

基于脂质代谢组学探讨麝香通心滴丸对动脉粥样硬化小鼠的影响

杜婉英^{1,2}, 翟晨光^{1,2}, 孙雪静^{1,3}, 任俊^{1,3}, 陈晓阳^{1,2}, 张慧杰^{1,3}, 高升^{1,3},
王伟^{1,3*}, 陈奕君^{1,3*}

(1. 广州中医药大学方证研究所, 广东 广州 510006; 2. 广州中医药大学基础医学院, 广东 广州 510006;
3. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 基于脂质代谢组学研究麝香通心滴丸 (STDP) 对动脉粥样硬化 (AS) 小鼠血清脂质代谢的影响, 探讨其改善脂质代谢防治 AS 的可能途径。**方法** ApoE^{-/-}C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、模型组、STDP 低、高剂量组 (43.05、86.10 mg/kg)、瑞舒伐他汀组 (2.10 mg/kg), 除对照组外, 其余组均接受连续 12 周的高脂膳食诱导, 自第 5 周起, 连续给药 9 周。酶标比色法检测血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL) 及低密度脂蛋白胆固醇 (LDL) 水平; 油红 O 染色检测主动脉脂质斑块沉积面积; HE 染色检测主动脉粥样斑块病理学变化; Masson 染色检测斑块内胶原纤维分布特征。基于 UHPLC-Q-TOF/MS 系统构建脂质组学分析平台, 通过非监督型主成分分析进行代谢轮廓初筛, 建立 OPLS-DA 监督模型识别组间差异代谢物。依托 KEGG 通路开展富集解析, 筛选显著性代谢通路, 最终通过拓扑网络分析阐明 STDP 调控 AS 的潜在靶向代谢机制。**结果** 与对照组比较, 模型组具有脂质代谢紊乱特征, 血清 TG、TC 及 LDL-C 水平上升 ($P < 0.01$), HDL-C 水平降低 ($P < 0.01$), 主动脉斑块面积占比、胶原沉积面积增大 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 给药组 TG、TC 及 LDL-C 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), HDL-C 水平上升 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 斑块面积及胶原沉积减少 ($P < 0.01$)。脂质代谢组学分析显示, STDP 影响了血清的脂质代谢, 筛选得到了 2 292 种差异脂质代谢物, 影响了血红素 B、甘油二酯、岩藻黄素 3'-油酸 3'-十七酸盐、神经酰胺 (d18:0/16:0)、胞苷二磷酸-甘油二酯、(R)-2-氨基十六烷酸这 6 个代表性脂质代谢物, 差异脂质大部分富集于鞘脂代谢通路和不饱和脂肪酸的生物合成以及脂肪酸生物合成等通路上, 其中又以鞘脂代谢通路最为显著。**结论** STDP 干预脂质代谢是其发挥抗 AS 的潜在途径之一, 可能与鞘脂代谢通路的调控相关。

关键词: 麝香通心滴丸; 动脉粥样硬化; ApoE^{-/-}小鼠; 脂质代谢组学; Cer/Sph/S1P 代谢轴

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)03-1023-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.03.045

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是累及大中型动脉 (如主动脉、冠状动脉) 的慢性病变, 特征性管腔狭窄可致终末器官缺血^[1]。作为心脑血管事件主要病因, 2020 年我国心血管病死亡占全因死亡首位^[2], 且为全球老年人群最常见死因^[3], 造成重大公共卫生负担^[4]。循环脂质代谢紊乱的核心病理机制为低密度脂蛋白胆固醇升高与疾病进展呈显著剂量-效应关系^[5], 临床核心干预依赖他汀类 (羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂) 及贝特类 (过氧化物酶体增殖物激活受体激动剂) 药物, 通过调节脂代谢延缓斑块形成^[6]。

中药复方治疗 AS 具多靶点优势, 可协同调节

脂代谢、抑制血栓形成及炎症反应^[7]。麝香通心滴丸 (Shexiang Tongxin dropping pills, STDP) 源自宋代《太平惠民和剂局方》“至宝丹”, 具芳香益气通脉、活血化瘀止痛功效, 临床用于冠心病稳定型心绞痛^[8], 其组方 (含人工麝香、人参茎叶皂苷等七味药) 通过协同作用调节脂代谢、抑制炎症级联与氧化应激, 契合 AS 核心病理^[9]。代谢组学作为系统药理学工具, 通过分析生物样本代谢物动态变化构建调控网络^[10], 解析药物整体效应及中药多组分机制^[11], AS 病理与脂质代谢物改变密切相关^[12]。本研究采用 ApoE^{-/-}C57BL/6J 小鼠 AS 模型, 验证 STDP 药效后, 结合脂质代谢组

收稿日期: 2025-07-31

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82204852); 国家中医药传承创新团队项目 (ZYCYXTD-C-202201); 广州市基础与应用研究专题项目 (2023A04J2476)

作者简介: 杜婉英 (1999—), 女, 博士在读, 从事中西医结合防治心血管疾病的研究。E-mail: 15935902270@163.com

* **通信作者:** 陈奕君 (1989—), 男, 博士, 讲师, 从事中医药防治心血管疾病的物质基础研究。E-mail: cheniyjun@gzucm.edu.cn

王伟 (1962—), 男, 博士, 教授, 从事中医药防治心血管疾病的临床与基础研究。E-mail: wangwei26960@126.com

学探究其活性成分基础及调控通路。

1 材料

1.1 动物 SPF级载脂蛋白E基因敲除(ApoE^{-/-}) C57BL/6J雄性小鼠50只,6周龄,体质量(22±2)g,购自江苏华创信诺医药科技有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(苏)2020-0009],饲养于广州中医药大学实验动物中心SPF级屏障系统独立通气笼盒(IVC)内[实验动物使用许可证号SYXK(粤)2018-0085],室温(22±1)℃、相对湿度50%~60%,12h/12h昼夜循环,自由摄食、饮水,适应性饲养7d,基础饲料及高脂饲料(78.85%基础饲料+21%脂肪+0.15%胆固醇)均由江苏协同医药生物工程有限责任公司提供[生产许可证号SCXK(苏)2020-0018]。动物实验已通过广州中医药大学动物实验伦理委员会审批(伦理号ZYD-2023-253),全程遵守3R原则。

1.2 药物与试剂 STDP(批号190310)购自内蒙古康恩贝药业有限公司圣龙分公司;瑞舒伐他汀钙片(批号HJ20160545)购自阿斯利康药业(中国)有限公司。总胆固醇(total cholesterol, TC)、总甘油三酯(total triglycerides, TG)、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)测定试剂盒(货号A111-1-1、A110-1-1、A113-1-1、A112-1-1)购自南京建成生物科技有限公司;苏木素-伊红(HE)染色试剂盒、Masson染色液、饱和油红O染液(货号G1120、G1346-0117、G1260)购自北京索莱宝科技有限公司;质谱纯甲醇、乙腈、乙酸铵、二氯甲烷、异丙醇购自德国默克公司;质谱纯甲酸购自TCI梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;质谱纯甲基叔丁基醚购自德国CNW Technologies GmbH公司。

1.3 仪器 VS200型病理全扫仪(日本奥林巴斯株式会社);EG1150C型包埋机、SM2000R型石蜡滑动式切片机(德国Leica公司);VO-53型真空干燥机(上海泰坦科技股份有限公司);Revos型脱水机(美国Thermo Fisher Scientific公司);Synergy H1型酶标仪(美国BioTek公司);JIDI-17R型微量高速冷冻离心机(广州吉迪仪器有限公司);Acquity I-Class PLUS型超高效液相色谱仪、Xevo G2-XS QToF型高分辨质谱仪(美国Waters公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 50只小鼠随机分为对照

组、模型组、STDP低、高剂量组、瑞舒伐他汀组,每组10只。除对照组持续给予常规饲料外,其余各组均给予定制高脂饲料12周。从第5周开始,STDP低、高剂量组每天分别灌胃STDP溶液(43.05、86.10 mg/kg),低剂量按照临床成人(60 kg)每天服药剂量(35 mg/丸×6丸)换算为小鼠给药剂量,高剂量为低剂量的2倍。瑞舒伐他汀组每天灌胃瑞舒伐他汀钙片溶液(2.10 mg/kg),对照组和模型组每天给予等体积生理盐水,给药的同时维持高脂饮食。实验过程中,模型组有4只小鼠死亡;STDP高剂量组有2只小鼠因给药操作不当死亡;对照组有1只小鼠取材不当、组织碎裂(面积>40%),故最终检测样本例数为6例。瑞舒伐他汀组小鼠给药剂量(D)换算公式为 $D_{\text{小鼠}} = D_{\text{人}} \times (HI_{\text{小鼠}}/HI_{\text{人}}) \times (W_{\text{小鼠}}/W_{\text{人}})^{2/3}$,其中HI为体型系数,W为体质量。

2.2 酶联比色法检测血脂水平 小鼠末次给药后,禁食不禁水12h,眼球摘除取血,常温下静置2h,4℃、12 000 r/min离心15 min,取血清。按照试剂盒说明书操作,采用酶联比色法定量检测血清TC、TG、LDL-C、HDL-C水平,每组平行测定3次。

2.3 油红O染色检测主动脉组织斑块情况 小鼠主动脉根部组织使用OCT包埋,冰冻切片(厚度5 μm),进行油红O染色,通过OLYMPUS VS200玻片全景扫描系统扫描、选取视野。采用Image J软件计算斑块红染面积占比,主动脉脂质红染面积占比=(油红染色面积/主动脉管腔面积)×100%。

2.4 主动脉组织HE染色 取OCT包埋的主动脉段组织冰冻切片,按照HE染色试剂盒说明进行水洗、透明、复水、染色、封片,在显微镜下观察并采集图像。

2.5 主动脉胶原沉积Masson染色 取主动脉组织进行Masson染色,包埋、切片脱蜡至水,采用苏木素和丽春红-酸性品红混合染液对组织切片进行全覆盖染,0.2%冰醋酸水溶液漂洗,1%磷钼酸水溶液分化处理,用苯胺蓝复染后进行脱水、透明、封片,于显微镜下观察染色效果。胶原纤维通常呈现蓝色,通过观察蓝色区域的数量和分布来评估纤维化的程度,纤维化越严重,蓝色区域越多且分布越密集。

2.6 脂质代谢组学分析

2.6.1 样品处理 取对照组(C)、模型组(M)和STDP高剂量组(H)小鼠血清各100 μL,加入

500 μL 提取液 (甲基叔丁基醚: 甲醇=5:1), 涡旋 30 s, 冰水浴超声 15 min, $-40\text{ }^\circ\text{C}$ 静置 1 h, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 、13 000 r/min 离心 15 min, 取 300 μL 上清真空干燥, 加 200 μL 复溶液 (二氯甲烷: 甲醇=1:1), 涡旋 30 s, 冰水浴超声 10 min, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min, 精确分装 140 μL 澄清液至预冷进样瓶, 每个样本取 10 μL 混合, 即得 QC 样本。

2.6.2 分析条件

2.6.2.1 色谱 Waters Acquity UPLC CSH C_{18} 色谱柱 (2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm); 流动相 60% 乙腈水 (A) -90% 异丙醇乙腈溶液 (B), 均含有 10 mmol/L 乙酸铵和 0.1% 甲酸, 洗脱梯度见表 1; 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 (55 ± 0.5) $^\circ\text{C}$; 进样量 5 μL 。

表 1 液相色谱流动相条件

时间/min	A/%	B/%
0	60	40
2.0	57	43
2.1	50	50
12.0	46	54
12.1	30	70
18.0	1	99
18.1	60	40
20.0	60	40

2.6.2.2 质谱 电喷雾离子源 (ESI); 正、负离子扫描; 毛细管电压 2 500、-2 000 V; 锥孔电压 30 V; 离子源温度 $120\text{ }^\circ\text{C}$; 脱溶剂气温度 $550\text{ }^\circ\text{C}$; 反吹气体积流量 50 L/h; 脱溶剂气体积流量 900 L/h; 扫描范围 m/z 50~2 000; 碰撞能量 10~40 V; 扫描频率 0.2 s/张。

2.6.3 数据分析 样本按“2.6.1”项下方法处理并在“2.6.2”项条件下进样测定后, 代谢组学数据由 Waters MassLynx v4.2 工作站采集, 原始数据经 Progenesis Q1 软件预处理 (特征峰检测、保留时间校准), 基于在线数据库及自建生物标志物库进行鉴定, 母离子质量误差 $\leq 20\times 10^{-6}$, 二级碎片离子容差 $\leq 10\times 10^{-6}$ 。主成分分析 (PCA) 为非监督多变量统计技术, 通过正交线性变换实现数据降维, 提取最大方差贡献率的主成分以保留原始数据特征, 用于可视化展示组间代谢差异及组内变异。将差异脂质筛选标准 fold change ≥ 1 的代谢物纳入火山图分析; 含生物学重复时, 需同时满足 VIP ≥ 1 (反映组间分类贡献) 及 t 检验 $P<0.05$ 。韦恩图通过几何图形展示集合交叠关系; 箱线图基于 $Q1$ (25%)、 $Q2$ (中位数)、 $Q3$ (75%) 分位点及离

群点分布, 评估数据离散特征。差异代谢网络分析以 KEGG 数据库为基准^[13], 结合模块化通路富集算法及拓扑权重系数, 筛选关键代谢通路。

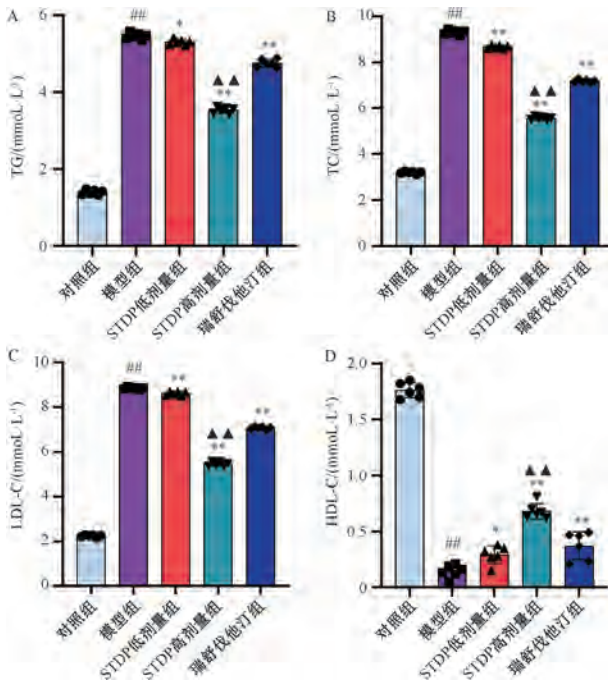
2.7 统计学分析 通过 GraphPad Prism v 8.0.2 软件进行处理^[14], 首先通过 Shapiro-Wilk、Kolmogorov-Smirnov (Lilliefors 校正) 及 D'Agostino-Pearson 联合检验评估正态性 ($P\geq 0.05$, 符合正态分布); 正态分布且方差齐性 (Brown-Forsythe/Bartlett 检验, $P>0.05$) 的数据采用单因素方差分析, 若结果显著 ($P<0.05$), 进一步通过 Tukey's HSD 检验进行多重比较; 方差不齐 ($P<0.05$) 时采用 Welch 校正方差分析联合 Games-Howell 检验; 非正态分布数据采用 Kruskal-Wallis 检验, 并通过 Dunn 检验结合 Bonferroni 校正进行两两比较。数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示。

3 结果

3.1 STDP 对小鼠血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平的影响 与对照组比较, 模型组 TC、TG、LDL-C 水平上升 ($P<0.01$), HDL-C 水平下降 ($P<0.01$); 与模型组比较, STDP 低、高剂量组及瑞舒伐他汀组 TG、TC 和 LDL-C 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), HDL-C 水平升高 ($P<0.05$), 且以 STDP 高剂量组更明显 ($P<0.01$), 表明高脂饮食和 ApoE^{-/-} 可以成功构建 AS 模型, STDP 对于 AS 造成的血脂异常具有明显改善作用, 且具有剂量依赖性, 见图 1。

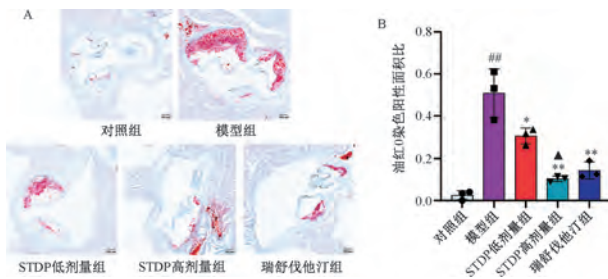
3.2 STDP 对小鼠主动脉斑块脂质蓄积的影响 对照组小鼠主动脉可见血管壁各个层次排列整齐, 结构较清楚, 几乎看不见皱褶及空泡, 红染少; 模型组主动脉内膜厚度异常增生, 脂质核心沉积面积增加, 内膜基质结构紊乱伴大量脂噬细胞浸润, 特征性表现为胞质内多发性空泡样变及层状皱褶形成, 较对照组呈现 AS 特征性改变 ($P<0.01$); 各给药组主动脉斑块及血管壁泡沫细胞均有不同程度的改善 ($P<0.01$), 随着 STDP 给药剂量的增加, 上述病变程度有所减轻 ($P<0.05$), 表明经 STDP 干预的 AS 模型小鼠在主动脉窦区域的脂质蓄积量显著降低, 泡沫细胞浸润改善, 且改善效果具有剂量依赖性, 见图 2。

3.3 STDP 对小鼠斑块病理形态的影响 对照组小鼠主动脉管壁中膜结构连续, 厚度均匀, 内膜光滑平整, 内皮细胞单层连续排列完整, 管腔内仅见微量脂质沉积; 模型组中膜平滑肌细胞排列紊乱, 内皮连续性中断, 内膜厚度异常增加, 并形成典型



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ ；与STDP低剂量组比较，^{▲▲} $P < 0.01$ 。

图1 各组小鼠血清TC、TG、HDL-C、LDL-C水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ ；与STDP低剂量组比较，[▲] $P < 0.05$ 。

图2 各组小鼠主动脉斑块脂质油红O染色 ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

纤维帽结构覆盖的隆起性斑块，管腔变小，斑块内坏死核心形成，斑块面积与管腔的占比增大；给药组均显示出不同程度的病理改善，中膜结构排列更为规整，中等大小粥样硬化斑块形成，且斑块面积缩小。这表明STDP能有效抑制主动脉粥样硬化斑块面积和坏死核心的形成，见图3。

3.4 STDP对小鼠主动脉斑块胶原纤维水平的影响

对照组斑块内胶原纤维水平正常，纤维排列规则，主动脉窦周围胶原包绕完整，斑块结构稳定；与对照组比较，模型组斑块纤维帽及基质中胶原纤维水平异常升高 ($P < 0.01$)，局部可见胶原纤维断裂及无序堆积，坏死核心周围胶原层松散；与模型

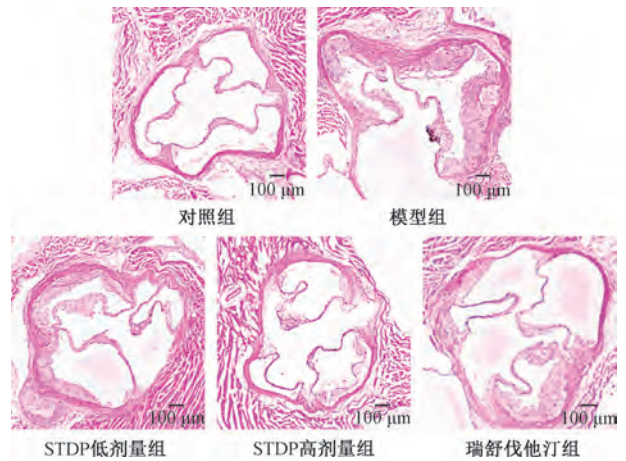
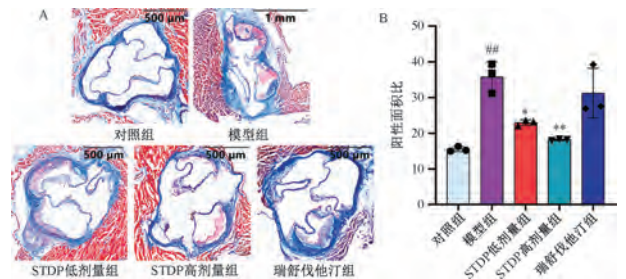


图3 各组小鼠主动脉斑块HE染色 ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组比较，STDP低、高剂量组斑块内异常增高的胶原水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，同时纤维束致密有序、交联结构增多，坏死核心被连续且均匀的胶原层包裹，且STDP高剂量组小鼠主动脉窦纤维化改善情况与STDP低剂量组相比无明显变化 ($P > 0.05$)，表明STDP可改善AS小鼠主动脉窦纤维化情况；瑞舒伐他汀组胶原水平无明显变化 ($P > 0.05$)，纤维连续性略逊于STDP组，见图4。



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 。

图4 各组小鼠主动脉斑块胶原纤维Masson染色 ($\times 100$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

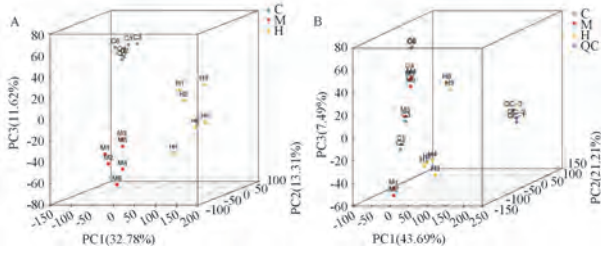
3.5 血清样品脂质代谢组学分析 主成分分析显示

对照组、模型组、STDP高剂量组血清样品在PCA三维得分图中形成独立聚类簇，提示模型组正常代谢受到干扰，STDP高剂量组干预改变了模型组的代谢特征，见图5A；QC质控样本在多元分析空间中呈现高密度聚类特征，证实分析系统的稳定性满足代谢组学数据可靠性标准，见图5B。

3.6 AS相关差异脂质代谢物的筛选

3.6.1 差异脂质代谢物火山图分析

与对照组比较，模型组AS相关血清差异脂质代谢物有1415种，772种脂质上调，其中磷脂酰丝氨酸(PS)最显著；643种脂质下调，其中磷脂酰丝氨酸-N-乙酰半胱氨酸(PS-NAC)最显著，见图6A。与模



注：C为对照组，M为模型组，H为STDP高剂量组。

图5 各组样本的PCA得分3D散点图 (n=6)

型组比较，STDP高剂量组AS相关血清差异脂质代谢物有2 292种，1 052种脂质上调，1 240种脂质下调，其中酮类胡萝卜素最显著，见图6B。

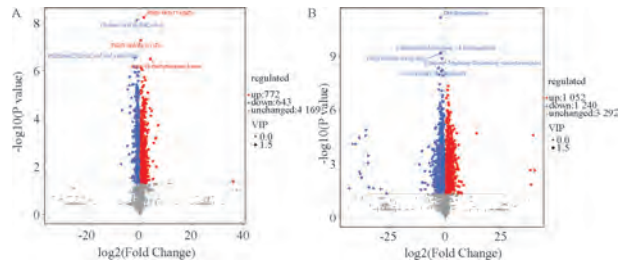
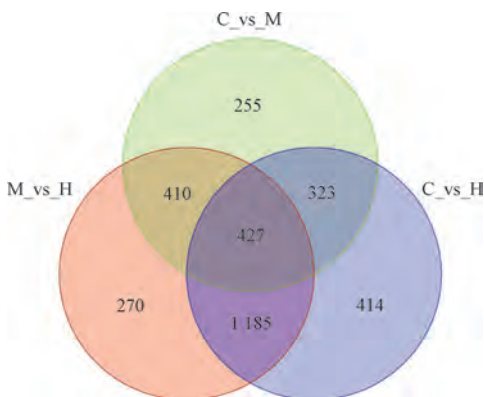


图6 各组差异脂质代谢物火山图 (n=6)

3.6.2 差异脂质代谢物韦恩图分析 跨组比较显示，存在427个核心交叉代谢物，其中正离子模式下检测到的脂质以磷脂酰胆碱(PC)为主，负离子模式下检测到的以磷脂酰肌醇-神经酰胺(PI-Cer)为代表，提示STDP可能通过调控这427个差异脂质代谢物的水平发挥治疗AS的作用，见图7。

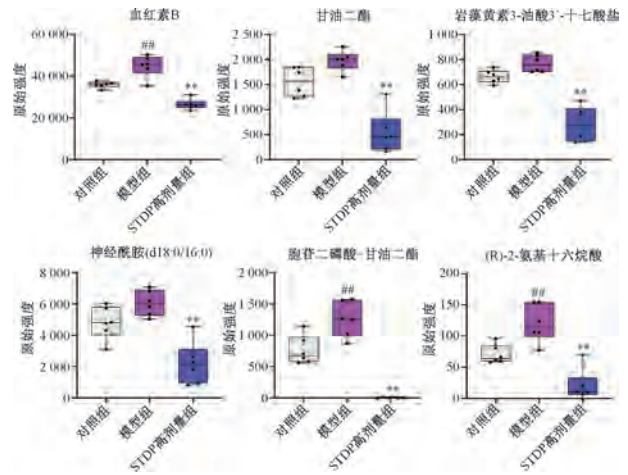


注：C为对照组，M为模型组，H为STDP高剂量组。

图7 各组差异脂质代谢物韦恩图 (n=6)

3.6.3 差异脂质代谢物箱线图分析 按照3组的P值由小到大排序，取前6个差异脂质代谢物，包括血红素B、甘油二酯(diacylglycerol, DG)、岩藻黄素3-油酸3'-十七酸盐、神经酰胺(ceramide, Cer) (d18:0/16:0)、胞苷二磷酸-甘油二酯、

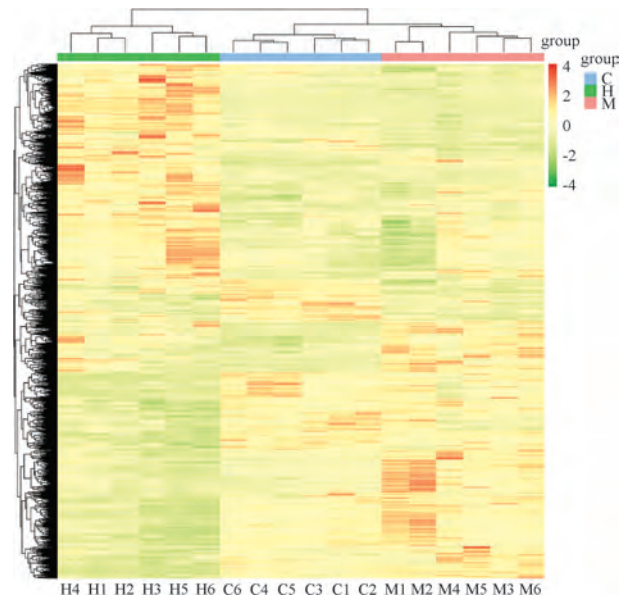
(R)-2-氨基十六烷酸水平做箱线图。与对照组比较，模型组血红素B、(R)-2-氨基十六烷酸、胞苷二磷酸-甘油二酯丰度上升(P<0.01)；与模型组比较，STDP高剂量组血红素B、DG、岩藻黄素3-油酸3'-十七酸盐、Cer、胞苷二磷酸-甘油二酯、(R)-2-氨基十六烷酸丰度下降(P<0.01)，表明STDP可显著影响这6种代谢物发挥抗AS的作用，见图8。



注：与对照组比较，##P<0.01；与模型组比较，*P<0.05，**P<0.01。

图8 各组差异脂质代谢物箱线图 (x̄±s, n=6)

3.6.4 差异脂质代谢物聚类热图分析 模型组能够上调大部分脂质丰度，下调小部分脂质丰度，经过STDP干预后呈现出接近正常水平的趋势，说明STDP能纠正AS小鼠模型的脂代谢稳态失衡，逆转AS病理进程，见图9。



注：C为对照组，M为模型组，H为STDP高剂量组。

图9 各组差异脂质代谢物聚类热图 (n=6)

3.7 差异脂质代谢物 KEGG 通路富集分析 与对照组比较，模型组引起的代谢通路变化主要聚类在脂质代谢通路、消化系统通路、辅因子以及维生素的代谢通路等，其中鞘脂代谢通路中所含的差异脂质最多，见图 10A；与模型组比较，STDP 高剂量组引起的代谢通路变化主要富集在脂质代谢通路、碳水化合物代谢通路等，其中鞘脂代谢通路中所含的差异脂质最多，这提示过量的脂肪摄入及其引发的鞘脂代谢紊乱与 AS 的发生、发展密切相关，STDP 缓解 AS 与鞘脂代谢有关，见图 10B。

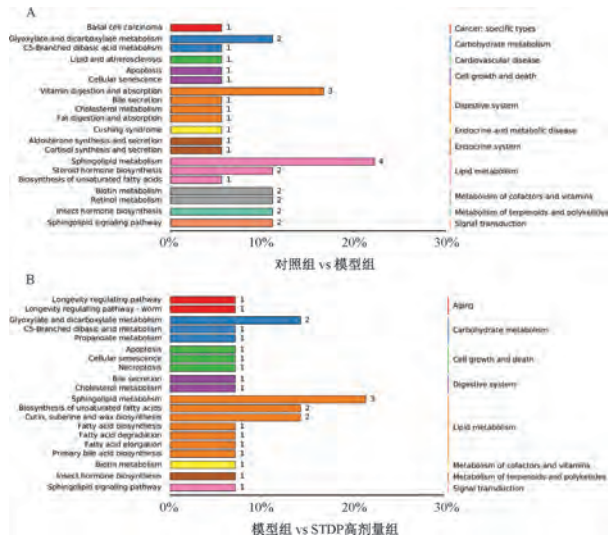


图 10 各组差异脂质代谢物 KEGG 功能富集分析 (n=6)

3.8 AS 相关脂质代谢网络拓扑分析 与对照组比较，模型组引起的代谢通路变化聚集在植物鞘氨醇、1-磷酸鞘氨醇 (sphingosine-1-phosphate, S1P)、鞘氨醇 (sphingosine, Sph) 引起的鞘脂代谢通路改变，以及胆固醇、叶绿醌、视黄醇引起的维生素消化和吸收通路改变，见图 11A；与模型组

相比，STDP 高剂量组引起的代谢通路变化聚集在 2 大核心调控网络，鞘脂信号轴重构包含植物鞘氨醇、S1P、Sph 的代谢流失平衡，棕榈酸改变引起的脂肪酸合成重编程，见图 11B。

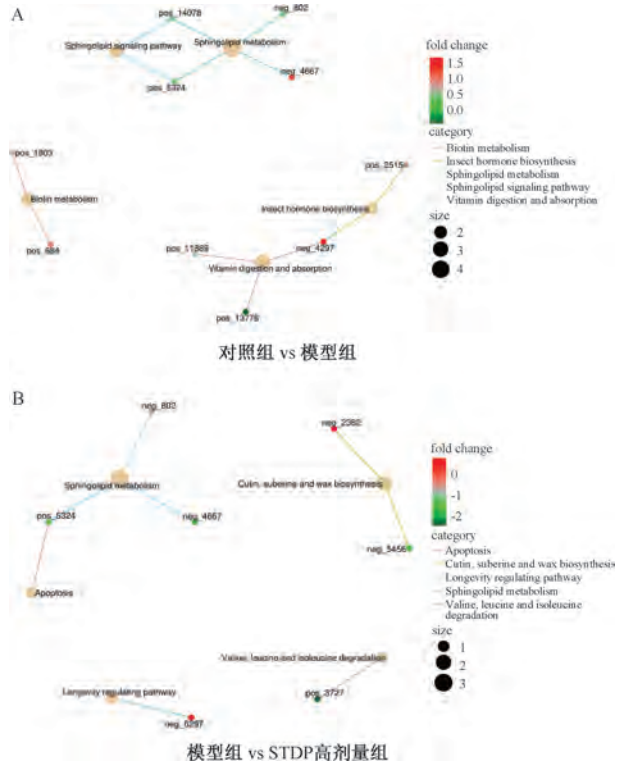
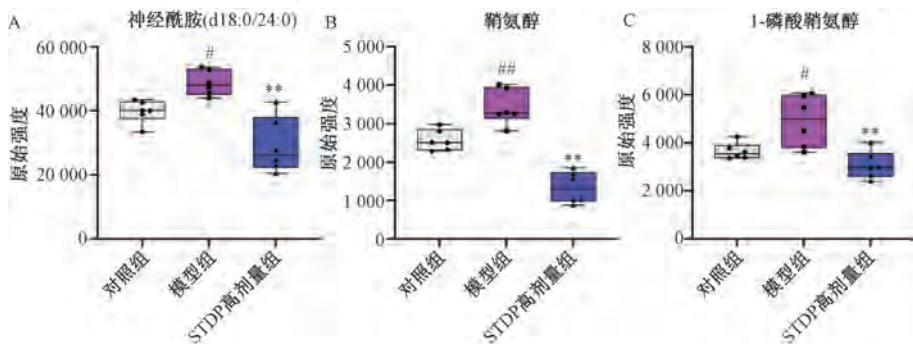


图 11 各组差异脂质代谢物 KEGG 富集网络图 (n=6)

3.9 STDP 调控鞘脂信号网络的药效学验证 与对照组比较，模型组血清 Cer、Sph、S1P 的水平升高 (P<0.05, P<0.01)；STDP 高剂量干预后，S1P、Cer、Sph 水平下降 (P<0.01)，该结果表明 STDP 可显著影响鞘脂代谢通路上的 Cer/Sph/S1P 轴从而产生抗 AS 的作用，见图 12。



注：与对照组比较，#P<0.05, ##P<0.01；与模型组比较，**P<0.01。

图 12 STDP 对 Cer、Sph、S1P 水平的影响 (x̄±s, n=6)

4 讨论

ApoE 缺失会破坏脂质稳态诱发高脂血症，该

模型构建因操作简便、时间短且能模拟人类 AS 斑块特征，因此常用于脂质代谢性疾病研究^[15]。临

床常用治疗药物瑞舒伐他汀钙片，可通过抑制肝脏胆固醇合成、增强脂蛋白清除、抑制泡沫细胞形成发挥调控作用。基于此，本研究选用 ApoE 基因敲除小鼠模型，结合高脂饲料喂养构建 AS 模型，并选取瑞舒伐他汀钙片作为阳性对照药物。结果表明，STDP 可有效改善模型组小鼠病理形态，降低模型小鼠血脂水平，减少主动脉脂质与胶原沉积、泡沫细胞数量，缩小 AS 斑块及心肌纤维化范围，并呈剂量依赖性。同时，主动脉斑块改善程度是 AS 治疗效果的重要判断指征，本研究通过油红 O、HE 及 Masson 染色结果可以看出，STDP 高剂量对 AS 小鼠主动脉粥样沉积、斑块面积、坏死核心及稳定性的改善效果良好。

已有研究显示，鞘脂代谢失衡与 AS 疾病关联密切^[16]，且 AS 斑块中血红素 B 异常积聚可通过 Fenton 反应生成自由基，催化磷脂氧化产生脂质过氧化物，破坏膜通透性并诱发炎症^[17]。而 DG 和单酰甘油 (monoacyl glycerol, MG) 是冠心病独立风险因子^[18]，其水平升高与心血管事件风险增加相关；DG/MG 的酰基肉碱转运障碍会升高游离脂肪酸，过量游离脂肪酸可激活 JNK 和 p38 MAPK 通路，调控巨细胞迁移，而巨噬细胞迁移在 AS 进程中起核心作用，且早期冠脉病变中 DG、MG 累积与内皮屏障完整性负相关。

此外 Cer 是鞘脂代谢关键分子，在 AS 初始阶段因内皮细胞损伤而水平升高，受鞘磷脂酶与合成酶双重调控^[19]。作为第二信使，它可激活信号通路诱导细胞损伤或凋亡，其代谢产物还参与细胞分化、炎症等过程，参与 AS 形成机制^[20]。血浆 Cer 水平与 AS 斑块破裂及心血管事件有关，还可通过激活 CD36/Fyn 信号轴促进脂质聚集及血管损伤^[21]。研究表明，碱性神经酰胺酶 1 主导的 Cer 水解可产生 Sph，激活 NLRP3 炎症小体诱发血管炎症^[22]。S1P 在血管壁中通过多种信号参与 AS 进程^[23]，其具有配体-受体特异性；与 HDL 结合可抑制炎症及斑块形成^[24]，与白蛋白结合则促进 AS 发展。Cer 还是糖脂代谢紊乱的标志，糖代谢中，它可通过激活激酶或内质网应激通路损伤胰岛素信号及分泌^[25]；脂质代谢中，它能促进脂解导致 FFA 过量，诱发 TG 合成及脂蛋白分泌异常^[26]。

本研究发现，ApoE^{-/-} AS 小鼠的确存在鞘脂代谢紊乱情况，且 Cer 水平异常升高，STDP 干预后，模型组血清中 Cer、Sph、S1P 水平显著降低。脂质代谢组学分析结果提示，STDP 高剂量组小鼠血清

中血红素 B、DG、岩藻黄素衍生物、胞苷二磷酸-甘油二酯、特定氨基酸及 Cer (d18:0/16:0) 水平降低。KEGG 通路富集结果表明，鞘脂代谢是 STDP 干预 AS 的关键路径，S1P、植物鞘氨醇、Sph 介导的代谢变化可能是其核心环节。同时，本研究中 TG 与 Cer 变化趋势一致，与神经酰胺合酶调控 DGAT2 促进 TG 酯化的机制契合^[27]，提示其可能双向调节脂代谢。Sph 与 S1P 的平衡可调控糖脂代谢，Sph 通过激活 AMPK 通路降低血糖^[28]，S1P 通过结合 G 蛋白偶联受体改善胰岛素敏感性^[29]。二者代谢失衡会通过促炎、促凋亡等放大代谢紊乱^[30-31]，但本研究未检测 S1P 受体及下游信号的调控层级，需后续深入探究。

综上所述，STDP 可能通过调控 AS 小鼠鞘脂代谢，降低血红素 B、DGs 等水平，调节脂质代谢及鞘脂代谢轴 Cer/Sph/S1P 从而防治 AS。

参考文献:

- [1] Morbiducci U, Kok A M, Kwak B R, et al. Atherosclerosis at arterial bifurcations: evidence for the role of haemodynamics and geometry[J]. *Thromb Haemost*, 2016, 115(3): 484-492.
- [2] Ferreira-Duarte M, Oliveira L C G, Quintas C, et al. ACE and ACE2 catalytic activity in the fecal content along the gut[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2023, 35(9): e14598.
- [3] Zhu Y H, Xian X M, Wang Z Z, et al. Research progress on the relationship between atherosclerosis and inflammation[J]. *Biomolecules*, 2018, 8(3): 80.
- [4] Herrington W, Lacey B, Sherliker P, et al. Epidemiology of atherosclerosis and the potential to reduce the global burden of atherothrombotic disease[J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 535-546.
- [5] 中国血脂管理指南修订联合专家委员会, 王增武, 李建军, 等. 中国血脂管理指南(基层版 2024 年)[J]. *中国全科医学*, 2024, 27(20): 2429-2436.
- [6] 张蕾, 刘佳丽, 蔺琳, 等. 剪切力对动脉粥样硬化的影响及中药抗剪切力损伤的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(18): 234-242.
- [7] 于红红, 李芳, 罗瑞熙, 等. 四妙勇安汤含药血清对 LPS 诱导的 M1/M2 巨噬细胞极化及 NF-κB/NLRP3 通路的影响[J]. *免疫学杂志*, 2023, 39(4): 320-325.
- [8] 田夏, 朱贺, 李薇, 等. 麝香通心滴丸的临床综合评价[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(4): 1122-1128.
- [9] 李蒙, 李金根, 刘佳, 等. 麝香通心滴丸改善冠状动脉慢血流的研究进展[J]. *世界中医药*, 2022, 17(8): 1180-1183.
- [10] Hocher B, Adamski J. Metabolomics for clinical use and research in chronic kidney disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(5): 269-284.
- [11] Han Y, Sun H, Zhang A, et al. Chinmedomics, a new strategy

- for evaluating the therapeutic efficacy of herbal medicines[J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 216: 107680.
- [12] 刘金辉, 田颖颖, 赵新月, 等. 基于代谢组学的六神曲降血脂作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(3): 770-778.
- [13] Bono H, Nakao M, Kanehisa M. Cluster analysis of genome-wide expression profiles to predict gene functions with KEGG[J]. *Nat Genet*, 1999, 23(3): 33-34.
- [14] Kazibwe A, Bisaso K R, Kyazze A P, et al. HIV, tuberculosis, diabetes mellitus and hypertension admissions and premature mortality among adults in Uganda from 2011 to 2019: is the tide turning? [J]. *Trop Med Health*, 2022, 50(1): 54.
- [15] 韩晓萌, 刘悦, 赵誉, 等. 健脾祛痰方调节 M1/M2 巨噬细胞极化改善动脉粥样硬化的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(6): 1610-1617.
- [16] Hammad S M, Lopes-Virella M F. Circulating sphingolipids in insulin resistance, diabetes and associated complications[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(18): 14015.
- [17] 宋艳群, 祝融峰, 陈鹏. 血红素的生理分布与调控[J]. 中国科学: 化学, 2015, 45(11): 1194-1205.
- [18] Do R, Willer C J, Schmidt E M, et al. Common variants associated with plasma triglycerides and risk for coronary artery disease[J]. *Nat Genet*, 2013, 45(11): 1345-1352.
- [19] 和静, 房中则, 杨颖, 等. 血浆中脂质代谢分子与颈动脉粥样硬化斑块、传统心血管危险因素及膳食因素的关系[J]. 北京大学学报(医学版), 2024, 56(4): 722-728.
- [20] Moore K J, Sheedy F J, Fisher E A. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance[J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(10): 709-721.
- [21] Zhao W, Wang X Y, Deik A A, et al. Elevated plasma ceramides are associated with antiretroviral therapy use and progression of carotid artery atherosclerosis in HIV infection[J]. *Circulation*, 2019, 139(17): 2003-2011.
- [22] Parveen F, Bender D, Law S H, et al. Role of ceramidases in sphingolipid metabolism and human diseases[J]. *Cells*, 2019, 8(12): 1573.
- [23] Hla T, Dannenberg A J. Sphingolipid signaling in metabolic disorders[J]. *Cell Metab*, 2012, 16(4): 420-434.
- [24] Velagapudi S, Wang D, Poti F, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor 3 regulates the transendothelial transport of high-density lipoproteins and low-density lipoproteins in opposite ways[J]. *Cardiovasc Res*, 2024, 120(5): 476-489.
- [25] Shalaby Y M, Nakhla M M, Afandi B, et al. Impact of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors on aging biomarkers and plasma ceramide levels in type 2 diabetes: beyond glycemic control[J]. *Ann Med*, 2025, 57(1): 2496795.
- [26] 张凯玲, 李良平. 肠道法尼醇 X 受体在非酒精性脂肪性肝病中的作用机制及相关靶向药物[J]. 临床肝胆病杂志, 2020, 36(5): 1160-1163.
- [27] Park W J, Park J W, Merrill A H, et al. Hepatic fatty acid uptake is regulated by the sphingolipid acyl chain length[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1841(12): 1754-1766.
- [28] Chen J, Zhou Y B, Liu Z H, et al. Hepatic glycogenesis antagonizes lipogenesis by blocking S1P via UDPG[J]. *Science*, 2024, 383(6684): eadi3332.
- [29] 耿建, 母迷迷, 冀彩丽, 等. 胰岛素生长因子 1 (IGF-1) 通过 S1P/S1PR1 信号激活 PI3K 通路促进小鼠肺泡上皮细胞迁移[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2021, 37(11): 996-1002.
- [30] Zhuo C J, Zhao F F, Tian H J, et al. Acid sphingomyelinase/ceramide system in schizophrenia: implications for therapeutic intervention as a potential novel target[J]. *Transl Psychiatry*, 2022, 12(1): 260.
- [31] Liu K, Sun T, Luan Y, et al. Berberine ameliorates erectile dysfunction in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus through the attenuation of apoptosis by inhibiting the SPHK1/S1P/S1PR2 and MAPK pathways[J]. *Andrology*, 2022, 10(2): 404-418.