

# 姜黄素协同阿托伐他汀稳定易损斑块的作用与机制

包小敏<sup>1</sup>, 魏刚<sup>1</sup>, 王忠庆<sup>2</sup>, 黄维义<sup>1\*</sup><sup>1</sup>西南医科大学附属医院, 泸州 646000; <sup>2</sup>内江市第二人民医院, 内江 641000

**摘要:**探讨姜黄素诱导血红素氧合酶-1(hemeoxygenase 1, HO-1)过度表达协同阿托伐他汀稳定易损斑块的作用与机制。雄性SD大鼠40只,适应性饲养1周,随机分为对照组(A组)、模型组(B组)、他汀组(C组)、他汀+姜黄素组(D组)、他汀+姜黄素+锌原卟啉 IX(ZnppIX)组(E组)。A组予以普通饲料喂养,B、C、D、E组予以高脂饲料喂养+液氮冻伤右颈总动脉+腹腔注射维生素D<sub>3</sub>+免疫损伤的方法复制动脉粥样硬化易损斑块模型。10周后,C、D、E组分别给阿托伐他汀、阿托伐他汀+姜黄素、阿托伐他汀+姜黄素+ZnppIX干预1周。同期处死大鼠,取血测定HO-1蛋白表达量及血脂、炎症与氧化应激指标的变化,并取右侧颈总动脉行组织病理学检查。与A组比较,B组的血脂水平、各项炎症及氧化应激指标均明显升高( $P < 0.05$ ),颈动脉形成较典型的易损斑块;与B组比较,C组血脂明显降低,而HO-1蛋白表达有所增加,各项炎症及氧化应激指标降低,颈动脉斑块减小且更稳定;D、E两组HO-1蛋白表达均显著高于C组,但在抗炎、抗氧化及稳定斑块效果上仅D组显著优于C组( $P < 0.01$ ),E组则明显不如C组而与B组相近。阿托伐他汀主要通过调脂作用抑制动脉粥样硬化病变;姜黄素能够显著诱导HO-1表达并能协同阿托伐他汀明显增强抗炎、抗氧化和稳定易损斑块的能力。

**关键词:**姜黄素;阿托伐他汀;血红素氧合酶1;动脉粥样硬化;大鼠

中图分类号:R543.4

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.2.003

## Curcumin Together with Atorvastatin on Stabilizing Vulnerable Plaque and the Underlying Mechanisms

BAO Xiao-min<sup>1</sup>, WEI Gang<sup>1</sup>, WANG Zhong-qing<sup>2</sup>, HUANG Wei-yi<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Dept of Cardiology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou Sichuan 646000, China;<sup>2</sup>Dept of Cardiology, the Second People's Hospital of Neijiang, Neijiang Sichuan 641000, China

**Abstract:** To investigate the effects of hemeoxygenase 1 (HO-1) overexpression induced by curcumin together with atorvastatin on stabilizing vulnerable plaque and the underlying mechanisms. 40 male SD rats were adaptively raised for 1 week before randomly divided into 5 groups, including the control group (Group A), the model group (Group B), the statin group (Group C), the statin + curcumin group (Group D) and the statin + curcumin + ZnPP IX group (Group E). Group A was fed with normal diet. The other groups were make the vulnerable atherosclerosis plaque model by feeding with high fat diet, frostbiting the right common carotid artery with liquid nitrogen, injecting of vitamin D<sub>3</sub> and damaging the immune. After 10 weeks, group C, group D and group E were administrated daily with atorvastatin, atorvastatin + curcumin, atorvastatin + curcumin + ZnPP IX epectively for one week. The blood samples were collected to detect the HO-1 protein expression and the blood lipid levels as well as the inflammatory and oxidative stress index, the right common carotid artery was harvested to undergo HE staining. Compared with group A, the blood lipid levels, inflammatory and oxidative stress indexes in group B increased significantly ( $P < 0.05$ ), meanwhile, HE staining showed a marked vulnerable plaque in the carotid artery in group B. Compared with group B, the blood lipid levels significantly decreased while the HO-1 protein expression increased in group C, accordingly, the indexes of inflammation and oxidative stress decreased, Carotid plaque became smaller and more stable. The expression of HO-1 protein in group D and group E was significantly higher than that of the group C, however, only D group were significantly superior to group C in the anti-inflammatory, antioxidant and Stabilizing plaque effects ( $P < 0.01$ ). Atorvastatin inhibits atherosclerosis disease mainly by

regulating blood lipid levels. Curcumin could significantly induce HO-1 protein expression, which cooperate with atorvastatin to enhance the ability of anti-inflammation, anti-oxidation and stabilize vulnerable plaques.

收稿日期:2017-10-17 接受日期:2018-01-08

基金项目:泸州市科技局基金项目(2013LZLY-J15)

\*通信作者 Tel:86-013882739160; E-mail: hwy6881@126.com

**Key words:** Curcumin; atorvastatin; hemoxygenase 1; atherosclerosis; rats

当前,动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)作为现代社会的一个流行病,业已成为人类首位致死病因。已知炎症、氧化应激损伤及脂代谢异常共同促成了AS病变,其中炎症是贯穿于AS始终并促发斑块不稳定的中心环节<sup>[1,2]</sup>,不稳定斑块也称易损斑块,其破裂所促发的急性血栓栓塞是导致急性心、脑血管事件的主要元凶<sup>[3]</sup>,可见,稳定斑块比消退斑块更有临床意义。他汀因具有良好的调脂、抗炎、抗氧化和保护血管内皮等多效性而被确立为AS防治的基石。但就稳定AS斑块而言,他汀调脂作用固然重要,其抗炎、抗氧化及保护血管内皮等调脂外作用可能更加重要,并可在调脂效果显现前的短期内迅速起效<sup>[4]</sup>。已有研究证明,抑制炎症具有调脂外的独自降低AS相关不良事件的作用<sup>[5]</sup>。近年发现,他汀的调脂外作用至少部分是通过诱导HO-1这一内源性保护酶的表达介导的<sup>[6]</sup>。然而他汀诱导HO-1表达存在着明显的量效关系,有效诱导HO-1过表达所需的他汀剂量可能远超患者所能耐受的临床常用量<sup>[7]</sup>,或许正因为如此,临床常规应用他汀仅能预防30%~40%的心血管事件,而“强化他汀治疗”无疑比常规用量的他汀治疗能更快、更好的稳定斑块、减少急性心、脑血管事件<sup>[8]</sup>。但我国临床实际情况是许多患者对“强化他汀治疗”并不耐受,正如HPS-2-THRIVE研究显示,使用同样剂量的他汀药物治疗,中国患者发生肌肉毒性的风险为欧洲患者的近10倍<sup>[9]</sup>。如何弥补他汀用量受限所致HO-1诱导表达不足而在AS不良事件防治中存在的缺陷值得探讨。已有研究揭示,姜黄素是HO-1的天然诱导剂,能在基因水平诱导HO-1转录与表达<sup>[10]</sup>,但能否用姜黄素诱导HO-1过表达联合常规用量的阿托伐他汀协同增强对易损斑块的稳定作用尚无研究报道,本实验拟对此进行探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 动物

雄性SD大鼠40只,体质量(180±10)g,所有动物由西南医科大学医学动物中心提供,饲养环境设定:室温(23±2)℃,相对湿度(56±6)%。

#### 1.1.2 高脂饲料配方

胆固醇3%、胆酸钠0.5%、丙硫氧嘧啶0.2%

、猪油10%、白糖5%及基础饲料81.3%,经无菌处理自制成颗粒饲料。胆固醇、胆酸钠及丙基硫氧嘧啶购自上海蓝季科技发展有限公司,基础饲料由西南医科大学医学动物中心提供。

#### 1.1.3 试剂

维生素D3注射液购自上海通用药业股份有限公司;卵清白蛋白、牛血清蛋白购自北京索莱宝科技有限公司;姜黄素购自大连美仑生物科技有限公司;阿托伐他汀钙片购自辉瑞制药有限公司;锌原卟啉IX(ZnPPiX)购自美国Sigma公司;氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)、超敏C反应蛋白(high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)、单核细胞超化蛋白-1(monocyte hyperproliferative protein 1, MCP-1)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、白介素-6(interleukin 6, IL-6)、白介素-10(interleukin 10, IL-10) Elisa试剂盒购自英国Abcam公司,HO-1抗体试剂盒购自美国Novus公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 分组与模型制备

健康雄性SD大鼠40只,适应性饲养1周,随机分为对照组(A组)、模型组(B组)、他汀组(C组)、他汀+姜黄素组(D组)、他汀+姜黄素+ZnppIX组(E组)。A组予以基础饲料饲养11周,B、C、D、E予以高脂饲料喂养2周并一次性腹腔注射维生素D3注射液60万U/Kg后,腹腔注射戊巴比妥钠50mg/Kg麻醉,无菌操作沿颈前正中中线切开皮肤,暴露右颈总动脉,阻断血流后实施右颈总动脉液氮冷冻术造成内皮损伤,缝合伤口,术后继续高脂饲料饲养8周,并于第3周开始,每周皮下注射牛血清蛋白40mg/Kg,共两周(3次/周),卵清白蛋白腹腔注射2.5mg/Kg,共五次,3天/次,第5、7周再次腹腔注射维生素D3注射液30万U/Kg。10周后,C组予以阿托伐他汀钙2mg/Kg+等量生理盐水灌胃+等量生理盐水腹腔注射,D组予以阿托伐他汀钙2mg/Kg+姜黄素100mg/Kg灌胃+等量生理盐水腹腔注射,E组予以阿托伐他汀钙2mg/Kg+姜黄素100mg/Kg灌胃+ZnPPiX 5mg/Kg腹腔注射,每天晚上20点给药,连续干预1周。24h后,麻醉处死所有大鼠,并腹腔取血检测HO-1蛋白表达量及各项生化指标:血脂指标甘油三酯(triglycerides, TG)、低密度

脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高低密度脂蛋白胆固醇 (Highdensitylipoprotein cholesterol, HDL -C), 炎症指标 hs-CRP、IL-6、MCP-1、MMP-9, 氧化应激指标 MDA、ox-LDL, 同时取右侧颈总动脉以生理盐水轻轻冲洗干净后, 10% 中性福尔马林溶液固定, 石蜡包埋, 取血管横截面 HE 染色, 观察斑块大小及特征等。

### 1.3 实验指标的检测

#### 1.3.1 HO-1 蛋白的表达检测

大鼠取血后立即加入 3 倍体积红细胞裂解液, 反复上下摇匀裂解 5~7 min, 超速离心, 吸取上层血浆待测指标, 再小心吸取白细胞层, 再次加入红细胞裂解液, 重复上述步骤, 直至红细胞全部裂解, 加入 PBS 缓冲液洗涤, 重悬, 离心, 提取出白细胞沉淀, 按照 Weston Blot 检测蛋白表达试剂盒说明书行蛋白表达的测定, 以 GAPDH 为内参, 采用 Quantity 图像分析软件分析其相对表达量, 以灰度比值表示。

#### 1.3.2 血浆 TG、TC、LDL-C、HDL-L、ox-LDL 测定

分离血浆, 由西南医科大学附属医院检验科采用 TBA-40FR 全自动生化分析仪进行检测。

#### 1.3.3 血浆 IL-6、IL-10、hs-CRP、MCP-1、MMP-9、MDA 浓度检测

分离血浆, 采用 ELISA 法按试剂盒说明书进行检测。

#### 1.3.4 右颈总动脉病理学检查

取右侧颈总动脉中段, 经中性甲醛固定、脱水、透明、包埋、切片、HE 染色, 光镜下观察。

### 1.4 统计学方法

实验结果中所有计量资料均采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 组间比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 选定  $P < 0.05$  为差异, 有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠血脂检测结果

与对照组比较, 模型组、他汀组、他汀 + 姜黄素组、他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组血浆 TG、LDL-C 水平均升高, HDL-C 水平则均降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 他汀组、他汀 + 姜黄素组、他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组 TG、LDL-C 水平均下降 ( $P < 0.05$ ), 他汀组、他汀 + 姜黄素组 HDL-C 水平均升高 ( $P < 0.05$ ), 但他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组与模型组比较 HDL-C 水平无明显变化 ( $P > 0.05$ ); 他汀组与他汀 + 姜黄素组比较 TG、LDL-C 水平均下降, HDL-C 水平无明显变化 ( $P > 0.05$ ); 他汀 + 姜黄素组与他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组比较, 他汀 + 姜黄素组 TG、LDL-C 水平均下降, HDL-C 水平升高, 而他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组与模型组水平相当。详见表 1。

表 1 各组大鼠血清 TG、LDL-C、HDL-C 的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 Comparison of serum TG, LDL-C and HDL-C in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别 Group	TG (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
对照组 Control	6.21 $\pm$ 0.77	2.06 $\pm$ 0.19	2.25 $\pm$ 0.20
模型组 Model	21.46 $\pm$ 0.99 <sup>a</sup>	5.32 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	1.06 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
他汀组 Statin	13.69 $\pm$ 1.22 <sup>ab</sup>	3.63 $\pm$ 0.35 <sup>ab</sup>	1.53 $\pm$ 0.10 <sup>ab</sup>
他汀 + 姜黄素组 Statin + curcumin	9.49 $\pm$ 0.645 <sup>abc</sup>	2.83 $\pm$ 0.30 <sup>abc</sup>	1.70 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>
他汀 + 姜黄素组 + ZnPPiX Statin + curcumin + ZnPPiX	18.37 $\pm$ 1.02 <sup>abd</sup>	4.40 $\pm$ 0.25 <sup>abd</sup>	1.15 $\pm$ 0.06 <sup>ad</sup>

注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与他汀组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与他汀 + 姜黄素比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ 。

Note: Compare with control, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; compare with model, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; compare with statin, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; compare with statin + curcumin, <sup>d</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.2 各组血浆炎症与氧化应激指标变化

与对照组相比, 模型组、他汀组、他汀 + 姜黄素组、他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组血浆中反映炎症与氧化应激的指标 hs-CRP、IL-6、MCP-1、MMP-9、MDA、ox-LDL 均升高; 与模型组比较, 他汀组、他汀 + 姜黄素组的上述炎症与氧化应激指标都有明显降低, 但他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组的上述指标较模型组却无明显降低甚至升高 ( $P > 0.05$ ); 他汀组与他汀

+ 姜黄素组比较, 他汀 + 姜黄素组上述炎症与氧化应激指标则显著降低 ( $P < 0.01$ )。详见表 2。

### 2.3 各组 HO-1 蛋白表达的检测结果

与对照组相比, 模型组、他汀组、他汀 + 姜黄素组、他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组大鼠的 HO-1 表达均增高; 与模型组相比, 他汀组 HO-1 表达增高 ( $P < 0.05$ ), 他汀 + 姜黄素组、他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组 HO-1 表达显著增高 ( $P < 0.01$ ); 与他汀组比较,

表 2 各组大鼠炎症与氧化应激指标的检测结果 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )Table 2 Results of inflammation and oxidative stress index in each groups ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别 Group	hsCRP ( $\mu\text{g/L}$ )	IL-6 ( $\text{pg/mL}$ )	MCP-1 ( $\text{pg/mL}$ )	MMP-9 ( $\text{pg/mL}$ )	MDA ( $\text{nmol/mL}$ )	ox-LDL ( $\mu\text{g/L}$ )
对照组 Control	1.97 $\pm$ 0.08	64.76 $\pm$ 22.99	280.77 $\pm$ 13.66	979.31 $\pm$ 23.05	9.11 $\pm$ 0.35	0.76 $\pm$ 0.41
模型组 Model	4.45 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	192.13 $\pm$ 15.27 <sup>a</sup>	420.65 $\pm$ 17.93 <sup>a</sup>	1757.83 $\pm$ 50.77 <sup>a</sup>	21.34 $\pm$ 0.84 <sup>a</sup>	4.59 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>
他汀组 Statin	3.50 $\pm$ 0.14 <sup>ab</sup>	117.35 $\pm$ 9.82 <sup>ab</sup>	362.24 $\pm$ 15.77 <sup>ab</sup>	1385.32 $\pm$ 73.35 <sup>ab</sup>	14.30 $\pm$ 0.48 <sup>ab</sup>	2.71 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>
他汀 + 姜黄素组 Statin + curcumin	2.75 $\pm$ 0.12 <sup>abc</sup>	89.26 $\pm$ 10.26 <sup>abc</sup>	310.92 $\pm$ 11.16 <sup>abc</sup>	1094.02 $\pm$ 54.10 <sup>abc</sup>	10.90 $\pm$ 0.24 <sup>abc</sup>	1.64 $\pm$ 0.37 <sup>abc</sup>
他汀 + 姜黄素 + ZnPPiX Statin + curcumin + ZnPPiX	4.33 $\pm$ 0.28 <sup>ad</sup>	174.83 $\pm$ 18.31 <sup>ad</sup>	398.64 $\pm$ 14.76 <sup>ad</sup>	1783.94 $\pm$ 68.64 <sup>ad</sup>	22.08 $\pm$ 0.98 <sup>ad</sup>	4.64 $\pm$ 0.18 <sup>ad</sup>

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ,<sup>d</sup> $P > 0.05$ ,他汀组比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; compare with model, <sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; compare with statin, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; compare with statin, <sup>d</sup> $P < 0.05$ .

他汀 + 姜黄素组、他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组 HO-1 表达显著增高,他汀 + 姜黄素组、他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组无显著差别( $P > 0.05$ )。详见图 1。

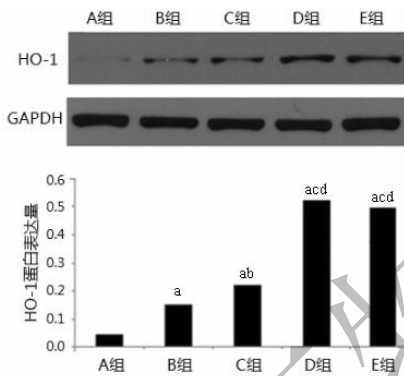


图 1 各组 HO-1 蛋白表达的 Western Blot 检测结果

Fig. 1 Western Blot detection results of HO-1 protein expression in each group

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ,<sup>c</sup> $P < 0.01$ ;与他汀组比较,<sup>d</sup> $P < 0.01$ 。A 对照组,B 模型组,C 他汀组,D 他汀 + 姜黄素组,E 他汀 + 姜黄素组 + ZnppIX 组。

Note: Compare with control, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; compare with model, <sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; compare with statin, <sup>d</sup> $P < 0.01$ 。A Control group, B Model group, C Statin group, D Statin + curcumin group, E Statin + curcumin + ZnPPiX group.

## 2.4 各组颈总动脉组织形态学改变

对照组大鼠颈总动脉壁内膜光滑,内皮完整,中膜弹力纤维呈环形排列,内皮下、肌层及外膜均未见病变,内膜、中膜、外膜三层结构排列正常;模型组大鼠主动脉壁内膜增厚明显、局部可见隆起,或伴损伤,结构紊乱,内皮下大量脂质沉积,脂核大,斑块内胶原含量减少,纤维帽较薄,不完整,可见泡沫细胞

和结晶体形成,并有淋巴细胞或巨噬细胞浸润;与模型组比较,他汀组可见内膜局限性隆起,内膜增厚但未达管壁全周,内膜下泡沫细胞减少,脂核变小,中膜平滑肌纤维排列稍紊乱,纤维帽较完整,炎症浸润细胞减少;他汀 + 姜黄素组较他汀组血管斑块病变改善更加明显,见散在泡沫细胞,浸润炎细胞进一步减少,内膜、中膜、外膜结构排列较整齐,纤维帽完整;而他汀 + 姜黄素 + ZnppIX 组与模型组比较,未见明显改善,斑块面积大,内膜增厚,内皮连续性破坏,结果紊乱,仍可见大量泡沫细胞、炎细胞浸润。详见图 2。

## 3 讨论

对 AS 的实验研究需要一个理想的动物模型,而兔和鼠则是最常用的模型动物。兔属草食性动物,虽对高脂饮食敏感而易于复制 AS 模型,但其病变特征与人体 AS 斑块差异较大。鼠为杂食性动物,可以复制出与人体病变更相似的 AS 模型,但鼠先天具有较强的抗 AS 能力。为获得本研究所需的易损斑块模型,我们对文献报道的多种造模方法<sup>[11,12]</sup>进行了综合与改良:即大鼠在常规高脂饲料喂养基础上加用液氮冷冻术损伤血管内皮再加异种蛋白皮下注射激发免疫与炎症反应等,历经 10 周后检测模型组大鼠目标颈总动脉,组织病理学检查可见内膜增厚,结构稍紊乱,内皮下大量脂质沉积,脂核大,斑块内胶原含量较少而有大量淋巴细胞或巨噬细胞浸润,纤维帽较薄且不完整;同时,血生化指标显示 hs-CRP、IL-6、MCP-1、MDA、ox-LDL 等多种炎症和氧化应激指标均明显升高,尤其是与易损斑

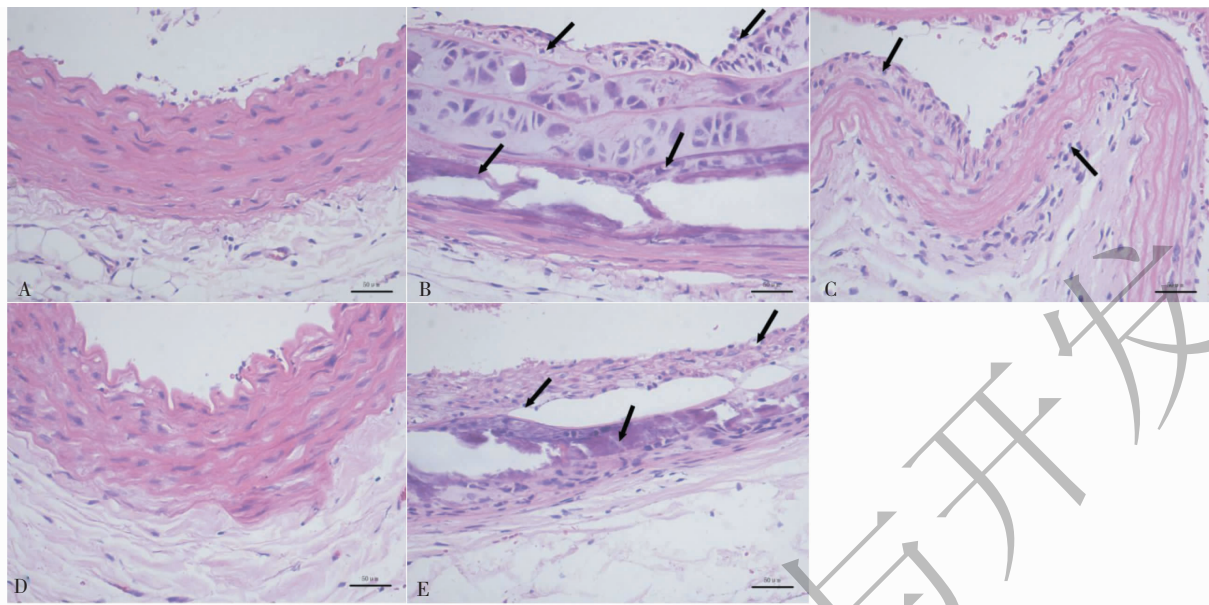


图2 各组右颈总动脉组织形态学改变(HE染色,  $\times 200$ )

Fig. 2 The morphological changes of right common carotid artery in each group (HE staining,  $\times 200$ )

注:A 对照组,B 模型组,C 他汀组,D 他汀+姜黄素组,E 他汀+姜黄素+ZnppIX组。

Note: A Control group, B Model group, C Statin group, D Statin + curcumin group, E Statin + curcumin + ZnPPiX group.

块密切相关的 MMP-9 显著升高,上述变化充分表明我们采用的复合方法成功造出了大鼠动脉粥样硬化易损斑块模型,为本研究的干预实验奠定了可靠的基础。

本研究设置了阿托伐他汀组、阿托伐他汀+姜黄素组、阿托伐他汀+姜黄素+ZnppIX组共3个干预组以探讨阿托伐他汀联合姜黄素协同稳定易损斑块的作用及机制。结果与模型组相比,阿托伐他汀组血脂异常改善,可见 LDL-C 明显降低,HO-1 蛋白表达增加,同时 hs-CRP、IL-6、MCP-1、MDA、ox-LDL 等炎症与氧化应激指标以及与斑块易损性密切相关的 MMP-9 均明显降低,对应的右颈动脉病理检查显示 AS 程度减轻,脂核变小,斑块内炎症浸润细胞减少,纤维帽相对完整,表明阿托伐他汀独自通过调脂及有效的抗炎与抗氧化等作用在一定程度上促进了易损斑块的稳定。相比较而言,阿托伐他汀+姜黄素组在改善血脂异常及增加 HO-1 蛋白表达量方面较单用阿托伐他汀组更为显著,显示姜黄素兼具有益的弱调脂作用和强效诱导 HO-1 表达作用,该组的炎症与氧化应激指标下降更加明显,对应的 AS 病变程度则更轻且更稳定,包括脂核更小,斑块内炎症浸润细胞更少以及纤维帽更厚也更完整,表明姜黄素可以协同阿托伐他汀显著增强对易损斑块的稳定作用。而阿托伐他汀+姜黄素+ZnppIX 组诱导

HO-1 蛋白表达量与阿托伐他汀钙+姜黄素组无明显差异,但并未取得与后者相似的效果,表明同时加用的 ZnppIX 能有效消除阿托伐他汀+姜黄素的抗炎症、抗氧化应激损伤及稳定易损斑块等保护作用。由于 ZnppIX 与血红素中铁卟啉环具有相似结构,HO-1 与 ZnppIX 结合,竞争性抑制 HO-1 活性<sup>[13,14]</sup>。近年研究揭示,HO-1 是存在于细胞内的一种可诱导型抗氧化酶,正常表达水平较低,各种致细胞损伤和应激的理化因素则可诱导其迅速表达,HO-1 蛋白的主要作用是催化细胞内游离血红素降解成胆红素与一氧化碳(CO)等产物,其中胆红素是近年才认识到的最强的细胞内源性抗氧化剂之一,能清除多种形式的自由基而在拮抗细胞氧化应激损伤中发挥重要作用;CO 则是与 NO 类似的重要细胞内气体信号分子,广泛参与调节免疫、抑制炎症、调控细胞增殖与凋亡以及扩血管等多种作用,HO-1/胆红素/CO 共同组成了组织细胞应对炎症和氧化应激损伤所不可或缺的内源性保护系统<sup>[15,16]</sup>,合理上调 HO-1 表达业已成为包括 AS 在内的许多疾病的有效防止靶点<sup>[16]</sup>。姜黄素是从姜黄属类植物中提取的是一种多酚化合物,可能通过活化 Nrf2/ARE 核因子相关因子 2/抗氧化剂反应元件(Nrf2/ARE)这一特殊的细胞内细胞信号转导途径而在基因转录水平安全、高效的诱导 HO-1 表达<sup>[10]</sup>,本研究结果提示,合用姜

黄素诱导 HO-1 过表达可协同阿托伐他汀有效发挥抗炎、抗氧化进而稳定易损斑块的作用,这对临床上由于药物毒副作用而致他汀用量受限者可能是一个有益的借鉴。事实上,类似的研究发现,普罗布考也是通过诱导 HO-1 表达协同他汀增强易损斑块破裂的防止效果<sup>[17]</sup>。

#### 参考文献

- Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Douidi M, *et al.* Atherosclerosis: Process, indicators, risk factors and new hopes [J]. *Int J Prev Med*, 2014, 5: 927-946.
- Salisbury D, Bronas U. Inflammation and immune system contribution to the etiology of atherosclerosis: mechanisms and methods of assessment [J]. *Nurs Res*, 2014, 63: 375-385.
- Yang HJ, Kim GW, Kim H, *et al.* Epidemiology and outcomes in-out-of-hospital cardiac arrest: a report from the NEDIS-based cardiac arrest registry in Korea [J]. *J Korean Med Sci*, 2015, 30: 95-103.
- Barone E, DiDomenico F, Butterfield DA. Statins more than cholesterol lowering agents in Alzheimer disease: their pleiotropic functions as potential therapeutic targets [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 88: 605-616.
- Ridker PM, Everett BM, Thuren T, *et al.* Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377: 1119-1131.
- Piechota-Polanczyk A, Jozkowicz A. The role of statins in the activation of heme oxygenase-1 in cardiovascular diseases [J]. *Curr Drug Targets*, 2017, 18: 674-686.
- Loboda A, Jazwa A, Jozkowicz A, *et al.* Atorvastatin prevents hypoxia-induced inhibition of endothelial nitric oxide synthase expression but does not affect heme oxygenase-1 in human microvascular endothelial cells [J]. *Atherosclerosis*, 2006, 187: 26-30.
- Akdim F, van Leuven SI, Kastelein JJ, *et al.* Pleiotropic effects of statins: stabilization of the vulnerable atherosclerotic plaque [J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13: 1003-1012.
- HPS2-THRIVE Collaborative Group. HPS2-THRIVE randomized placebo-controlled trial in 25 673 high-risk patients of ER niacin/laropiprant: trial design, pre-specified muscle and liver outcomes, and reasons for stopping study treatment [J]. *Eur Heart J*, 2013, 34: 1279-1291.
- Balogun E, Hoque M, Gong P, *et al.* Curcumin activates the haem oxygenase-1 gene via regulation of Nrf2 and the antioxidant-responsive element [J]. *Biochem J*, 2003, 371: 887-895.
- Zhang AB (张安邦), Huang X (黄昕), Li LG (李令根), *et al.* Multi-factor methods to establish atherosclerosis model in SD rats [J]. *Chin J Surgery Integrated Tradit Western Med* (中国中西医结合外科杂志), 2015, 21: 282-285.
- Wang SS (王双双), Wang LL (王丽丽), Yang SH (杨升华), *et al.* Establishment of a model of vulnerable arterial macrophage sclerosis by modified liquid nitrogen freezing method [J]. *Chin J Gerontology* (中国老年学杂志), 2014, 34: 6082-6085.
- Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications [J]. *Physiol Rev*, 2006, 86: 583-650.
- Duan BJ (段丙军), Huang L (黄乐), Ding H (丁红), *et al.* Curcumin preconjugated heme oxygenase 1 expression in prevention and treatment of contrast agent nephropathy [J]. *Chin J Cardiology* (中华心血管杂志), 2013, 41: 116-120.
- Motterlini R. Heme oxygenase-1 as a target for drug discovery. *Antioxidants & redox signaling*, 2014, 20: 1810-1826.
- Haines DD, Lekli I, Teissier P, *et al.* Role of haeme oxygenase-1 in resolution of oxidative stress-related pathologies: focus on cardiovascular, lung, neurological and kidney disorders [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2012, 204: 487-501.
- Stocker R. Molecular mechanisms underlying the antiatherosclerotic and antidiabetic effects of probucol, succinobucol, and other probucol analogues [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2009, 20: 227-235.