四川大学学报（医学版） 2026，57（3）：707－715
J Sichuan Univ（Med Sci） doi: 10.12182/20260560101

在线全文

阿托伐他汀通过调控MMP-7/Gα13增强ApoE$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化斑块稳定性*

卢 晓，郑 蓉，陈 杨，冯 莹△
武汉市第一医院 心血管内科（武汉 432000）

【摘要】 **目的** 探究阿托伐他汀（atorvastatin, Ator）调控ApoE$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化（atherosclerosis, AS）的多效性分子机制。**方法** 30只8周龄雄性ApoE$^{-/-}$小鼠经高脂饮食诱导AS模型后，随机分为对照组（生理盐水）、低剂量Ator组〔5 mg/(kg·d)〕和高剂量Ator组〔10 mg/(kg·d)〕，干预10周。主要结局指标为油红O、HE染色检测动脉粥样硬化斑块面积，次要结局指标包括血液化学分析仪检测血清血脂指标，Masson、天狼星红染色结合偏振光检测斑块稳定性相关指标（胶原纤维含量、纤维帽厚度），免疫组化法检测α-平滑肌肌动蛋白（alpha smooth muscle Actin, α-SMA）与CD68表达，荧光酶标仪检测活性氧（reactive oxygen species, ROS）水平，Western blot法、RT-qPCR法分别检测炎症、氧化应激、凋亡相关分子及基质金属蛋白酶7（matrix metallopeptidase 7, MMP-7）、G蛋白α13 亚基（guanine nucleotide-binding protein subunit α-13, Gα13）的蛋白与基因表达。**结果** 血脂与斑块：Ator降低血清低密度脂蛋白胆固醇（low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C）、总胆固醇（total cholesterol, TC）、甘油三酯（triglycerides, TG）水平（P<0.05），并剂量依赖性减少主动脉脂质沉积面积和斑块面积〔对照组斑块面积（1.62±0.15）mm^2，低剂量组（1.13±0.06）mm^2，高剂量组（0.83±0.07）mm^2，P<0.001〕。斑块稳定性：Ator提升胶原纤维含量（P<0.001）、增加纤维帽厚度，上调α-SMA表达、下调CD68表达（P<0.001）。氧化应激：Ator显著降低动脉组织ROS及血清丙二醛（malondialdehyde, MDA）水平（P<0.001）。分子机制：Ator下调促炎因子〔肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-alpha, TNF-α）、白细胞介素（interleukin, IL）-6〕、NLRP3、促凋亡蛋白（caspase-3、p53）、诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase, iNOS）及MMP-7；上调抗凋亡蛋白Bcl-2、抗氧化蛋白〔线粒体去乙酰化酶3（sirtuin 3, SIRT3）/超氧化物歧化酶2（superoxide dismutase 2, SOD2）〕及Gα13（P<0.001）。上述蛋白与基因表达趋势一致，高剂量组效应更显著。**结论** 阿托伐他汀通过调节血脂、抑制炎症反应、减轻氧化应激、调控细胞凋亡，同时影响MMP-7和Gα13的表达，发挥抗AS的多效作用。

【关键词】 阿托伐他汀 ApoE$^{-/-}$小鼠 动脉粥样硬化 基质金属蛋白酶7 G蛋白α13亚基

Study on the Mechanism by Which Atorvastatin Enhances the Stability of Atherosclerotic Plaques in ApoE$^{-/-}$ Mice Through Regulation of MMP-7/Gα13

LU Xiao, ZHENG Rong, CHEN Yang, FENG Ying△. *Department of Cardiovascular, Wuhan First Hospital, Wuhan 432000, China*

△ Corresponding author, E-mail: xoxoclair@126.com

This study was supported by Medical Research Projects in Wuhan City (No. WX21Q11).

[**Abstract**] **Objective** To explore the pleiotropic molecular mechanisms by which atorvastatin (Ator) regulates atherosclerosis (AS) in ApoE$^{-/-}$ mice. **Methods** Thirty 8-week-old male ApoE$^{-/-}$ mice were induced to develop atherosclerosis by a high-fat diet. They were randomly assigned to a control group (normal saline), a low-dose Ator group (5 mg/[kg·d]), and a high-dose Ator group (10 mg/[kg·d]), and received interventions for 10 weeks. The primary outcome indicators were assessed by Oil Red O and HE staining to measure the area of atherosclerotic plaques. Secondary outcome indicators included serum lipid levels detected by a blood chemical analyzer, Masson and Sirius Red staining combined with polarized light to assess plaque stability indicators (collagen fiber content, fibrous cap thickness), immunohistochemistry to detect the expression of α-smooth muscle actin (α-SMA) and CD68, fluorescence microplate reader to measure reactive oxygen species (ROS) levels, Western blot and RT-qPCR to detect protein and gene expression of inflammation, oxidative stress, apoptosis-related molecules, matrix metallopeptidase 7 (MMP-7), and guanine

* 武汉市医学科研项目（No. WX21Q11）资助

△ 通信作者，E-mail: xoxoclair@126.com

出版日期：2026-05-20

nucleotide-binding protein subunit α-13 (Gα13). **Results** Blood lipids and plaques: Ator reduced serum low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol (TC), and triglycerides (TG) levels ($P < 0.05$), and dose-dependently decreased the area of aortic lipid deposition and plaque area (Control group: plaque area [1.62 ± 0.15] mm^2, Low-dose group: [1.13 ± 0.06] mm^2, High-dose group: [0.83 ± 0.07] mm^2, $P < 0.001$). Plaque stability: Ator increased collagen fiber content ($P < 0.001$), increased fibrous cap thickness, upregulated α-SMA expression, and downregulated CD68 expression ($P < 0.001$). Oxidative stress: Ator remarkably diminished the levels of ROS in arterial tissue and malondialdehyde (MDA) in serum ($P < 0.001$). Molecular mechanism: Ator downregulated pro-inflammatory factors (tumor necrosis factor-alpha [TNF-α], interleukin-6 [IL-6]), NLRP3, pro-apoptotic proteins (caspase-3, p53), inducible nitric oxide synthase (iNOS), and MMP-7; and upregulated anti-apoptotic protein Bcl-2, antioxidant proteins [mitochondrial deacetylase 3 (sirtuin 3, SIRT3)/superoxide dismutase 2 (SOD2)], and Gα13 ($P < 0.001$). The expression trends of these proteins and genes were consistent, with a more significant effect in the high-dose group. **Conclusion** Atorvastatin exerts its anti-atherosclerotic effects by regulating blood lipids, inhibiting inflammatory responses, reducing oxidative stress, and regulating apoptosis. It also affects the expression of MMP-7 and Gα13.

[Key words] Atorvastatin ApoE$^{-/-}$ mice Atherosclerosis Matrix metallopeptidase 7 Guanine nucleotide-binding protein subunit α-13

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)作为一种慢性炎症性血管病变,是心脑血管事件的主要病理基础,其核心特征包括脂质异常沉积、炎症细胞浸润、血管平滑肌细胞表型转化及细胞外基质重构[1-3]。他汀类药物因其强效的降脂作用〔主要通过抑制3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA)还原酶降低低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)〕已成为抗AS治疗的基石,并显著降低了心血管事件风险,但其显著的心血管保护作用常超越降脂本身[4-5]。他汀类药物的心血管保护作用与其广泛调节血管生物学功能密切相关,包括抑制炎症、减轻氧化应激、改善内皮功能、稳定斑块以及调控细胞增殖与凋亡等。

阿托伐他汀(atorvastatin, Ator)作为强效他汀代表,其多效性作用已被广泛关注[6-8]。既往研究证实Ator能调控炎症因子并影响斑块成分,但AS斑块稳定性关键环节——基质降解与内皮/平滑肌信号调控——中特定分子的作用,如基质金属蛋白酶7(matrix metalloproteinase-7, MMP-7)[9]和G蛋白α13亚基(guanine nucleotide-binding protein subunit α-13, Gα13)[10],在Ator干预下的机制尚不清晰。

本研究以ApoE$^{-/-}$小鼠为研究模型,通过构建AS模型并给予不同剂量的Ator干预,旨在探究Ator抗AS的机制。本研究为Ator的多效性提供了新证据,并为临床干预斑块稳定性提供了实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要实验试剂及仪器

Ator(粉末剂型,货号A8194)和天狼星红染色液(货号S3555)均购自德国Sigma-Aldrich。Ator给药前经无菌生理盐水研磨混悬,配制成质量浓度为5 mg/mL和10 mg/mL的均匀混悬液,4 ℃冷藏保存,临用前充分涡旋混匀。油红O(Oil-Red O, ORO)染色液(货号O1390,北京Solarbio);HE染色试剂盒(货号C0105,上海Beyotime);Masson染色试剂盒(货号G1340,武汉Servicebio);α-平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle actin, α-SMA)抗体(货号ab5694)和CD68抗体(货号ab955)均购自德国Abcam;NLRP3抗体(货号15101)、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)抗体(货号11948)、白细胞介素(interleukin, IL)-6抗体(货号12912)、线粒体去乙酰化酶3(sirtuin 3, SIRT3)抗体(货号12486)、Bcl-2抗体(货号15071)、caspases-3抗体(货号9662)、p53抗体(货号2527)、超氧化物歧化酶2(superoxide dismutase 2, SOD2)抗体(货号13141)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)抗体(货号13120)和辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)二抗(货号115-035-003)均购自美国CST;RNA提取试剂盒(货号9767)、cDNA合成试剂盒(货号RR047A)和PCR试剂盒(货号RR820A)均购自日本TaKaRa;丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所有限公司;组织活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒(DCFHDA,北京百奥莱博)。主要仪器:高速离心机(型号5424R,德国Eppendorf);石蜡切片机(型号RM2235,德国Leica);光学显微镜(型号Eclipse E600,日本Nikon);荧光定量PCR仪(型号7500,美国ABI);化学发光成像系统(型号ChemiDoc XRS+,美国Bio-Rad);血液化学分析仪(Bayer 1650,德国Bayer Angrane)。

1.2　实验动物

本研究已获得武汉市第一医院实验动物伦理委员会批准〔伦理审批号:(2025)伦审第(08)号〕。30只雄性C57BL/6背景的ApoE$^{-/-}$小鼠(8周龄, 20 ~ 25 g)购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司。将小鼠饲养在特定无病原体环境中, 温度稳定在(22±2)℃, 湿度50% ~ 60%, 动物实验中心内采用12 h光照/12 h黑暗循环, 自由进食饮水。本研究全程采用双盲法进行实验操作与结果分析。

纳入标准: 适应性饲养1周后小鼠健康状况良好, 无精神萎靡、食欲减退等异常表现。排除标准: 适应性饲养期间出现疾病、外伤或死亡的小鼠; 高脂饮食诱导期间因意外原因脱落的小鼠; 给药期间出现严重不良反应, 如抽搐、呕吐、体质量骤降>20%的小鼠。本研究中无小鼠因上述原因被排除, 最终30只小鼠全部完成实验并纳入分析。

1.3　实验方法

1.3.1　构建动脉粥样硬化小鼠模型及给药方式

以动脉粥样硬化斑块面积为主要结局指标, 设α=0.05, β=0.2, 两组间斑块面积差异预期为30%〔本研究结合动脉粥样硬化动物实验研究特点(在ApoE$^{-/-}$小鼠高脂饮食诱导动脉粥样硬化的干预研究中, 他汀类药物作为经典抗AS 药物, 其对斑块面积的干预效应量多集中在25% ~ 40%, 30%为该领域研究中公认的、具有生物学意义和统计学检测效力的效应量, 符合动物实验样本量计算的行业规范)、前期预实验数据及循证医学研究规范, 将两组间斑块面积的预期差异设定为30%〕, 通过PASS 15.0软件计算得出每组所需最小样本量为8只, 考虑到实验过程中可能存在的动物损耗, 最终确定每组10只。

将30只8周龄雄性ApoE$^{-/-}$小鼠先适应性饲喂普通饲料1周, 再用高脂饮食饲养6周以构建动脉粥样硬化模型, 随后采用随机数字表法分为3组(每组10只): 对照组用生理盐水灌胃, 低剂量Ator组用5 mg/(kg·d) Ator混悬液灌胃, 高剂量Ator组用10 mg/(kg·d) Ator混悬液灌胃, 持续干预10周后进行取材。小鼠禁食不禁水12 h, 使用1%戊巴比妥钠溶液注射麻醉, 眼球取血后颈椎脱臼法处死小鼠, 采集主动脉样品用于组织学评估。造模成功判定标准: 取小鼠主动脉组织行HE染色及油红O染色, 在光学显微镜下观察到主动脉壁出现明显脂质沉积、内膜增厚并形成典型的动脉粥样硬化斑块, 判定为造模成功。

1.3.2　血清成分分析

眼球取血后, 3 000 r/min离心15 min分离血清, 使用Bayer 1650血液化学分析仪检测血清中以下指标的浓度: 葡萄糖(glucose, GLU)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、LDL-C、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、甘油三酯(triglycerides, TG)。使用试剂盒检测血清MDA水平。

1.3.3　ORO染色

取小鼠主动脉用体积分数为4%多聚甲醛固定24 h, 冰冻切片(5 μm)后用60%异丙醇固定5 min, 0.5%ORO工作液染色15 min, 再用60%异丙醇分化至背景清晰, 蒸馏水冲洗后用苏木精复染1 min, 水洗封片, 光学显微镜下观察脂质沉积情况。采用Image-Pro Plus 6.0图像分析软件对染色切片进行定量分析, 计算主动脉内皮面脂质沉积和主动脉横截面脂质沉积。随机选取5个非重叠视野, 测定脂质沉积阳性面积占视野总面积的百分比, 反映内皮面整体脂质沉积程度; 随机选取每张切片3个完整斑块视野, 测定脂质沉积阳性面积占斑块总面积的百分比, 反映斑块区域脂质沉积量。取平均值作为最终结果。

1.3.4　HE染色

主动脉组织经体积分数为4%多聚甲醛固定后石蜡包埋, 切片(5 μm)脱蜡至水, 用苏木精染色5 min, 水洗后用1%盐酸乙醇分化数秒, 再水洗并用伊红染色3 min, 最后脱水、透明、封片, 在光学显微镜下观察组织形态学变化。采用Image-Pro Plus 6.0图像分析软件, 随机选取3个完整的斑块视野, 计算斑块的平均面积(mm^2)。

1.3.5　Masson染色

石蜡切片脱蜡至水后, 用Masson染色液Ⅰ(苏木精染液)染色6 min, 水洗后用Masson染色液Ⅱ(丽春红酸性品红液)染色6 min, 再经1%磷钼酸水溶液处理5 min, 转入Masson染色液Ⅲ(苯胺蓝液)染色6 min, 水洗后用95%乙醇分化至胶原纤维呈蓝色, 最后脱水、透明、封片, 观察胶原纤维分布。采用Image-Pro Plus 6.0图像分析软件, 选取5个非重叠的斑块区域视野, 计算胶原纤维阳性面积占视野总面积的平均百分比。

1.3.6　天狼星红染色与偏振光检测

石蜡切片脱蜡至水后, 用天狼星红染色液染色1 h, 水洗后脱水、透明、封片, 在光学显微镜下观察纤维帽形态并定位测量区域; 同时在偏振光显微镜下对完整斑块纤维帽进行定量分析, 采用Image-Pro Plus 6.0软件测定纤维帽厚度, 以同视野血管壁最大厚度为参照进行标准化换算, 结果以相对百分比(%)表示, 分析纤维帽厚度及胶原纤维排列情况。

1.3.7　免疫组化检测α-SMA与CD68水平

石蜡切片脱蜡至水后, 用3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶10 min, 经微波抗原修复并冷却后, 用正常山羊血清封闭20 min, 分别滴加α-SMA抗体(1∶200)或CD68抗体(1∶200)4 ℃过夜, 次日水洗后滴加生物素标

记的二抗,室温孵育30 min,再滴加链霉亲和素-过氧化物酶复合物,室温孵育30 min,DAB显色后用苏木精复染,水洗、脱水、透明、封片,在光学显微镜下观察并通过Image-Pro Plus软件定量分析。

1.3.8 活性氧检测

取主动脉组织用PBS清洗并剪成小块,加入ROS检测试剂盒裂解液冰上匀浆,4 ℃ 12 000 r/min离心10 min取上清,加入DCFH-DA探针(终浓度10 μmol/L)37 ℃避光孵育20 min,PBS洗涤3次后用荧光酶标仪中检测(激发波长488 nm,发射波长525 nm),计算ROS水平,以相对荧光单位(relative fluorescence units, RFU)表示结果。

1.3.9 Western blot

取主动脉组织加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液,冰上匀浆后4 ℃ 12 000 r/min离心15 min取上清,BCA法测定蛋白浓度,经SDS-PAGE电泳分离后转至PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭1 h,加入NLRP3、TNF-α、IL-6、SIRT3、Bcl-2、caspases-3、p53、SOD2、iNOS一抗(1∶1 000)4 ℃过夜,次日TBST洗膜后加入二抗(1∶5 000)室温孵育1 h,TBST洗膜后用ECL化学发光显色,ImageJ软件分析条带灰度值(以GAPDH为内参),计算目的蛋白相对表达量。

1.3.10 RT-qPCR

用RNA提取试剂盒提取主动脉组织总RNA,测定浓度和纯度后,取1 μg RNA逆转录合成cDNA,以cDNA为模板,按引物序列进行PCR扩增(95 ℃预变性30 s,95 ℃变性5 s,60 ℃退火30 s,40个循环),采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算基因相对表达量(以*GAPDH*为内参)。基因引物序列见表1。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计学软件进行数据分析。计量资料以$\bar{x} \pm s$表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),组间两两比较采用Tukey事后检验。设定主要结局指标为动脉粥样硬化斑块面积,次要结局指标包括血清血脂水平、斑块稳定性相关指标(胶原纤维含量、纤维帽厚度)、ROS水平及炎症、氧化应激、凋亡相关分子与MMP-7、Gα13的表达。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ator降低ApoE$^{-/-}$小鼠LDL-C、TC和TG浓度

结果见表2。与对照组相比,低剂量和高剂量Ator干预10周后,小鼠血清中LDL-C、TC和TG浓度均降低,且高

表 1 基因引物序列

Table 1 Gene primer sequences

Gene	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')	Product length/bp	Tm/℃
TNF-α	CCCTCACACTCACAAATGGAATG	TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC	136	60
IL-6	TAGTCCTTCCTACCCCAATTTCC	TTGGTCCTTAGCCACTCCTTCAT	118	60
iNOS	ATGGCCTTTGGAGACATCAA	CTCTTGGCTTGATGGTGGTT	152	59
SIRT3	CAGCAGAAGATGGCCTTCTG	GCTGCTGTTCTTCATCCACA	124	60
SOD2	CTCAAGGAGATGGCCTACTC	GCTGGTGGTCTTGATGGTGT	141	60
Bcl-2	GAGTACCTGAACCGGAGATGA	CAGGAGAAATCAAACAGAGGC	109	59
Caspase-3	TGTCATCTCGCTCTGGTACG	CGGGTGCGGTAGAGTAAGC	132	60
p53	TATCTCAGTCCGAGCGTTTG	CAGTGGTCATTCAGCCCTTT	115	59
MMP-7	CTGAGATGCTGCAAGCTGTC	CAGGCGAGTTCATGAGTCTG	128	60
Gα13	TGGCAAGGAGTACATCAAGGA	CTTGATGGTGTCGGTGATGT	146	60
GAPDH	GAAGGTGAAGGTCGGAGTC	GAAGATGGTGATGGGATTTC	104	60

TNF-α: tumor necrosis factor-alpha; *IL-6*: interleukin-6; *iNOS*: inducible nitric oxide synthase; *SIRT3*: sirtuin 3; *SOD2*: superoxide dismutase 2; *Caspases-3*: cysteine aspartic acid specific protease-3; *MMP-7*: matrix metallopeptidase 7; *Gα13*: guanine nucleotide-binding protein subunit α-13; *GAPDH*: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

表 2 Ator降低ApoE$^{-/-}$小鼠LDL-C、TC和TG浓度(n=10)

Table 2 Ator reduces the concentrations of LDL-C, TC, and TG in ApoE$^{-/-}$ mice (n = 10)

Group	GLU/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)
Control	8.52 ± 0.63	1.25 ± 0.12	7.86 ± 0.54	12.35 ± 1.02	2.36 ± 0.21
L-Ator	8..35 ± 1.02	1.28 ± 0.11	6.32 ± 0.42^{a}	10.24 ± 0.85^{a}	1.89 ± 0.17^{a}
H-Ator	8.12 ± 0.43	1.30 ± 0.10	4.85 ± 0.36$^{a, b}$	8.56 ± 0.7$^{a, b}$	1.45 ± 0.13$^{a, b}$

L-Ator: low-dose Ator; H-Ator: high-dose Ator; GLU: glucose; HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol; TC: total cholesterol; TG: triglycerides. ^{a} $P < 0.05$, vs. control group; ^{b} $P < 0.01$, vs. L-Ator group.

剂量组降低更为明显，差异有统计学意义（P<0.05）。GLU和HDL-C浓度在各组间差异无统计学意义。

2.2　Ator抑制ApoE$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化的形成

结果见图1。ORO染色结果显示，对照组小鼠主动脉内皮（endothelium, EN）脂质沉积明显，低剂量和高剂量Ator组脂质沉积减少，且高剂量组效果更明显，差异有统计学意义（P<0.001）。HE染色结果显示，对照组主动脉横截面斑块面积较大〔（1.62±0.15）mm^2〕，低剂量和高剂量Ator组斑块面积〔（1.13±0.06）mm^{2}和（0.83±0.07）mm^2〕明显减小，高剂量组效果更优，差异有统计学意义（P<0.001）。

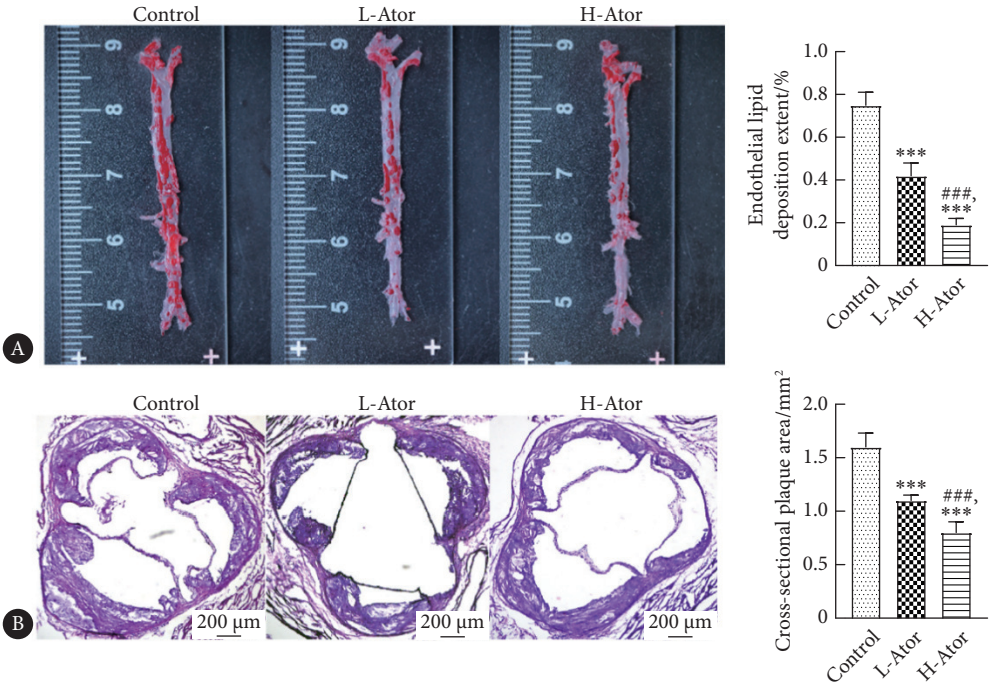

图 1　Ator抑制ApoE$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化的形成

Fig 1　Ator inhibits the formation of atherosclerosis in ApoE$^{-/-}$ mice

L-Ator: low-dose Ator; H-Ator: high-dose Ator. A, ORO staining on the aortic endothelium surface of mice in each group; B, HE staining of aortic cross-sections of mice in each group. *** P < 0.001, vs. control; ### P < 0.001, vs. L-Ator. n = 10.

2.3　Ator改善ApoE$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化斑块的稳定性

结果见图2。ORO染色显示，对照组斑块区域脂质沉积量最高，低剂量和高剂量Ator组脂质沉积量降低，高剂量组效果更明显，差异有统计学意义（P< 0.001）。Masson染色分析显示，对照组胶原纤维含量最低，低剂量和高剂量Ato组胶原纤维含量增加，高剂量组增加更明显，差异有统计学意义（P< 0.01）。天狼星红染色定量分析显示，对照组纤维帽厚度最小，低剂量和高剂量Ator组纤维帽厚度增加，偏振光显微镜下定量结果与光学显微镜观察一致，高剂量组纤维帽厚度提升效应更显著，差异有统计学意义（P< 0.001）。免疫组化结果显示，对照组α-SMA表达最低，CD68表达最高，低剂量和高剂量Ator组α-SMA表达增加，CD68表达减少，且高剂量组变化更明显，差异有统计学意义（P< 0.001）。

2.4　Ator降低ApoE$^{-/-}$小鼠动脉组织ROS水平及血清MDA水平

结果见图3。Ator可降低小鼠动脉组织中的ROS及血清中MDA水平，高剂量组降低效果更明显，差异有统计学意义（P< 0.001）。

2.5　Ator调控ApoE$^{-/-}$小鼠动脉组织炎症、氧化应激及凋亡相关蛋白表达

结果见图4和表3。Ator能下调炎症相关蛋白（NLRP3、TNF-α、IL-6）、氧化应激相关蛋白（iNOS）、促凋亡蛋白（caspases-3、p53）及MMP-7的表达，上调抗氧化蛋白（SIRT3、SOD2）、抗凋亡蛋白（Bcl-2）及Gα13的表达，高剂量组作用更突出，差异有统计学意义（P< 0.05）。上述蛋白的mRNA表达变化趋势与对应蛋白的表达变化一致，见表4。

3　讨论

AS作为心血管疾病的核心病理基础，其发生发展是脂质代谢紊乱、慢性炎症、氧化应激及细胞凋亡等多因素复杂交织的结果[11-12]。本研究利用ApoE^{-}/$^{-}$小鼠高脂饮食模型，系统探究了Ator在经典调脂作用之外的多效性

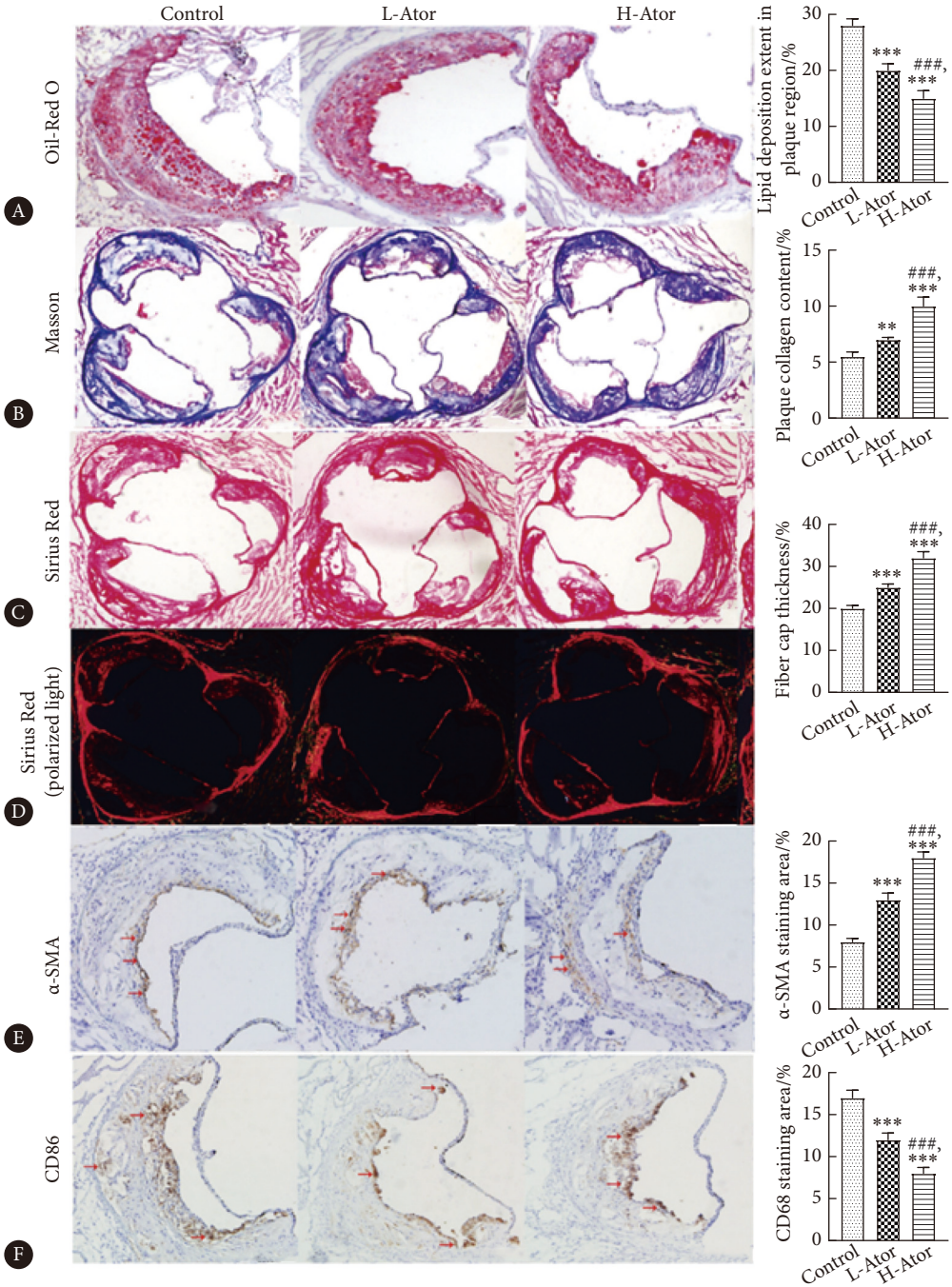

图 2 Ator改善ApoE$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化斑块的稳定性

Fig 2 Ator enhances the stability of atherosclerotic plaques in ApoE$^{-/-}$ mice

α-SMA: alpha smooth muscle actin; L-Ator: low-dose Ator; H-Ator: high-dose Ator. A, ORO staining (lipid deposition) (× 200); B, Masson staining (collagen fibers) (× 200); C, Sirius Red staining (fibrous cap thickness) (× 200); D, Sirius Red staining observed under a polarized light microscope (fibrous cap thickness) (× 200); E, immunohistochemical detection of α-SMA levels (marker protein of smooth muscle cells) (× 200), the red arrow indicates α-SMA positive-expressing smooth muscle cells; F, immunohistochemical detection of CD68 levels (marker protein of plaque macrophages) (× 200), the red arrow indicates CD68 positive-expressing macrophages. $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, vs. control; $^{###}P < 0.001$, vs. L-Ator. $n = 10$.

分子机制，为理解其临床获益提供了更全面的视角。

本研究证实Ator在模型小鼠中可降低LDL-C、TC和TG水平，这与已知的他汀类药物通过抑制HMG-CoA还原酶减少肝内胆固醇合成的核心机制相符[13-14]。平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)的增殖、迁移及其产生的胶原纤维是维持纤维帽结构完整性的关键因素，而巨噬细胞的持续浸润则促进脂质核心扩大和基质降解，最终导致斑块易损[15-16]。研究显示，Ator上调SMC标志物α-SMA的表达并促进胶原沉积(Masson和Sirius Red染色)，同时下调巨噬细胞标志物CD68的表达，表明其能有效增

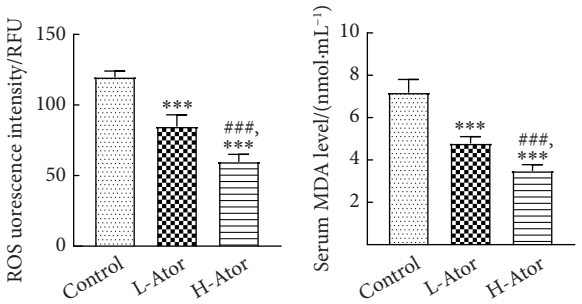

图 3 Ator降低ApoE$^{-/-}$小鼠动脉组织ROS和血清MDA水平

Fig 3 Ator decreases the levels of ROS in the arterial tissues and MDA in the serum of ApoE$^{-/-}$ mice

ROS: reactive oxygen species; RFU: relative fluorescence units; MDA: malondialdehyde; L-Ator: low-dose Ator; H-Ator: high-dose Ator. $^{***}P < 0.001$, vs. control; $^{###}P < 0.001$, vs. L-Ator. $n = 10$.

强斑块稳定性的关键细胞成分(SMC和胶原)并抑制破坏性成分(巨噬细胞浸润)。这种对SMC和巨噬细胞的双向调控,从细胞和基质层面重塑斑块结构,延缓其进展,为临床研究中他汀类药物显著降低心血管事件风险提供了有力的分子机制解释[17]。本研究发现Ator抑制了促炎因子(TNF-α、IL-6)及炎症小体关键蛋白NLRP3的表达。NLRP3炎症小体的激活是血管炎症级联放大的关键节点,通过促进IL-1β/IL-18等强效促炎因子的成熟与释放,驱动局部和全身炎症反应[18]。Ator对该通路的抑制,直接阻断了炎症信号的级联放大,是其发挥抗AS炎症效应的重要途径。在抗氧化应激方面,Ator有效降低了动脉组织ROS及血清脂质过氧化标志物MDA水平,并上调了

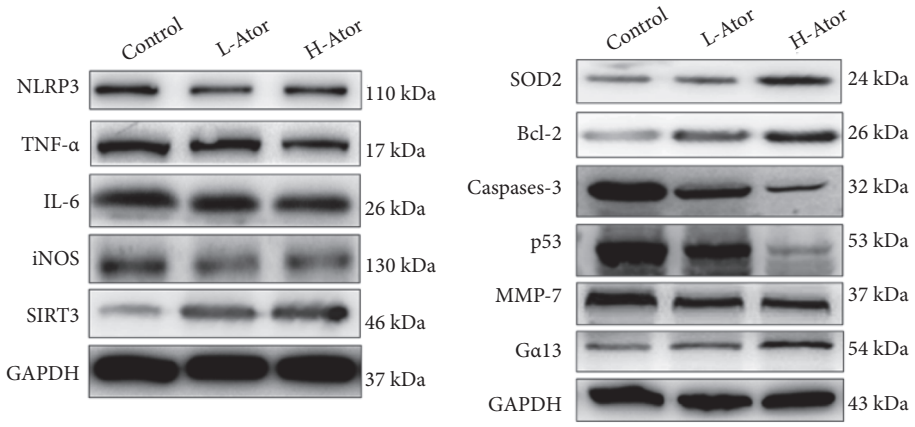

图 4 Western blot检测各组小鼠炎症、氧化应激和凋亡相关蛋白水平

Fig 4 Western blot was employed to detect the levels of proteins associated with inflammation, oxidative stress, and apoptosis in each group of mice

L-Ator: low-dose Ator; H-Ator: high-dose Ator. The other abbreviations are given in the footnote to Table 1.

表 3　Ator调控ApoE$^{-/-}$小鼠动脉组织炎症、氧化应激及凋亡相关蛋白表达

Table 3　Ator modulates the expression of proteins associated with inflammation, oxidative stress, and apoptosis in the arterial tissues of ApoE$^{-/-}$ mice

Protein type	Protein	Control (n = 10)	L-Ator (n = 10)	H-Ator (n = 10)
Inflammation-related	NLRP3	1.25 ± 0.11	0.89 ± 0.09^{a}	0.56 ± 0.07$^{a, b}$
	TNF-α	1.38 ± 0.12	0.97 ± 0.08^{a}	0.61 ± 0.06$^{a, b}$
	IL-6	1.42 ± 0.13	1.02 ± 0.09^{a}	0.65 ± 0.07$^{a, b}$
Oxidation-related	iNOS	1.15 ± 0.10	0.82 ± 0.07^{a}	0.53 ± 0.05$^{a, b}$
	SIRT3	0.48 ± 0.05	0.76 ± 0.06^{a}	1.09 ± 0.09$^{a, b}$
	SOD2	0.52 ± 0.05	0.81 ± 0.07^{a}	1.13 ± 0.10$^{a, b}$
Apoptosis-related	Bcl-2	0.35 ± 0.05	0.69 ± 0.07^{a}	1.04 ± 0.10$^{a, b}$
	Caspases-3	1.20 ± 0.11	0.85 ± 0.08^{a}	0.58 ± 0.06$^{a, b}$
	p53	1.18 ± 0.10	0.83 ± 0.07^{a}	0.55 ± 0.05$^{a, b}$
Matrix metalloproteinase	MMP-7	1.28 ± 0.11	0.85 ± 0.08^{a}	0.52 ± 0.06$^{a, b}$
G protein subunit	Gα13	0.22 ± 0.05	0.37 ± 0.07^{a}	0.84 ± 0.10$^{a, b}$

L-Ator: low-dose Ator; H-Ator: high-dose Ator. The other abbreviations are given in the footnote to Table 1. $^{a}P < 0.05$, vs. control; $^{b}P < 0.01$, vs. L-Ator group.

表 4 Ator调控ApoE$^{-/-}$小鼠动脉组织炎症、氧化应激及凋亡相关基因mRNA表达

Table 4 Ator modulates the mRNA expression of genes associated with inflammation, oxidative stress, and apoptosis in the arterial tissues of ApoE$^{-/-}$ mice

Gene type	Gene	Control (n = 10)	L-Ator (n = 10)	H-Ator (n = 10)
Inflammation-related	*TNF-α*	1.32 ± 0.13	0.95 ± 0.08[a]	0.62 ± 0.06[a, b]
	IL-6	1.35 ± 0.12	0.98 ± 0.07[a]	0.64 ± 0.06[a, b]
Oxidation-related	*iNOS*	1.21 ± 0.11	0.86 ± 0.08[a]	0.57 ± 0.05[a, b]
	SIRT3	0.51 ± 0.05	0.87 ± 0.07[a]	1.23 ± 0.11[a, b]
	SOD2	0.53 ± 0.05	0.89 ± 0.08[a]	1.25 ± 0.12[a, b]
Apoptosis-related	*Bcl-2*	0.41 ± 0.05	0.81 ± 0.07[a]	1.05 ± 0.10[a, b]
	Caspases-3	1.22 ± 0.12	0.88 ± 0.08[a]	0.61 ± 0.06[a, b]
	p53	1.20 ± 0.11	0.86 ± 0.07[a]	0.59 ± 0.05[a, b]
Matrix metalloproteinase	*MMP-7*	1.35 ± 0.12	0.92 ± 0.09[a]	0.61 ± 0.07[a, b]
G protein subunit	*Gα13*	0.48 ± 0.05	0.83 ± 0.07[a]	1.20 ± 0.11[a, b]

L-Ator: low-dose Ator; H-Ator: high-dose Ator. The other abbreviations are given in the footnote to Table 1. [a] $P < 0.05$, vs. control; [b] $P < 0.01$, vs. L-Ator group.

SIRT3及其关键下游效应分子SOD2的表达。SIRT3作为线粒体稳态的核心调节因子,通过激活SOD2增强超氧阴离子的清除能力,是细胞抵御氧化损伤的关键防线。本研究结果进一步支持SIRT3/SOD2通路作为他汀类药物非调脂性血管保护作用的重要靶点,尤其在氧化应激状态显著的AS患者(如糖尿病患者)中可能发挥关键保护作用[19-20]。关于抗凋亡效应,Ator降低了促凋亡蛋白caspase-3和p53的表达,同时提升了抗凋亡蛋白Bcl-2的水平。血管内皮细胞和SMC的过度凋亡是斑块坏死核心形成和扩大的直接驱动力,破坏斑块稳定性。Ator通过调节凋亡相关蛋白的表达平衡,有助于维持血管细胞的稳态,减少促AS的细胞死亡事件。氧化应激、炎症反应与细胞凋亡在AS进程中并非孤立存在,而是形成相互促进的恶性循环。本研究结果表明,Ator能够协同作用于这3条关键通路(抗炎、抗氧化、抗凋亡),形成一个综合性的保护网络,从多层面、多靶点协同抑制AS的进展,这可能是其显著临床效益的重要基础。

本研究还揭示了Ator作用的新维度:对MMP-7和Gα13的调控。MMP-7作为基质金属蛋白酶家族成员,不仅直接降解细胞外基质(如胶原、弹性蛋白)削弱纤维帽,还能通过切割炎症因子前体(如pro-TNF-α)放大炎症信号。Ator剂量依赖性地抑制MMP-7表达,实现了在稳定斑块基质和阻断炎症放大两个层面的“双重抑制”[21-22]。另一方面,Gα13在维持内皮细胞连接完整性和屏障功能中起关键作用,其功能缺失可导致内皮通透性增加,促进单核/巨噬细胞浸润。本研究发现Ator上调Gα13的表达,提示其可能通过增强Gα13介导的内皮屏障保护作用,抑制炎症细胞的血管内皮下迁移,从而减轻斑块内炎症浸润[23]。MMP-7和Gα13的发现,为他汀类药物的多效性机制谱增添了新的重要成员,并可能为干预易损斑块(尤其在高强度他汀治疗策略下)提供潜在的、更具针对性的分子靶点。

本研究存在一定的局限性。首先,部分次要结局指标的结果仅适用于探索性分析,研究中存在潜在的假阳性风险。其次,尽管已证实Ator可调控MMP-7/Gα13轴,但二者是否直接相互作用尚未明确,其上游调控机制(如SIRT3是否通过去乙酰化调控Gα13活性等)亦有待进一步阐明。未来研究可结合基因敲除/过表达模型、细胞共培养等实验技术,深入解析MMP-7/Gα13在动脉粥样硬化中的作用通路,并探索他汀类药物与其他降脂或抗炎药物联合应用的协同效应。综上所述,本研究系统阐释了阿托伐他汀抗动脉粥样硬化的多效性机制:在调脂基础上,通过抑制“炎症-氧化应激-凋亡”轴,并靶向调控MMP-7和Gα13表达,协同增强斑块稳定性,为临床强化降脂治疗提供了实验依据。

* * *

作者贡献声明 卢晓负责论文构思、可视化、初稿写作和审读与编辑写作,郑蓉负责数据审编、调查研究和软件,陈杨负责正式分析、研究方法和验证,冯莹负责经费获取、研究项目管理、提供资源和监督指导。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution LU Xiao is responsible for conceptualization, visualization, writing--original draft, and writing--review and editing. ZHENG Rong is responsible for data curation, investigation, and software. CHEN Yang is responsible for formal analysis, methodology, and validation. FENG Ying is responsible for funding acquisition, project administration, resources, and supervision. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published

and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests　All authors declare no competing interests.

参　考　文　献

[1] 王辉, 王书健. 不同性别动脉粥样硬化患者的冠状动脉CTA特征差异研究. 影像科学与光化学, 2025, 43(2): 55-59. doi: 10.7517/issn.1674-0475.2025.02.08.
WANG H, WANG S J. Study on the differences of coronary artery CTA characteristics in patients with atherosclerosis of different sexes. Imaging Sci Photochem, 2025, 43(2): 55-59. doi: 10.7517/issn.1674-0475.2025.02.08.

[2] 王巧, 葛红玥, 符精, 等. 冠状动脉粥样硬化性心脏病经皮冠状动脉介入治疗术后患者自我管理行为的潜在类别特征及影响因素分析. 中国医刊, 2025, 60(2): 138-143. doi: 10.3969/j.issn.1008-1070.2025.02.004.
WANG Q, GE H Y, FU J, *et al*. Potential categorical characteristics and infl uencing factors of self-management behavior in patients with coronary heart disease after PCI surgery. Chin J Med, 2025, 60(2): 138-143. doi: 10.3969/j.issn.1008-1070.2025.02.004.

[3] 毕鹏翔, 李超, 张枫, 等. 大动脉粥样硬化型脑卒中患者颈动脉粥样硬化斑块特征及危险因素分析. 中国临床医生杂志, 2025, 53(2): 170-173. doi: 10.3969/j.issn.2095-8552.2025.02.009.

[4] SHI Z, HAN S. Personalized statin therapy: targeting metabolic processes to modulate the therapeutic and adverse effects of statins. Heliyon, 2025, 11(1): e41629. doi: 10.1016/j.heliyon.2025.e41629.

[5] 黄晶晶, 王青青, 刘杨. 他汀类药物抗病毒作用研究进展. 中国免疫学杂志, 2024, 40(9): 1975-1980. doi: 10.3969/j.issn.1000-484X.2024.09.030.
HUANG J J, WANG Q Q, LIU Y. Research progress on the antiviral effect of statins. Chin J Immunol, 2024, 40(9): 1975-1980. doi: 10.3969/j.issn.1000-484X.2024.09.030.

[6] ARMYRA K, EKTESABI A M, TSOPORIS J N, *et al*. Atorvastatin attenuates the expression of damage-associated molecular patterns and inflammatory cytokines in patients with psoriasis. Pharmacol Rep, 2025, 77(3): 829-839. doi: 10.1007/s43440-025-00710-z.

[7] DH H S, SULTANA R, PRABHU A, *et al*. Biomedicine and pharmacotherapeutic effectiveness of combinatorial atorvastatin and quercetin on diabetic nephropathy: an *in vitro* study. Biomed Pharmacother, 2024, 174: 116533. doi: 10.1016/j.biopha.2024.116533.

[8] ALSHAMMARI F, ALHARBI A, ALSHAMMARI R A. Atorvastatin-associated acute pancreatitis: a case report. Am J Case Rep, 2025, 26: e945772. doi: 10.12659/AJCR.945772.

[9] LAW Y Y, TRAN N B, SONG C Y, *et al*. Antcin K inhibits chondrosarcoma motility by reducing MMP-7 expression via downregulation of the PI3K, Akt, mTOR and NF-kappaB signaling pathway. Mol Med Rep, 2025, 32(1): 180. doi: 10.3892/mmr.2025.13545.

[10] REED E B, SITIKOV A, SHIN K, *et al*. Galpha12 and Galpha13 proteins are required for transforming growth factor-beta-induced myofibroblast differentiation. Biochem J, 2024, 481(24): 1937-1948. doi: 10.1042/BCJ20240317.

[11] 高玲, 刘岩, 李娜, 等. 济宁市社区居民动脉粥样硬化性心血管疾病风险感知的准确性及其影响因素分析. 中华现代护理杂志, 2025, 31(7): 890-896. doi: 10.3760/cma.j.cn115682-20240614-03363.
GAO L, LIU Y, LI N, *et al*. Accuracy and influencing factors of risk perception for atherosclerotic cardiovascular disease among community residents in Jining. Chin J Mod Nurs, 2025, 31(7): 890-896. doi: 10.3760/cma.j.cn115682-20240614-03363.

[12] HERBERS O, HOLTKE C, USAI M V, *et al*. Influence of atherosclerosis-associated risk factors on expression of endothelin receptors in advanced atherosclerosis. Int J Mol Sci, 2025, 26(5): 2310. doi: 10.3390/ijms26052310.

[13] 汤明欣, 王晓林, 李炫飞. 他汀类药物在结直肠癌防治中的研究进展. 实用医学杂志, 2024, 40(14): 2041-2046. doi: 10.3969/j.issn.1006-5725.2024.14.024.
TANG M X, WANG X L, LI X F. Research progress of statins in the prevention and treatment of colorectal cancer. J Pract Med, 2024, 40(14): 2041-2046. doi: 10.3969/j.issn.1006-5725.2024.14.024.

[14] BAY B, TANNER R, GAO M, *et al*. Residual cholesterol and inflammatory risk in statin-treated patients undergoing percutaneous coronary interventiondagger. Eur Heart J, 2025, 46(32): 3167-3177. doi: 10.1093/eurheartj/ehaf196.

[15] RODRIGUEZ-FERNANDEZ M A, TRISTAN-FLORES F E, CASIQUE-AGUIRRE D, *et al*. Virtual screening and molecular dynamics of cytokine-drug complexes for atherosclerosis therapy. Int J Mol Sci, 2025, 26(7): 2931. doi: 10.3390/ijms26072931.

[16] HO K T, CHU F Y, LIN Y K, *et al*. Interleukin-4 ameliorates macrophage lipid stress through promoting cholesterol efflux and lipid homeostasis. Cytokine, 2025, 188: 156869. doi: 10.1016/j.cyto.2025.156869.

[17] HE J, WEI L, TAN S, *et al*. Macrophage RAGE deficiency prevents myocardial fibrosis by repressing autophagy-mediated macrophage alternative activation. FASEB J, 2023, 37(11): e23259. doi: 10.1096/fj.202300173RR.

[18] 许朴丽, 袁龙宇, 吕洪雪. 基于NLRP3/Caspase-1/IL-1β信号通路探讨心脉康方对动脉粥样硬化小鼠血管内皮细胞焦亡的影响. 广州中医药大学学报, 2025, 42(1): 198-204. doi: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2025.01.029.
XU P L, YUAN L Y, LÜ H X. Exploration of the effect of Xinmaikang Prescription on vascular endothelial cell pyroptosis in mice with atherosclerosis based on NLRP3/Caspase-1/IL-1 signaling pathway. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2025, 42(1): 198-204. doi: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2025.01.029.

[19] ZHANG D, LIANG Q, JIANG J, *et al*. SIRT3 mitigates dry eye disease through the activation of autophagy by deacetylation of FOXO1. Exp Eye Res, 2025, 254: 110328. doi: 10.1016/j.exer.2025.110328.

[20] HONG W, WEI Z, QIU Z, *et al*. Atorvastatin promotes bone formation in aged apoE(-/-) mice through the Sirt1-Runx2 axis. J Orthop Surg Res, 2020, 15(1): 303. doi: 10.1186/s13018-020-01841-0.

[21] 曾令聪, 吴凯, 朱冰瑶, 等. 除风益损汤对兔角膜损伤后自噬相关因子及TGF-β1、MMP-2表达的影响. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(2): 212-219. doi: 10.3969/j.issn.1674-070X.2025.02.004.
ZENG L C, WU K, ZHU B Y, *et al*. Effects of Chufeng Yisun Decoction on autophagy related factors andexpressions of TGF-β1 and MMP-2 after corneal injury in rabbits. J Hunan Univ Chin Med, 2025, 45(2): 212-219. doi: 10.3969/j.issn.1674-070X.2025.02.004.

[22] LIU J, HUANG S, HOU Y, *et al*. FXR promotes clear cell renal cell carcinoma carcinogenesis via MMP-7-regulated EMT pathway. Sci Rep, 2024, 14(1): 29411. doi: 10.1038/s41598-024-80368-4.

[23] YANG X, HE F, PORTER D F, *et al*. The adhesion GPCR ADGRL2 engages Galpha13 to enable epidermal differentiation. bioRxiv, 2025: 2025.02.19.639154. doi: 10.1101/2025.02.19.639154.

（2025 – 07 – 01收稿, 2026 – 02 – 09修回）

编辑　余　琳

开放获取　本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议（CC BY-NC 4.0），详细信息请访问https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/。

OPEN ACCESS　This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.

© 2026《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*