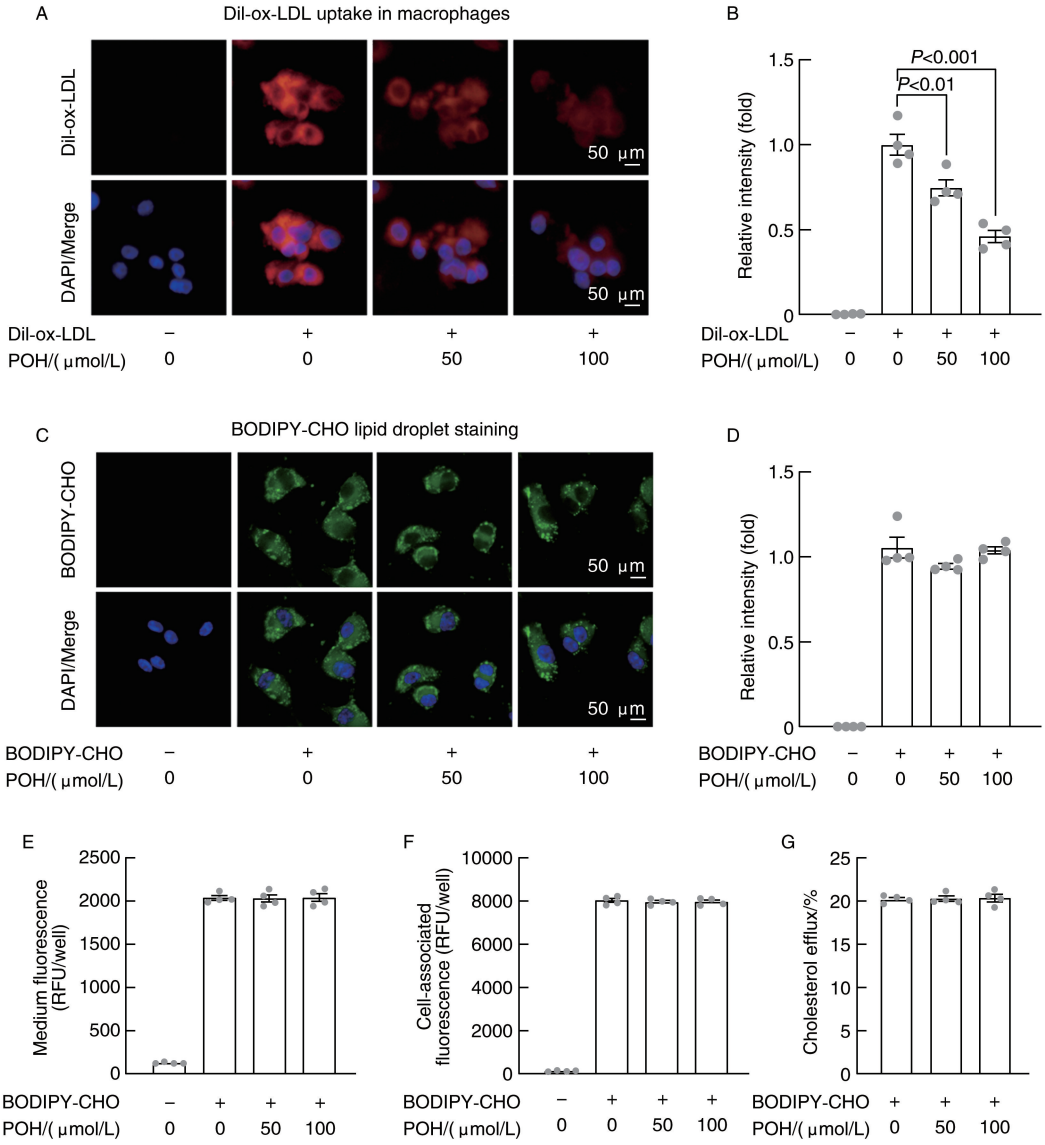


图 2. 紫苏醇对 THP-1 源性巨噬细胞 ox-LDL 摄取和胆固醇外排的影响

A 为 DiI-ox-LDL 摄取的代表性荧光图像；B 为 DiI-ox-LDL 荧光强度的定量分析（$n=4$）；C 为 BODIPY-CHO 标记并经 HDL 诱导胆固醇外排后的代表性荧光图像；D 为细胞内 BODIPY 荧光强度的定量分析（$n=4$）；E 为培养基 BODIPY 荧光强度（$n=4$）；F 为细胞相关 BODIPY 荧光强度（$n=4$）；G 为标准化胆固醇外排率（$n=4$）。

Figure 2. Effect of perillyl alcohol on ox-LDL uptake and cholesterol efflux in THP-1-derived macrophages

2.3　紫苏醇下调胆固醇摄取相关受体的 mRNA 表达

为进一步明确 POH 抑制 ox-LDL 摄取的分子基础，采用 RT-qPCR 检测胆固醇摄取和外排相关基因表达。与 ox-LDL 组比较，50 μmol/L 和 100 μmol/L POH 处理后 CD36 mRNA 表达分别降低约 51.76% 和 62.73%（均 $P<0.001$），LOX-1 mRNA 表达分别降低约 63.26% 和 68.67%（均 $P<0.001$），SR-A1 mRNA 表达分别降低约 37.72% 和 64.12%（$P<0.05$；图 3A-C）。这些结果表明，POH 可同时下调 CD36、LOX-1 和 SR-A1 的 mRNA 表达。

与胆固醇外排实验结果总体一致，POH 处理对 ABCA1、ABCG1 和 SR-B1 的 mRNA 表达未见显著影响（均 $P>0.05$；图 3D-F）。上述结果表明，POH 可下调 CD36、LOX-1 和 SR-A1 的 mRNA 表达，而胆固醇外排相关基因无显著变化。

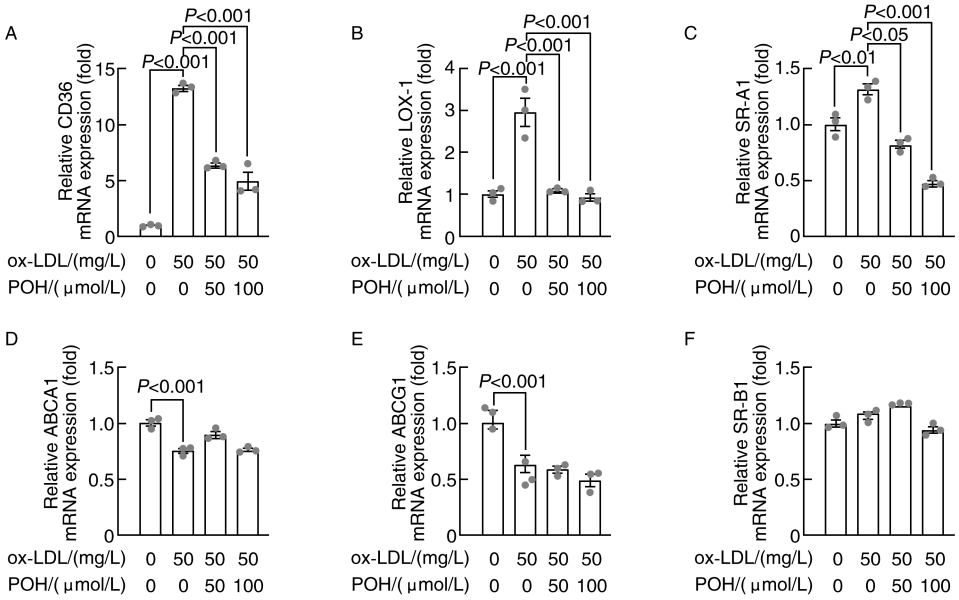


图 3. 紫苏醇对 ox-LDL 诱导的 THP-1 泡沫细胞胆固醇摄取与外排相关基因 mRNA 表达的影响（$n=3$）

A、B、C 分别为 RT-qPCR 检测的 CD36、LOX-1 和 SR-A1 的 mRNA 表达水平；D、E、F 分别为 ABCA1、ABCG1 和 SR-B1 的 mRNA 表达水平。

Figure 3. Effect of perillyl alcohol on mRNA expression of cholesterol uptake and efflux-related genes in ox-LDL-induced THP-1 foam cells（$n=3$）

2.4　紫苏醇下调胆固醇摄取相关受体的蛋白表达

与 RT-qPCR 结果总体一致，Western blot 结果显示，与 ox-LDL 组比较，50 μmol/L 和 100 μmol/L POH 处理后 CD36 蛋白表达分别降低约 16.54% 和 43.15%（$P<0.01$ 和 $P<0.001$），LOX-1 蛋白表达分别降低约 27.60% 和 42.68%（$P<0.01$），SR-A1 蛋白表达分别降低约 9.37% 和 32.53%（均 $P<0.001$；图 4A、C-E）。相比之下，ABCA1、ABCG1 和 SR-B1 蛋白表达未见明显变化（$P>0.05$；图 4B、F-H）。以上结果表明，POH 对胆固醇摄取相关受体的抑制在蛋白水平得到进一步验证，并与其降低 ox-LDL 摄取和脂质蓄积的结果一致。

2.5　紫苏醇抑制 ox-LDL 诱导的 NF-κB p65 磷酸化

本研究进一步检测 p65、p38 和 JNK 的磷酸化水平，以评估这些信号是否参与 POH 对胆固醇摄取相关受体的调控。Western blot 结果显示，与 ox-LDL 组比较，50 μmol/L 和 100 μmol/L POH 处理后 p65 磷酸化水平分别降低约 14.55% 和 34.34%（$P<0.01$；图 5A、B）。p38 磷酸化水平在 POH 处理后呈下降趋势，但差异无统计学意义（$P>0.05$；图 5C、D）。JNK 磷酸化水平在各组间未见明显差异（$P>0.05$；图 5E、F）。上述结果显示，POH 显著降低 p65 磷酸化水平，而 p38 和 JNK 磷酸化均无显著变化，提示 NF-κB p65 可能参与 POH 对胆固醇摄取相关受体的调控。

2.6　Diprovocim 削弱紫苏醇对脂质蓄积和 ox-LDL 摄取的抑制作用

为进一步验证 NF-κB 信号是否参与 POH 的作用，采用 Toll 样受体 1/2（Toll-like receptor 1/2，TLR1/TLR2）激动剂 Diprovocim 恢复 NF-κB 信号活化进行回补实验。油红 O 染色结果显示，与 ox-LDL 组比较，100 μmol/L POH 处理使油红 O 阳性染色

面积降低约 39.80%（$P<0.001$；图 6A、B）；与 ox-LDL+POH 组比较，联合 Diprovocim 后油红 O 阳性染色面积增加约 76.31%（$P<0.01$；图 6A、B）。

DiI-ox-LDL 摄取实验显示，与 DiI-ox-LDL 组比较，POH 处理使 DiI-ox-LDL 荧光强度降低约 58.29%（$P<0.001$；图 6C、D）；与 DiI-ox-LDL+POH 组比较，联合 Diprovocim 后荧光强度增加约 112.84%（$P<0.01$；图 6C、D）。上述结果表明，Diprovocim 可削弱 POH 对脂质蓄积及 ox-LDL 摄取的抑制作用。

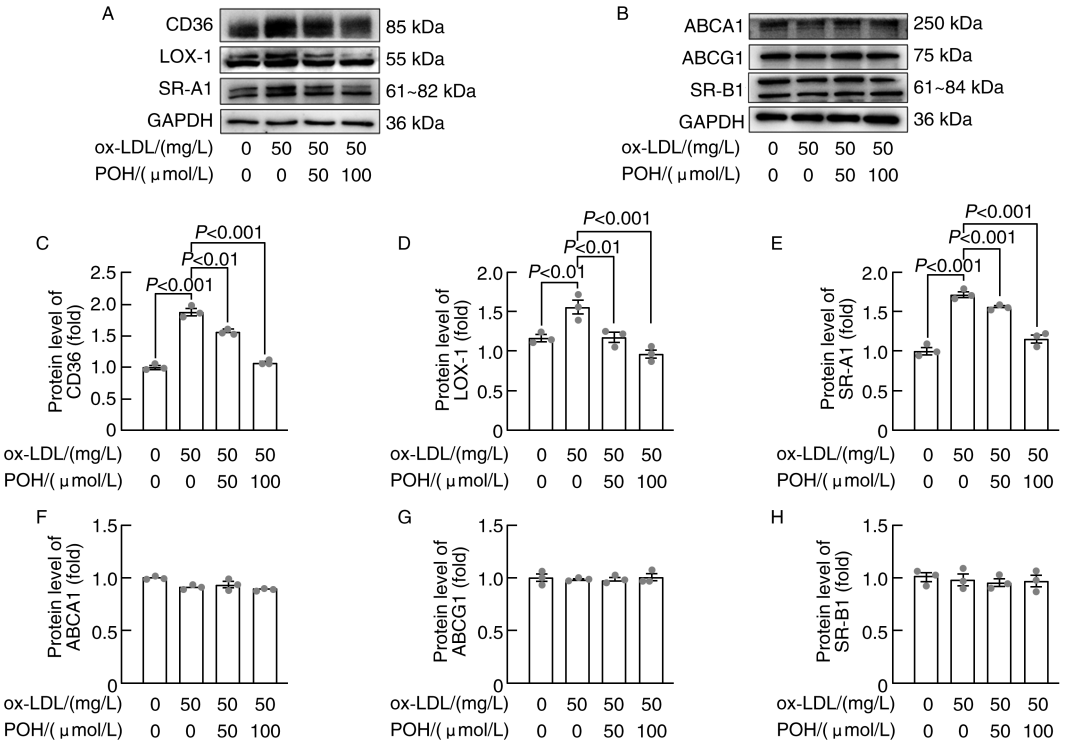


图 4. 紫苏醇对 ox-LDL 诱导的 THP-1 泡沫细胞胆固醇摄取与外排相关蛋白表达的影响

A 为 CD36、LOX-1 和 SR-A1 的 Western blot 条带；B 为 ABCA1、ABCG1 和 SR-B1 的 Western blot 条带；C、D、E 分别为 CD36、LOX-1 和 SR-A1 蛋白表达的定量分析（$n=3$）；F、G、H 分别为 ABCA1、ABCG1 和 SR-B1 蛋白表达的定量分析（$n=3$）。

Figure 4. Effect of perillyl alcohol on the protein expression of cholesterol uptake and efflux-related proteins in ox-LDL-induced THP-1 foam cells

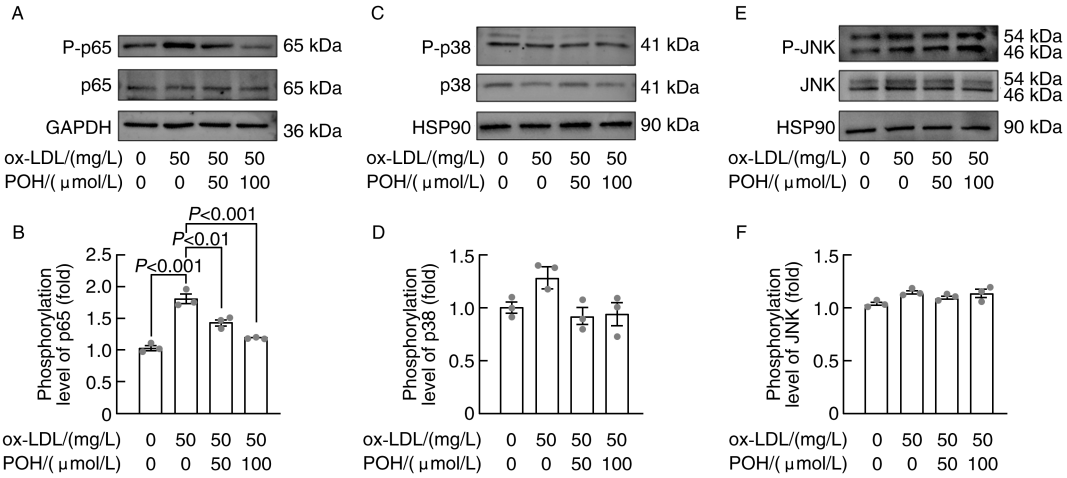


图 5. 紫苏醇对 ox-LDL 诱导的 THP-1 泡沫细胞 NF-κB p65、p38 和 JNK 磷酸化的影响

A、C、E 分别为磷酸化 p65 与总 p65、磷酸化 p38 与总 p38、磷酸化 JNK 与总 JNK 的 Western blot 条带；B、D、F 分别为 p65、p38 和 JNK 磷酸化水平的定量分析（$n=3$）。

Figure 5. Effect of perillyl alcohol on NF-κB p65, p38, and JNK phosphorylation in ox-LDL-induced THP-1 foam cells

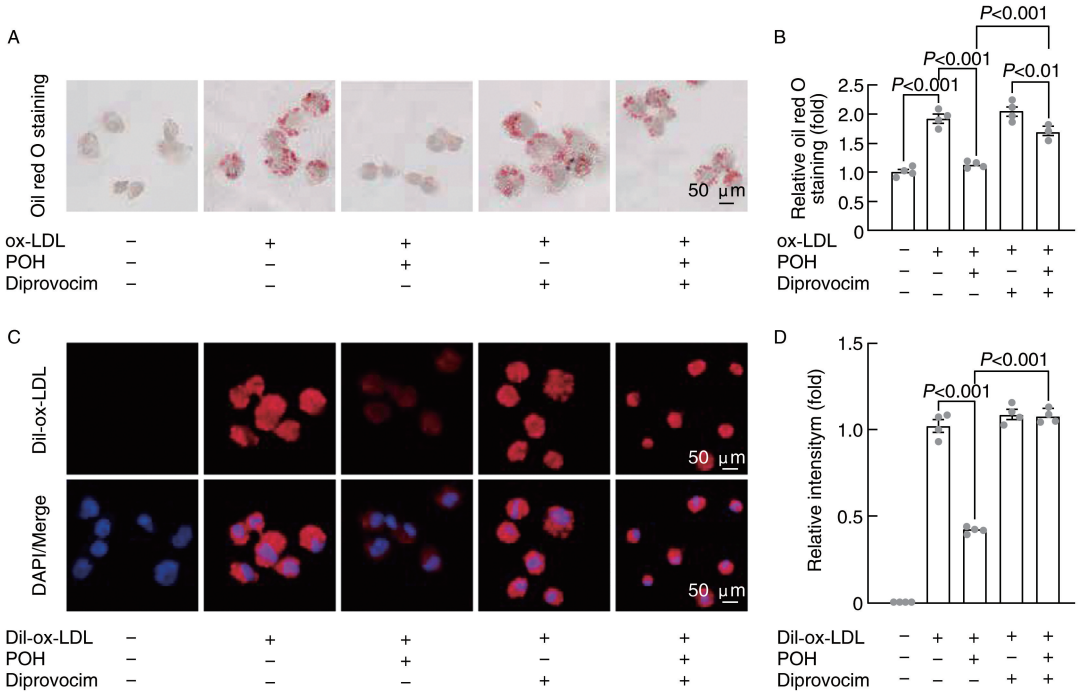


图 6. Diprovocim 削弱紫苏醇对 THP-1 源性巨噬细胞脂质蓄积和 ox-LDL 摄取的抑制作用

A 为油红 O 染色图像；B 为油红 O 阳性染色面积的定量分析（$n=4$）；C 为 DiI-ox-LDL 摄取的代表性荧光图像；D 为 DiI-ox-LDL 荧光强度的定量分析（$n=4$）。

Figure 6. Diprovocim attenuates the inhibitory effects of perillyl alcohol on lipid accumulation and ox-LDL uptake in THP-1-derived macrophages

2.7　Diprovocim 拮抗紫苏醇对 p65 磷酸化及胆固醇摄取相关受体表达的抑制作用

进一步检测 Diprovocim 对 p65 磷酸化及摄取相关受体表达的影响。RT-qPCR 结果显示，与 ox-LDL 组比较，100 μmol/L POH 使 CD36、LOX-1 和 SR-A1 的 mRNA 表达分别降低约 51.85%、36.63% 和 23.61%（$P<0.05$）；与 ox-LDL+POH 组比较，紫苏醇联合 Diprovocim 后，CD36、LOX-1 和 SR-A1 的 mRNA 表达水平均出现回升，分别上升 57.08%、60.80% 和 41.90%（$P<0.01$；图 7A-C）。

Western blot 结果显示，与 ox-LDL 组比较，POH 使 p65 磷酸化下降约 41.85%（$P<0.001$，图 7D、E），使 CD36、LOX-1 和 SR-A1 蛋白表达分别降低约 57.08%、60.50% 和 42.45%（$P<0.05$）；与 ox-LDL+POH 组比较，紫苏醇联合 Diprovocim 后，p65 蛋白磷酸化水平恢复，CD36、LOX-1 和 SR-A1 的蛋白表达水平均出现回升，分别上升 132.05%、41.90% 和 161.38%（$P<0.01$；图 7F-I）。

综上，POH 可抑制 NF-κB p65 磷酸化，下调 CD36、LOX-1 和 SR-A1 表达，减少 ox-LDL 摄取并减轻 THP-1 巨噬细胞泡沫化；POH 抑制的巨噬细胞泡沫化可被 Diprovocim 拮抗。

3　讨　论

巨噬细胞源性泡沫细胞形成是动脉粥样硬化发生发展的关键环节，其本质是 ox-LDL 摄取增加与胆固醇处理能力失衡导致的细胞内脂质蓄积[4,22]。本研究显示，在不明显影响 THP-1 源性巨噬细胞活性的浓度下，POH 可显著减轻 ox-LDL 诱导的脂质蓄积。进一步结果显示，POH 明显降低 DiI-ox-LDL 摄取，对 HDL 介导的标准化胆固醇外排率无明显影响。该结果提示，POH 改善巨噬细胞泡沫化主要与抑制 ox-LDL 摄取有关。

CD36、LOX-1 和 SR-A1 是介导巨噬细胞摄取 ox-LDL 的重要清道夫受体，泡沫细胞形成与这些摄取相关受体表达升高密切相关，抑制这些受体可减少脂质蓄积[12,23-24]。本研究发现，POH 同步降低 CD36、LOX-1 和 SR-A1 的 mRNA 及蛋白表达；ABCA1、ABCG1 和 SR-B1 表达未见明显变化。该结果与 DiI-ox-LDL 摄取实验一致，进一步支持 POH 通过减少 ox-LDL 摄取而降低细胞内脂质蓄积。

CD36、LOX-1 和 SR-A1 的同时下降提示 POH 可能影响共同的炎症转录调控环节。NF-κB p65 是巨噬细胞炎症激活的重要调控节点，抑制巨噬细胞

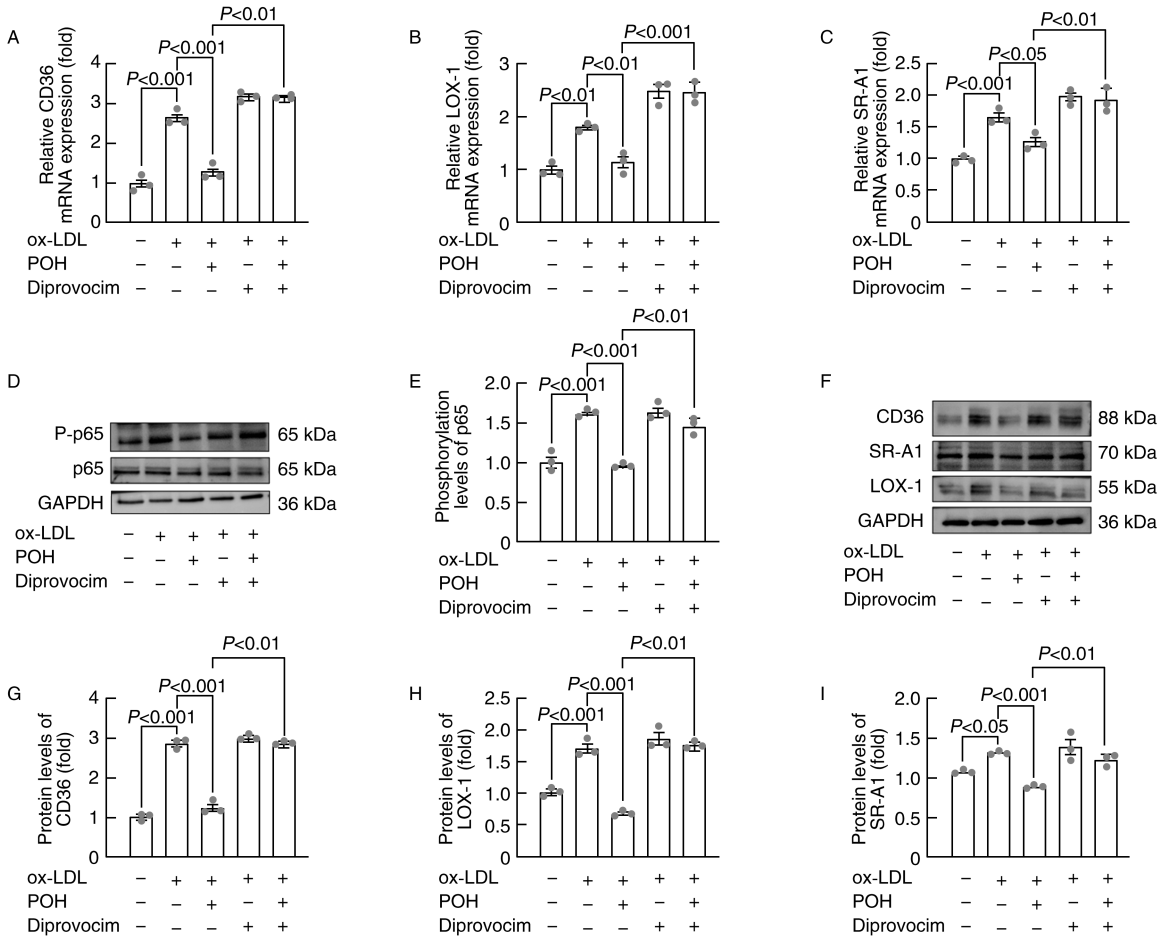


图 7. Diprovocim 恢复 p65 磷酸化及胆固醇摄取相关受体的 mRNA 和蛋白表达

A、B、C 分别为 RT-qPCR 检测 CD36、LOX-1 和 SR-A1 的 mRNA 表达水平(n=3)；D 为磷酸化 p65 与总 p65 的 Western blot 条带；E 为 p65 磷酸化水平的定量分析(n=3)；F 为 CD36、SR-A1 和 LOX-1 的 Western blot 条带；G、H、I 分别为 CD36、LOX-1 和 SR-A1 蛋白表达的定量分析(n=3)。

Figure 7. Diprovocim restores p65 phosphorylation and the mRNA and protein expression of cholesterol uptake-related receptors

NF-κB 活化可减少泡沫细胞形成。LOX-1 启动子区域含有 NF-κB 和激活蛋白 1(activator protein-1, AP-1)结合元件，提示其表达可受炎症转录信号直接调控[25]。另有研究显示，抑制 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)/NF-κB 信号可降低巨噬细胞 CD36 介导的泡沫细胞形成和炎症反应[26-27]。MAPK 家族成员 p38 和 JNK 也参与清道夫受体表达及脂质摄取调节，其中 p38 可通过促进 CD36 表达增强泡沫细胞形成，JNK 介导的 CD36 相关信号同样是 ox-LDL 摄取和泡沫化的重要环节[28-29]。既往研究还显示，ox-LDL 联合炎症刺激可上调 CD36、SR-A1 和 LOX-1 表达，并伴随 NF-κB 及炎症因子表达增强；干预后上述摄取受体和 NF-κB 相关炎症反应同步下降[12]。基于上述关于 NF-κB 与 MAPK 调控作用的证据，本研究进一步检测 p65、p38 和 JNK 磷酸化水平，结果显示 POH 对 p65 磷酸化的抑制最为明确，而 p38 和 JNK 的磷酸化水平无显著变化。该结果支持 NF-κB p65 参与 POH 下调摄取相关受体的过程。

Diprovocim 回补实验进一步支持 NF-κB 信号参与 POH 的作用。Diprovocim 是 TLR1/TLR2 激动剂，可激活下游炎症信号并促进 NF-κB 相关反应[30-31]。本研究显示，Diprovocim 可恢复 p65 磷酸化水平，并伴随 CD36、LOX-1 和 SR-A1 的 mRNA 及蛋白表达升高，同时削弱 POH 对 ox-LDL 摄取和脂质蓄积的抑制作用。该结果提示，POH 调控胆固醇摄取相关受体表达与 p65 磷酸化降低有关。然而，Diprovocim 并非 p65 特异性激动剂，因此本研究尚不能证明 POH 直接靶向 p65。

本研究仍存在一定局限性。首先，本研究采用

THP-1 源性巨噬细胞模型,后续需在原代巨噬细胞和动物动脉粥样硬化模型中验证。其次,本研究主要检测 p65 磷酸化水平,尚未进一步观察 p65 核转位、DNA 结合活性及其对 CD36、LOX-1 和 SR-A1 启动子区域的直接调控。同时,尚未进一步区分 ABCA1、ABCG1 及 SR-B1 介导的不同胆固醇外排途径。

综上,POH 可减轻 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞泡沫化。其作用主要表现为抑制 ox-LDL 摄取,并伴随 CD36、LOX-1 和 SR-A1 表达下调。机制上,POH 降低 NF-κB p65 磷酸化,Diprovocim 可恢复 p65 活化及摄取相关受体表达,并削弱 POH 的抗泡沫化作用。本研究为 POH 调控巨噬细胞胆固醇摄取和泡沫细胞形成提供了实验依据。

[参考文献]

[1] Libby P. The changing landscape of atherosclerosis[J]. Nature, 2021, 592(7855): 524-533.

[2] Ajoolabady A, Pratico D, Lin Ling, et al. Inflammation in atherosclerosis: pathophysiology and mechanisms[J]. Cell Death Dis, 2024, 15(11): 817.

[3] Gui Y Z, Zheng H C, Cao R Y. Foam cells in atherosclerosis: novel insights into its origins, consequences, and molecular mechanisms[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 845942.

[4] Ouyang Z, Zhong J, Shen J Y, et al. The cell origins of foam cell and lipid metabolism regulated by mechanical stress in atherosclerosis[J]. Front Physiol, 2023, 14: 1179828.

[5] Ijaz A, Yarlagadda B, Orecchioni M. Foamy macrophages in atherosclerosis: unraveling the balance between pro-and anti-inflammatory roles in disease progression[J]. Front Cardiovasc Med, 2025, 12: 1589629.

[6] Zhang L N, Li J W, Kou Y S, et al. Mechanisms and treatment of atherosclerosis: focus on macrophages[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1490387.

[7] Moore K J, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. Cell, 2011, 145(3): 341-355.

[8] Beg M A, Luu Q Q, Chen V, et al. Macrophage PIM1 drives atherosclerosis by enhancing foam cell formation via CD36[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2026, 46(9): e324938.

[9] Chistiakov D A, Bobryshev Y V, Orekhov A N. Macrophage-mediated cholesterol handling in atherosclerosis[J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(1): 17-28.

[10] Crucet M, Wüst S J A, Spielmann P, et al. Hypoxia enhances lipid uptake in macrophages: role of the scavenger receptors LOX1, SRA, and CD36[J]. Atherosclerosis, 2013, 229(1): 110-117.

[11] Choi H Y, Ruel I, Choi S, et al. New strategies to promote macrophage cholesterol efflux[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 795868.

[12] Moon H R, Yun J M. p-Coumaric acid modulates cholesterol efflux and lipid accumulation and inflammation in foam cells[J]. Nutr Res Pract, 2024, 18(6): 774-792.

[13] Liu Y, Tang X H, Yuan H L, et al. Naringin inhibits macrophage foam cell formation by regulating lipid homeostasis and metabolic phenotype[J]. Nutrients, 2024, 16(9): 1321.

[14] Zhang L L, Wang G G, Li Z H, et al. Molecular pharmacology and therapeutic advances of monoterpene perillyl alcohol[J]. Phytomedicine, 2024, 132: 155826.

[15] Figueiredo R D A, Ortega A C, González Maldonado L A, et al. Perillyl alcohol has antibacterial effects and reduces ROS production in macrophages[J]. J Appl Oral Sci, 2020, 28: e20190519.

[16] Puppala E R, Jain S, Saha P, et al. Perillyl alcohol attenuates rheumatoid arthritis via regulating TLR4/NF-κB and Keap1/Nrf2 signaling pathways: a comprehensive study on *in-vitro* and *in-vivo* experimental models[J]. Phytomedicine, 2022, 97: 153926.

[17] Lin S, Wang M, Pan J, et al. Perillyl alcohol alleviates liver fibrosis by promoting hepatic stellate cell ferroptosis and inhibiting macrophage recruitment[J]. Chem Biol Interact, 2026, 435: 112164.

[18] 石萌萌, 黄 锐, 黄子乐, 等. 茶黄素对 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞泡沫化和氧化应激的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(9): 747-755.
Shi M M, Huang R, Huang Z L, et al. Effects of theaflavin on ox-LDL-induced foam cell formation and oxidative stress in THP-1 derived macrophages[J]. Chin J Arterioscler, 2024, 32(9): 747-755.

[19] Ma C R, Hua Y Q, Yang S, et al. Wogonin attenuates atherosclerosis via KLF11-mediated suppression of PPARalpha-YAP1-driven glycolysis and enhancement of ABCA1/G1-mediated cholesterol efflux[J]. Adv Sci (Weinh), 2025, 12(23): e2500610.

[20] Bustin S A, Ruijter J M, Van Den Hoff M J B, et al. MIQE 2.0: revision of the minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments guidelines[J]. Clin Chem, 2025, 71(6): 634-651.

[21] 朱容蓉, 陈梦娇, 赵真旺, 等. 葛花提取物通过激活 PPARγ 上调 ABCA1 的表达而抑制 THP-1 源性泡沫细胞形成[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(5): 395-401.
Zhu R R, Chen M J, Zhao Z W, et al. Pueraria lobata flowers extract inhibits THP-1-derived foam cell formation by acti-vating PPARγ to upregulate the expression of ABCA1[J]. Chin J Arterioscler, 2024, 32(5): 395-401.

(下转第 1025 页)

(11): e13985.
[33] Chernomordik F, Cercek B, Lio W M, et al. The role of T cells reactive to the cathelicidin antimicrobial peptide LL-37 in acute coronary syndrome and plaque calcification [J]. Front Immunol, 2020, 11: 575577.
[34] Zhang S, Lv Y, Luo X, et al. Homocysteine promotes atherosclerosis through macrophage pyroptosis via endoplasmic reticulum stress and calcium disorder[J]. Mol Med, 2023, 29(1): 73.
[35] Suzuki K, Ohkuma M, Nagaoka I. Human cathelicidin peptide LL-37 induces endothelial-to-mesenchymal transition [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2025, 89(10): 1464-1473.
[36] Suzuki K, Ohkuma M, Someya A, et al. Human Cathelicidin Peptide LL-37 Induces Cell Death in Autophagy-Dysfunctional Endothelial Cells[J]. J Immunol, 2022, 208(9):2163-2172.
[37] Ridyard K E, Overhage J. The potential of human peptide LL-37 as an antimicrobial and anti-biofilm agent[J]. Antibiotics (Basel), 2021, 10(6): 650.
[38] Yuan Y, Li J, Wei G, et al. Exploring the antimicrobial potential of LL-37 derivatives: recent developments and challenges[J]. ACS Biomater Sci Eng, 2025, 11(6): 3145-3164.
[39] Kang B M, Seo E, Ahn J M, et al. Niclosamide alleviated skin inflammation and restored the balance between effector and regulatory T cells in skin[J]. Biomol Ther (Seoul), 2025, 33(4): 735-745.
[40] Egea V, Megens R T A, Santovito D, et al. Properties and fate of human mesenchymal stem cells upon miRNA let-7f-promoted recruitment to atherosclerotic plaques[J]. Cardiovasc Res, 2023, 119(1): 155-166.
[41] Lyu Y, Wang T, Huang S, et al. Mitochondrial damage-associated molecular patterns and metabolism in the regulation of innate immunity[J]. J Innate Immun, 2023, 15(1): 665-679.
[42] Zhang Z, Meng P, Han Y, et al. Mitochondrial DNA-LL-37 complex promotes atherosclerosis by escaping from autophagic recognition[J]. Immunity, 2015, 43(6): 1137-1147.
[43] Saber M M, Monir N, Awad A S, et al. TLR9: A friend or a foe[J]. Life Sci, 2022,307:120874.
[44] Zielke C, Nielsen J E, Lin J S, et al. Between good and evil: complexation of the human cathelicidin LL-37 with nucleic acids[J]. Biophys J, 2024, 123(11): 1316-1328.
[45] Ajoolabady A, Pratico D, Lin L, et al. Inflammation in atherosclerosis: pathophysiology and mechanisms [J]. Cell Death Dis, 2024,15(11):817.
(此文编辑 王颖)

(上接第 951 页)
[22] Jiao X Y, Guo D C, Li W L, et al. Foam cells: tracing the diverse cellular origins and their linked signaling pathways[J]. J Transl Med, 2025, 23(1): 1382.
[23] 吴春林, 胡亚男, 刘毅强, 等. 大黄酚调节 NF-κB/HMGB1-PI3K/Akt/mTOR 轴抑制 ox-LDL 诱导的巨噬细胞泡沫化机制研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(23): 6439-6449.
Wu C L, Hu Y N, Liu Y Q, et al. Mechanism of chrysophanol in inhibiting ox-LDL-induced macrophage foaminess through NF-κB/HMGB1-PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. China J Chin Mater Med, 2024, 49(23): 6439-6449.
[24] Wang Z, Zhou L, Zhang X, et al. Narcissoside attenuates atherosclerosis by suppressing CD36-mediated foam cell formation via upregulation of NR4A1 [J]. Chin Med, 2026, 21(1): 136.
[25] Stein S, Lohmann C, Schäfer N, et al. SIRT1 decreases LOX-1-mediated foam cell formation in atherogenesis[J]. Eur Heart J, 2010, 31(18): 2301-2309.
[26] Li Z Y, Zou X Y, Lu R Z, et al. Arsenic trioxide alleviates atherosclerosis by inhibiting CD36-induced endocytosis and TLR4/NF-κB-induced inflammation in macrophage and ApoE$^{-/-}$ mice[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 128: 111452.
[27] Yang Y, Shen S, Guan Y, et al. Isolinderalactone attenuates atherosclerosis through inhibiting NF-κB-mediated inflammation in macrophages [J]. Int Immunopharmacol, 2026, 168(Pt 2): 115848.
[28] Liu Q Y, Fan J, Bai J, et al. IL-34 promotes foam cell formation by enhancing CD36 expression through p38 MAPK pathway[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 17347.
[29] Rahaman S O, Lennon D J, Febbraio M, et al. A CD36-dependent signaling cascade is necessary for macrophage foam cell formation[J]. Cell Metab, 2006, 4(3): 211-221.
[30] Morin M D, Wang Y, Jones B T, et al. Diprovocims: a new and exceptionally potent class of toll-like receptor agonists[J]. J Am Chem Soc, 2018, 140(43): 14440-14454.
[31] Su L J, Wang Y, Wang J M, et al. Structural basis of TLR2/TLR1 activation by the synthetic agonist diprovocim [J]. J Med Chem, 2019, 62(6): 2938-2949.
(此文编辑 许雪梅)