

## 姜黄素通过调控摄取与排泄相关蛋白双向调节小肠上皮细胞胆固醇代谢

赵谭军, 彭展鸿, 杨冬梅, 李浩民, 卜兰兰\*

湖南中医药大学医学院, 血管生物学与转化医学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208

**摘要:** 目的 基于体内与体外实验探讨姜黄素调控肠上皮细胞胆固醇代谢的潜在靶点及作用机制。方法 采用高脂喂养 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠构建高胆固醇模型, 给予姜黄素干预后, 检测血清脂质水平; 采用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察小肠组织病理变化; Western blotting 检测小肠组织低密度脂蛋白受体 (low-density lipoprotein receptor, LDLR)、NPC1 样细胞内胆固醇转运蛋白 1 (NPC1 like intracellular cholesterol transporter 1, NPC1L1)、三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G8 (adenosine triphosphate-binding cassette transporters G8, ABCG8)、ABCG5 和肝脏 X 受体  $\alpha$  (liver X receptor  $\alpha$ , LXR $\alpha$ ) 蛋白表达。采用胆固醇束诱导大鼠小肠隐窝上皮细胞 (intestinal epithelial cells-6, IEC-6) 构建肠上皮细胞高胆固醇体外模型, 给予姜黄素或 LXR $\alpha$  抑制剂 GSK2033 干预后, 采用油红 O 染色和免疫荧光检测脂质水平; Transwell 实验检测胆固醇转运; Western blotting 和免疫荧光检测胆固醇代谢相关蛋白表达。**结果** 体内实验表明, 100、200 mg/kg 姜黄素对高脂喂养的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠小肠组织结构无损伤, 同时可降低小鼠体质量和血清脂质水平 ( $P < 0.05$ ), 并调控胆固醇摄取与小肠经肠胆固醇排泄 (transintestinal cholesterol excretion, TICE) 途径相关蛋白的表达 ( $P < 0.05, 0.01$ )。体外实验蛋白谱的调控结果与体内模型一致, 且姜黄素能够降低高胆固醇环境下肠上皮细胞脂质水平并抑制胆固醇转运 ( $P < 0.05, 0.01$ )。进一步使用 LXR $\alpha$  抑制剂 GSK2033 干预后, 细胞内脂质水平及 TICE 途径相关蛋白 ABCG5、ABCG8 和 NPC1L1 的表达均出现显著逆转 ( $P < 0.05$ )。**结论** 肠上皮细胞 LXR $\alpha$  是姜黄素促进胆固醇排泄、抑制胆固醇摄取, 进而维持机体胆固醇稳态的一个重要靶点, 且其作用可能还涉及其他调控通路。

**关键词:** 姜黄素; IEC-6 细胞; 小肠; 胆固醇代谢; LXR $\alpha$

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)06-2133-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.06.012

## Curcumin regulates cholesterol metabolism in small intestinal epithelial cells by regulating uptake and excretion related proteins

ZHAO Tanjun, PENG Zhanhong, YANG Dongmei, LI Haomin, BU Lanlan

Hunan Provincial Key Laboratory of Vascular Biology and Translational Medicine, School of Medical, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

**Abstract: Objective** To investigate the potential targets and mechanism by which curcumin regulates cholesterol metabolism in intestinal epithelial cells based on both *in vivo* and *in vitro* experiments. **Methods** A high-cholesterol model was established in ApoE<sup>-/-</sup> mice fed a high-fat diet, followed by intervention with curcumin, lipid levels in serum were measured. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe pathological changes in small intestine tissue. Western blotting was used to detect the protein expressions of low-density lipoprotein receptor (LDLR), NPC1 like intracellular cholesterol transporter 1 (NPC1L1), adenosine triphosphate binding cassette transporters G8 (ABCG8), ABCG5 and liver X receptor  $\alpha$  (LXR $\alpha$ ) in small intestine tissue. An *in vitro* high-cholesterol model was constructed in rat intestinal epithelial cells-6 (IEC-6) using cholesterol micelle stimulation. After intervention with curcumin or LXR $\alpha$  inhibitor GSK2033, lipid levels were detected by oil red O staining and immunofluorescence. Transwell experiment was used to detect cholesterol transport. Western blotting and immunofluorescence were used to detect

收稿日期: 2025-11-29

基金项目: 湖南省自然科学基金项目 (2024JJ5302); 血管生物学与转化医学湖南省重点实验室开放基金项目 (2025XG002); 湖南中医药大学 2025 本科科研创新基金项目 (2025BKSI20); 湖南中医药大学校级科研项目 (自然科学类) (Z2023XJYB12); 湖南中医药大学 2024 年国家级大学生创新创业训练计划项目 (S202410541107); 2025 年度国家级大学生创新训练计划项目 (202510541026)

作者简介: 赵谭军, 男, 硕士研究生, 研究方向为心血管药理学。E-mail: zxbingo0310@163.com

\*通信作者: 卜兰兰, 女, 博士, 副教授, 研究方向为心血管系统疾病机制及药效学研究。E-mail: lanlan\_bu@hnuucm.edu.cn

cholesterol metabolism-related protein expressions. **Results** *In vivo* experiments showed that 100, 200 mg/kg curcumin caused no damage to small intestine tissue structure of ApoE<sup>-/-</sup> mice fed with high-fat diet, and could reduce the body weight and lipid levels in serum of mice ( $P < 0.05$ ), regulate the expressions of proteins related to cholesterol uptake and intestinal cholesterol excretion (TICE) pathway ( $P < 0.05, 0.01$ ). The regulation results of protein profile *in vitro* experiments were consistent with the *in vivo* model, and curcumin could reduce the lipid levels of intestinal epithelial cells in a high cholesterol environment and inhibit cholesterol transport ( $P < 0.05, 0.01$ ). After further intervention with LXRA inhibitor GSK2033, there was a significant reversal in intracellular lipid levels and expressions of TICE pathway related proteins such as ABCG5, ABCG8 and NPC1L1 ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Intestinal epithelial LXRA is an important target of curcumin for promoting cholesterol efflux and inhibiting cholesterol uptake, thereby contributing to the maintenance of systemic cholesterol homeostasis, and its effects may also involve other regulatory pathways.

**Key words:** curcumin; IEC-6 cells; small intestine; cholesterol metabolism; LXRA

胆固醇作为一种脂质分子,在维持细胞膜结构完整性、调节细胞信号传导及生物活性分子的前体中发挥着关键作用。体内胆固醇的代谢与稳态对于生命活动至关重要,其失衡与动脉粥样硬化、非酒精性脂肪肝等多种代谢相关疾病密切相关<sup>[1]</sup>。机体通过精细调节胆固醇的合成、吸收及排泄维持其稳态。胆固醇的来源包括内源性合成和外源性摄取,其中外源性摄取主要依赖小肠上皮细胞对膳食胆固醇的吸收。胆固醇清除主要通过胆固醇逆转运和经肠胆固醇排泄(transintestinal cholesterol excretion, TICE)途径完成。TICE是指胆固醇通过小肠上皮细胞主动转运至肠腔并排出体外的过程<sup>[2]</sup>。因此,小肠上皮细胞在胆固醇水平的吸收与排泄中居于核心地位,对维持体内胆固醇稳态具有重要作用。

姜黄素是从姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的根茎中提取的多酚类化合物,具有广泛的药理活性<sup>[3-4]</sup>,尤其在抗癌、抗炎、抗氧化及抗心血管疾病等方面显示出显著效果。然而,姜黄素口服吸收效果差。研究表明,姜黄素经胃肠道难以吸收入血,成人 *po* 姜黄素的最高安全剂量是 12 g/d,但在该剂量下的血药浓度仅为 50 ng/mL<sup>[5]</sup>。在一项临床试验中,19 例受试者每日 *po* 4 g 姜黄素,连续服用 30 d,只有 2 例受试者的血清中能够检测到微量姜黄素,平均血药浓度仅 (3.8±1.3) ng/mL<sup>[6]</sup>。综上,姜黄素即使口服生物利用度较低,但其主要药效可能与在小肠局部作用有关,尤其可能影响肠上皮细胞的胆固醇代谢。基于此,本研究拟采用高脂喂养 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠构建体内高胆固醇模型,并利用胆固醇胶束干预大鼠小肠隐窝上皮细胞(intestinal epithelial cells-6, IEC-6)构建体外高胆固醇模型,从体内外 2 个层面探讨姜黄素调控肠上皮细胞胆固醇代谢的作用及机制。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级雄性 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠 40 只, SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 10 只, 7 周龄, 体质量 (25±3) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 生产许可证号 SCXK(京)2021-0006。小鼠饲养于湖南普瑞玛药物研究中心有限公司屏障环境实验室 D 区, 室温 20~24 °C, 相对湿度 (55±5)%, 12 h 明暗循环, 自由进食饮水。动物实验经湖南省药物安全评价研究中心实验动物管理(伦理)委员会批准[批准号 IACUC-2022(5)017]。

### 1.2 细胞

IEC-6 细胞(货号 ZQ0783)由中国科学院上海细胞库提供。

### 1.3 药品与试剂

姜黄素(批号 C7090, 质量分数≥95%, 用于动物给药)、姜黄素(批号 SC8670, 质量分数≥98%, 用于细胞给药)、油红 O 染色试剂盒(G1262-4)购自北京索莱宝科技有限公司; 高脂饲料(批号 TP26300-125)购自南通特洛菲饲料科技有限公司; 肝脏 X 受体 α (liver X receptor α, LXRA) 拮抗剂 GSK2033(批号 HY-108688, 质量分数为 98.22%)、BODIPY 荧光染色(批号 HY-W090090)购自美国 MCE 公司; DMEM 高糖完全培养基(批号 ZQ-121)、DMEM 基础培养基(批号 09122)购自上海中乔新舟生物科技有限公司; 胆固醇胶束为实验室制备合成; 细胞活力检测试剂盒(批号 C0037)购自碧云天生物技术有限公司; 苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒(批号 WH1144)购自上海威奥生物科技有限公司; BODIPY-Cholesterol(批号 GC42964)购自美国 GlpBio 公司; 磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G5(adenosine triphosphate-binding cassette transporters G5, ABCG5)抗体(批号 27722-1-AP)、

甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (批号 10494-1-AP)、 $\beta$ -actin 抗体 (批号 20536-1-AP)、低密度脂蛋白受体 (low-density lipoprotein receptor, LDLR) 抗体 (批号 10785-1-AP)、山羊抗兔二抗 (批号 SA00001-2) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; ABCG8 抗体 (批号 A01482-2) 购自武汉博士德生物工程有限公司; NPC1 样细胞内胆固醇转运蛋白 1 (NPC1 like intracellular cholesterol transporter 1, NPC1L1) 抗体 (批号 PA5-116672) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; LXR $\alpha$  抗体 (批号 ab41902)、DAPI 染色液 (批号 ab228549) 购自英国 Abcam 公司; 总胆固醇 (total cholesterol, TC) 试剂盒 (批号 220213)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 试剂盒 (批号 220322) 购自南京建成生物工程研究所。

#### 1.4 仪器

ix 73 型倒置荧光显微镜 (日本 Olympus 公司); EG1150H+C 型组织包埋机、RM2235 型石蜡切片机 (德国 Leica 公司); FC 型酶标仪、Forma 3 系列 CO<sub>2</sub> 培养箱、EVOS FL auto 全自动荧光倒置荧光显微镜 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ChemiDoc XRS+ 化学发光成像系统、Mini-PROTEAN Tetra 蛋白电泳系统 (美国 Bio-Rad 公司); LABOSPECT003 型全自动生化分析仪 (日本日立高新技术公司)。

## 2 方法

### 2.1 体内实验

**2.1.1 分组、造模、给药及取材** ApoE<sup>-/-</sup>小鼠适应性饲养 1 周后, 按照体质量分层随机分为对照组、模型组和姜黄素低、高剂量 (100、200 mg/kg) 组, 每组 10 只。另取 10 只 C57BL/6J 小鼠作为空白组。空白组和对照组给予普通维持饲料, 其余组给予高脂饲料喂养, 各给药组 ig 相应药物 (10 mL/kg), 空白组、对照组和模型组 ig 等体积的 0.5% 羧甲基纤维素钠, 1 次/d, 连续给药 12 周。给药结束后, 小鼠禁食不禁水 12 h, 异氟烷吸入麻醉后, 摘取眼球取血, 摘取肠道, 分离小肠 (包括空肠和回肠), 一部分置于 -80 °C 冻存, 另一部分置于 4% 多聚甲醛中固定; 血清置于 -80 °C 保存。

**2.1.2 血清脂质水平的检测** 取小鼠血清 200  $\mu$ L, 采用酶法、免疫比浊法运用全自动生化分析仪测定血清中总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂

蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 的水平。

**2.1.3 小肠 HE 染色** 取于 4% 多聚甲醛中固定的小肠组织, 依次进行脱水、透明和包埋后, 连续切薄片 (5~8  $\mu$ m), 制作空肠和回肠组织石蜡切片, 60 °C 烤片 12 h, 二甲苯脱蜡 3 次, 每次 20 min; 100%、100%、95%、85% 和 75% 乙醇逐级水化, 每级 5 min; 蒸馏水浸洗 5 min, 苏木素染色 1~10 min, 蒸馏水冲洗; PBS 返蓝, 伊红染色 1~5 min, 蒸馏水冲洗; 95%~100% 乙醇梯度脱水, 每级 5 min; 二甲苯透明 2 次, 每次 10 min; 中性树脂胶封片, 自然干燥 48 h 以上, 于显微镜下观察并拍照。

**2.1.4 Western blotting 检测小肠组织 LDLR、NPC1L1、ABCG8、ABCG5 和 LXR $\alpha$  蛋白表达** 取小肠组织, 加入裂解液提取蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 加入 5% 脱脂牛奶于室温封闭 3 h, TBST 洗涤后加入一抗, 4 °C 孵育过夜; 洗涤后加入二抗, 室温孵育 2 h; 洗涤后加入 ECL 化学发光试剂显影, 使用 Image-Pro Plus 软件分析蛋白条带灰度值。

### 2.2 体外实验

**2.2.1 细胞培养** IEC-6 细胞用 DMEM 高糖完全培养基, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱中常规培养。

**2.2.2 CCK-8 法检测细胞存活率** 将对数生长期的 IEC-6 细胞以  $5 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板中, 每孔加入 100  $\mu$ L 含不同浓度 (6.25、12.50、25.00、50.00、100.00  $\mu$ mol/L) 姜黄素的培养基, 另设置对照组加入不含药物的培养基, 每组设置 5 个复孔, 置于培养箱中培养 24 h 或 48 h。弃去培养基, 用培养基浸洗 2 次, 每孔加入 100  $\mu$ L 培养基和 10  $\mu$ L CCK-8 试剂, 于培养箱中孵育 1~2 h 后, 使用酶标仪在 450 nm 处测定各孔的吸光度 (A) 值, 计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$$

### 2.2.3 分组与给药

(1) 考察姜黄素对体外高胆固醇模型的作用: 设置对照组、模型组和姜黄素低、中、高剂量 (6.25、12.50、25.00  $\mu$ mol/L) 组。模型组和给药组加入用 DMEM 基础培养基配制的胆固醇胶束 (100  $\mu$ mol/L) 处理细胞, 构建肠上皮细胞高胆固醇模型<sup>[7]</sup>。给药组再加入不同浓度的姜黄素处理 24 h, 对照组加入不含药物的培养基。

(2) 考察 LXR $\alpha$  拮抗剂 GSK2033 对姜黄素作用的影响: 设置对照组、模型组、姜黄素 (12.5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组、GSK2033 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 组和姜黄素 + GSK2033 组。模型组和给药组加入用 DMEM 基础培养基配制的胆固醇胶束 (100  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理细胞, 给药组再加入姜黄素或 GSK2033 处理 24 h, 对照组加入不含药物的培养基。

**2.2.4 油红 O 染色检测脂滴数量** 按“2.2.3”项下方法进行分组和给药, 干预 24 h 后, 加入 ORO Fixative 固定液固定细胞; 加入 1 mL 60% 异丙醇浸洗, 加入油红 O 染液 (ORO Stain A : ORO Stain B = 3 : 2) 染色, 洗涤至孔内无红色剩余; 加入 Mayer 苏木素染色液复染, 洗涤; 加入油红 O 染液缓冲液, 加入蒸馏水覆盖细胞并拍照。使用 Image-Pro Plus 软件分析脂滴与整个图像面积的比值。

**2.2.5 BODIPY 荧光标记法检测脂质表达** 按“2.2.3”项下方法进行分组和给药, 干预 24 h 后, PBS 洗涤, 加入多聚甲醛于室温固定 30 min; 每孔加入经 PBS 配制的 2  $\mu\text{mol/L}$  BODIPY 染色液, 于 37  $^{\circ}\text{C}$  细胞培养箱中孵育 15 min; 弃去染色液, PBS 洗涤; 用 DAPI 复染核 5 min, PBS 洗涤, 于显微镜下观察并拍照, 使用 Image-Pro Plus 软件分析荧光强度。

**2.2.6 细胞胆固醇转运实验** 采用 6 孔 Transwell 板, 上室培养 IEC-6 细胞 14~16 d, 形成细胞单层模拟肠道上皮屏障。使用跨膜电阻 (transepithelial electrical resistance, TEER) 测定评价细胞单层完整性, 按“2.2.3”项下方法进行分组和给药, 干预 24 h 后, 将 Transwell 板从培养箱中取出, 用 37  $^{\circ}\text{C}$  预热的 HBSS 轻轻润洗上、下室 2 遍。上室加入 37  $^{\circ}\text{C}$  预热的 BODIPY-Cholesterol (10  $\mu\text{mol/L}$ , 以 HBSS 配制), 2 h 后在下室取样, 加入黑色 96 孔板 (100  $\mu\text{L}$ /孔), 在激发波长 482 nm、发射波长 515 nm 下, 使用荧光酶标仪检测荧光强度。

**2.2.7 免疫荧光检测 LXR $\alpha$ 、NPC1L1 和 ABCG8 蛋白的定位与表达** 按“2.2.3”项下方法进行分组和给药, 干预 24 h 后, PBS 洗涤 3 次, 用 4% 多聚甲醛固定 30 min; PBS 洗涤 3 次, 加入 Triton X-100, 室温通透 10 min; PBS 洗涤 3 次, 用免疫染色封闭液封闭 60 min, 吸走多余的牛血清白蛋白; 加入 100  $\mu\text{L}$  一抗, 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜; 回收一抗, PBS 浸洗 3 次, 加入 100  $\mu\text{L}$  二抗 (1 : 300), 室温避光孵育 60 min; PBS 洗涤 3 次, 加入 DAPI (水 :

DAPI = 1 : 1) 复染核 15 min, PBS 洗涤 3 次; 滴加抗淬灭剂 10  $\mu\text{L}$ , 扣片, 正面朝下盖在载玻片上, 于荧光显微镜下观察并拍照, 使用 Image-Pro Plus 软件分析荧光强度。

**2.2.8 Western blotting 检测 LDLR、NPC1L1、ABCG8、ABCG5 和 LXR $\alpha$  蛋白表达** 按“2.2.3”项下方法进行分组和给药, 干预 24 h 后, PBS 洗涤, 收集细胞, 加入裂解液提取蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。按“2.1.4”项下方法检测相关蛋白表达。

## 2.3 统计学分析

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 GraphPad Prism 9.0 和 SPSS 26.0 软件进行统计分析。两组间数据分布的正态性和方差齐性分别用 Kolmogorov-Smirnov 和 Levene 检验确定。组间均数比较采用  $t$  检验; 多组间均数比较采用单因素方差分析, 若组间存在差异, 则进一步采用 SNK- $q$  检验进行两两比较。体重数据采用重复测量设计资料的方差分析。

## 3 结果

### 3.1 姜黄素对高胆固醇小鼠体质量的影响

如图 1 所示, 与空白组和对照组比较, 模型组小鼠体质量增加; 与模型组比较, 姜黄素各剂量组小鼠体质量降低。

### 3.2 姜黄素对高胆固醇小鼠血清脂质水平的影响

如图 2 所示, 与空白组和对照组比较, 模型组小鼠血清中 TC 和 LDL-C 水平显著升高 ( $P < 0.05$ ,  $0.001$ ); 与模型组比较, 姜黄素高剂量组小鼠血清中 TC 水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), 姜黄素各剂量组小鼠血清中 LDL-C 水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。

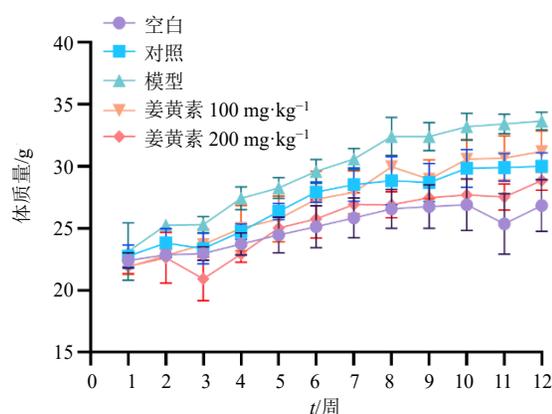
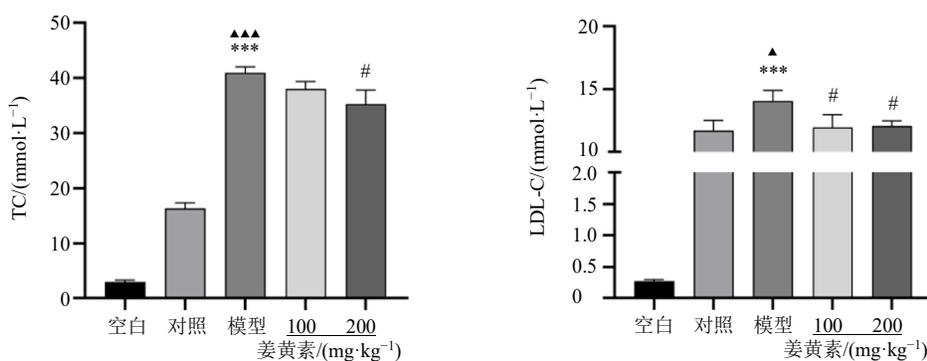


图 1 姜黄素对高胆固醇小鼠体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig. 1 Effect of curcumin on body weight of high-cholesterol mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )



与空白组比较: \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ ; 与对照组比较:  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$   $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ ; 与模型组比较:  $\#P < 0.05$   $\#\#P < 0.01$ , 图 4 同。  
 \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs blank group;  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$   $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$  vs control group;  $\#P < 0.05$   $\#\#P < 0.01$  vs model group, same as Fig. 4.

图 2 姜黄素对高胆固醇小鼠血清脂质水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 2 Effect of curcumin on lipid levels in serum of high-cholesterol mice ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

### 3.3 姜黄素对高胆固醇小鼠小肠组织病理变化的影响

如图 3 所示, 模型组小鼠回肠的肠黏膜上皮细胞排列稍显紊乱, 其余各组小鼠小肠(空肠、回肠)肠道 4 层结构清晰、完整, 固有层无明显炎细胞浸润, 上皮细胞结构完整, 无坏死或脱落。

### 3.4 姜黄素对高胆固醇小鼠小肠组织胆固醇代谢相关蛋白表达的影响

如图 4 所示, 与空白组和对照组比较, 模型组小鼠小肠组织 NPC1L1 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ ), LDLR、ABCG8、ABCG5 和 LXR $\alpha$  蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 姜黄素各剂量组小鼠小肠组织 NPC1L1 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), LDLR、ABCG8 和 LXR $\alpha$  蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ 、0.01), 姜黄素高剂量

组 ABCG5 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。

### 3.5 姜黄素对 IEC-6 细胞活力的影响

如图 5 所示, 50、100  $\mu\text{mol/L}$  姜黄素干预 IEC-6 细胞 24 h, 细胞存活率显著降低 ( $P < 0.01$ 、0.001); 100  $\mu\text{mol/L}$  姜黄素干预 IEC-6 细胞 48 h, 细胞存活率显著降低 ( $P < 0.01$ ); 6.25、12.50、25.00  $\mu\text{mol/L}$  姜黄素干预 IEC-6 细胞 24、48 h, 对细胞均无毒性作用。因此, 选择 6.25、12.50、25.00  $\mu\text{mol/L}$  3 个浓度的姜黄素处理细胞 24 h 进行后续实验。

### 3.6 姜黄素对胆固醇胶束诱导的 IEC-6 细胞胆固醇代谢相关蛋白表达的影响

如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组 NPC1L1 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), LDLR、ABCG8、ABCG5 和 LXR $\alpha$  蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、0.01); 与模型组比较, 姜黄素中、高剂量组 NPC1L1

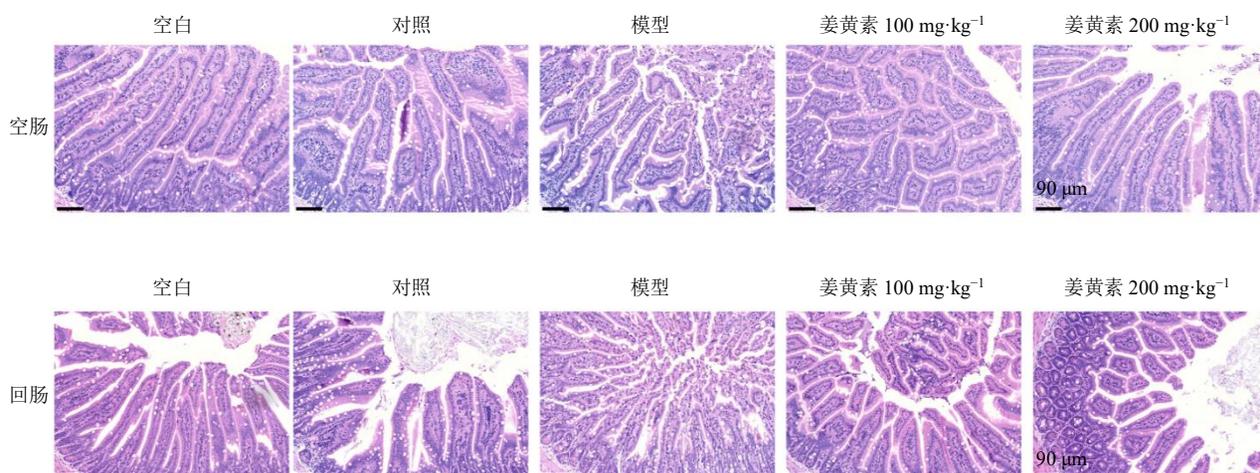


图 3 姜黄素对高胆固醇小鼠小肠组织病理变化的影响 (HE,  $\times 200$ )

Fig. 3 Effect of curcumin on pathological changes in small intestines of high-cholesterol mice (HE,  $\times 200$ )

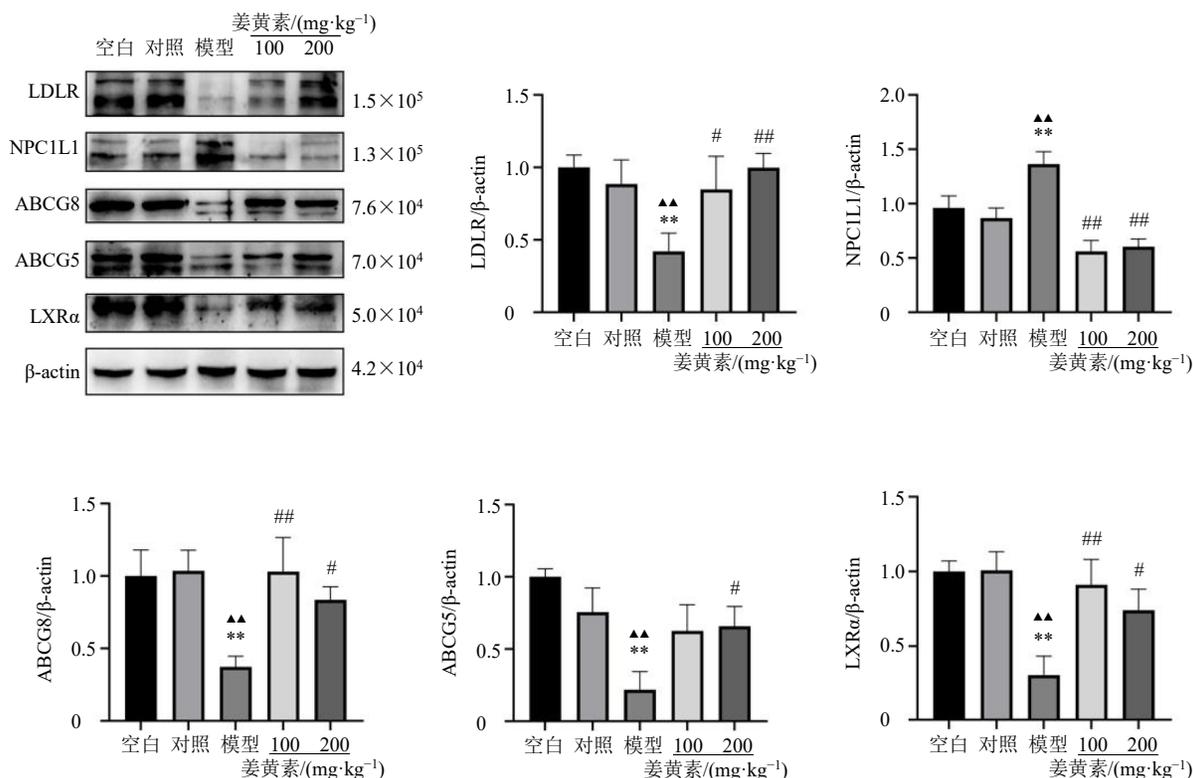
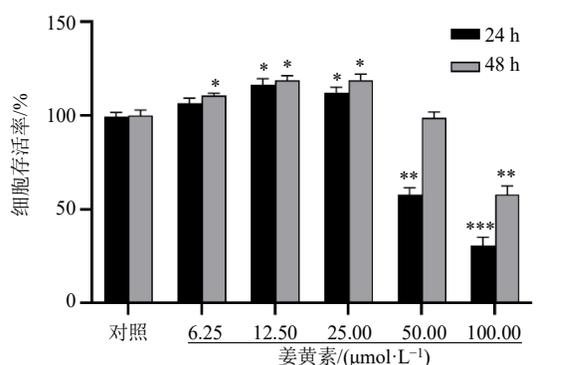


图 4 姜黄素对高胆固醇小鼠小肠组织胆固醇代谢相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 4 Effect of curcumin on expressions of cholesterol-metabolism-related proteins in small intestine of high-cholesterol mice ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



与相同时间点的对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group at same time point.

图 5 姜黄素对 IEC-6 细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 5 Effect of curcumin on viability of IEC-6 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 姜黄素各剂量组 LDLR 和 LXRα 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 姜黄素低、中剂量组 ABCG8 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), 姜黄素中剂量组 ABCG5 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ )。

### 3.7 姜黄素对胆固醇胶束诱导的 IEC-6 细胞内脂质的影响

如图 7 所示, 与对照组比较, 模型组细胞内脂滴数量和荧光强度显著增加 ( $P < 0.001$ ); 与模型组比较, 姜黄素各剂量组细胞内脂滴数量和荧光强度显著减少 ( $P < 0.05, 0.01$ )。

### 3.8 姜黄素对胆固醇胶束诱导的 IEC-6 细胞胆固醇转运的影响

如图 8 所示, 与对照组比较, 模型组胆固醇转运显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 姜黄素高剂量组胆固醇转运显著降低 ( $P < 0.01$ )。

### 3.9 GSK2033 干预后姜黄素对 IEC-6 细胞内脂质的影响

如图 9 所示, 与对照组比较, 模型组细胞内脂滴数量和荧光强度显著增加 ( $P < 0.001$ ); 与模型组比较, 姜黄素组细胞内脂滴数量和荧光强度显著减少 ( $P < 0.05$ ), GSK2033 组细胞内脂滴数量和荧光强度显著增加 ( $P < 0.05$ ); 给予 LXRα 抑制剂 GSK2033 干预后, 与姜黄素组比较, 姜黄素+GSK2033 组细胞内脂滴数量和荧光强度显著增加 ( $P < 0.05$ )。

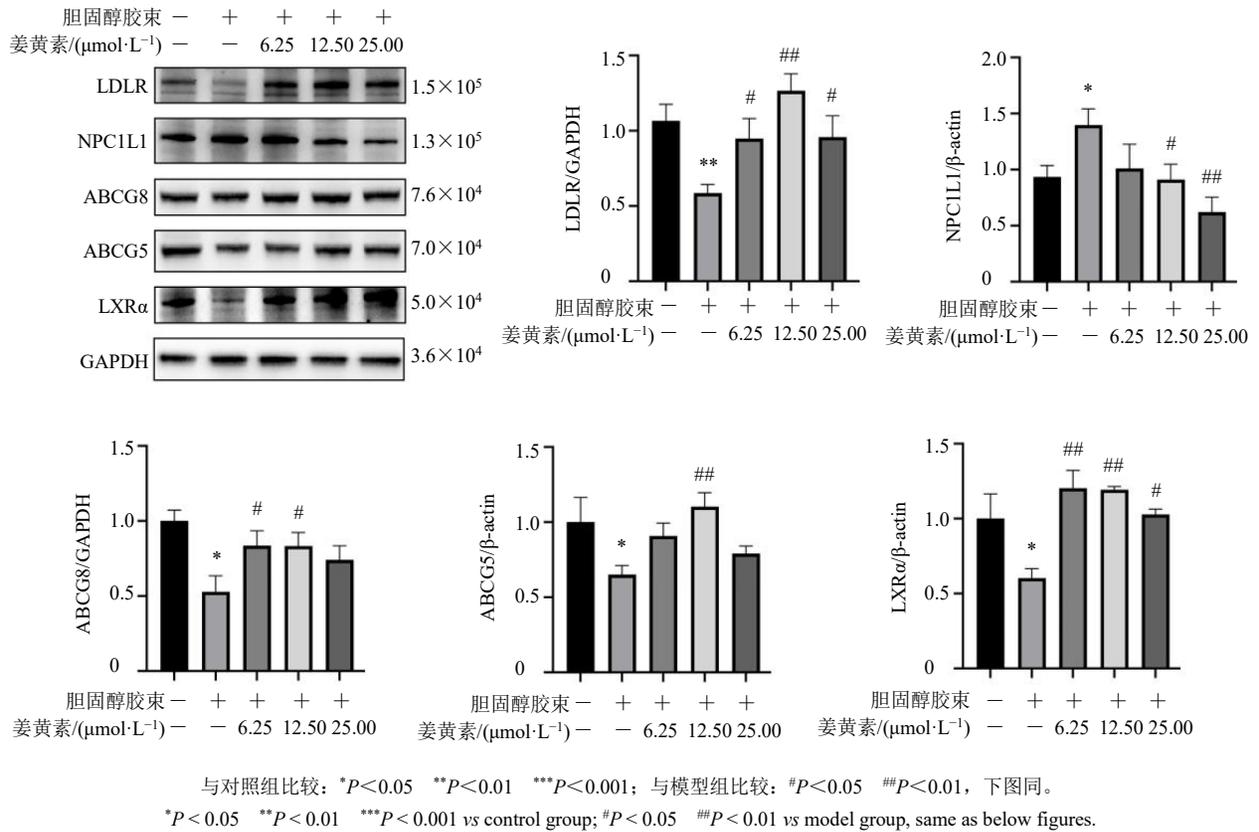
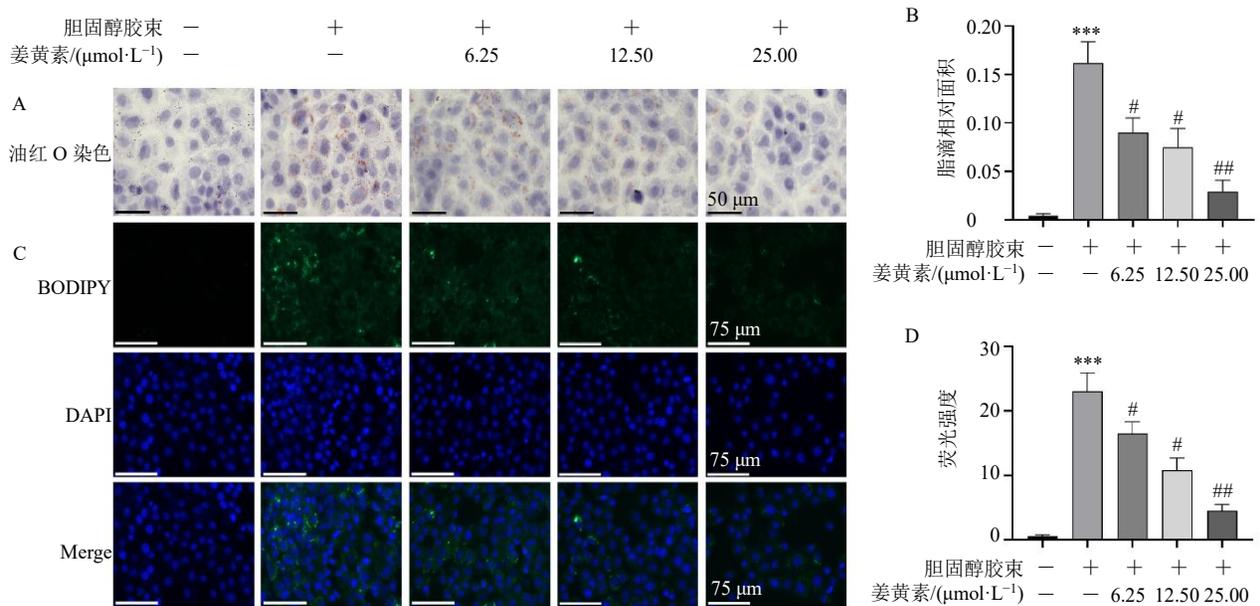


图 6 姜黄素对胆固醇胶束诱导的 IEC-6 细胞胆固醇代谢相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Fig. 6 Effect of curcumin on expressions of cholesterol-metabolism-related proteins in cholesterol micelle-induced IEC-6 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



A、B-油红 O 染色检测脂滴相对面积 ( $\times 1200$ ); C、D-BODIPY 染色检测脂质荧光强度 ( $\times 200$ )。  
A, B-relative area of lipid droplets detected by oil red O staining ( $\times 1200$ ); C, D-lipid fluorescence intensity detected by BODIPY staining ( $\times 200$ ).

图 7 姜黄素对胆固醇胶束诱导的 IEC-6 细胞内脂质的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Fig. 7 Effect of curcumin on intracellular lipids in cholesterol micelle-induced IEC-6 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

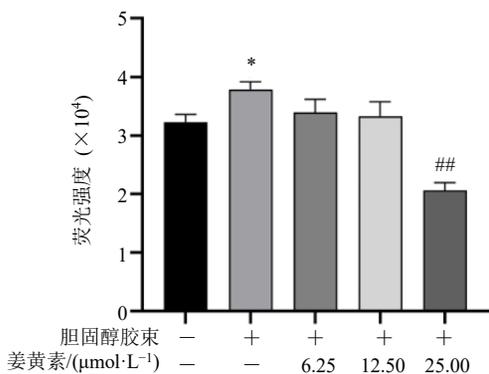


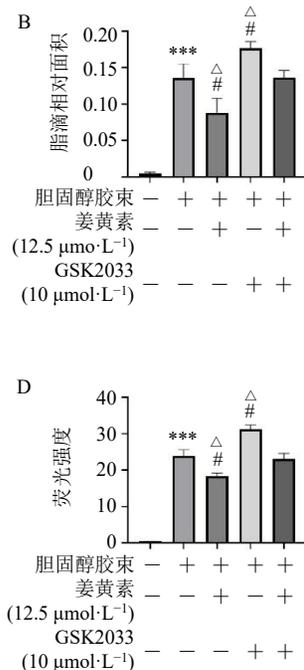
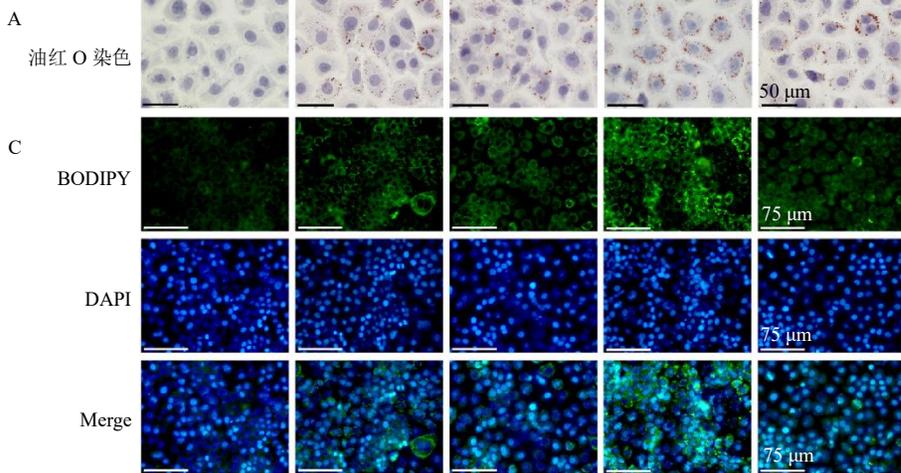
图 8 姜黄素对胆固醇胶束诱导的 IEC-6 细胞胆固醇转运的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 8 Effect of curcumin on cholesterol transport in cholesterol micelle-induced IEC-6 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

### 3.10 GSK2033 干预后姜黄素对 IEC-6 细胞内胆固醇代谢相关蛋白表达的影响

如图 10-A 所示, 与对照组比较, 模型组 NPC1L1 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), ABCG8、ABCG5 和 LXR $\alpha$  蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 姜黄素组 NPC1L1 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), ABCG8、ABCG5 和 LXR $\alpha$  蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ); GSK2033 组 NPC1L1 蛋白表达水平升高, ABCG8、ABCG5 和 LXR $\alpha$  蛋白表达水平降低, 其中 LXR $\alpha$  蛋白表达具有统计学差异 ( $P < 0.05$ ); 给予 LXR $\alpha$  抑制剂 GSK2033 干预后, 与姜黄素组比较, 姜黄素 + GSK2033 组 ABCG5 和 LXR $\alpha$  蛋白表达水平显著降

胆固醇胶束	-	+	+	+	+
姜黄素 (12.5 μmol·L <sup>-1</sup> )	-	-	+	-	+
GSK2033 (10 μmol·L <sup>-1</sup> )	-	-	-	+	+



A、B-油红 O 染色检测脂滴相对面积 ( $\times 1200$ ); C、D-BODIPY 染色检测脂质荧光强度 ( $\times 200$ ); 与姜黄素 + GSK2033 组比较:  $\Delta P < 0.05$ , 图 10 同。

A, B-relative area of lipid droplets detected by oil red O staining ( $\times 1200$ ); C, D-lipid fluorescence intensity detected by BODIPY staining ( $\times 200$ );  $\Delta P < 0.05$  vs curcumin + GSK2033 group, same as Fig. 10.

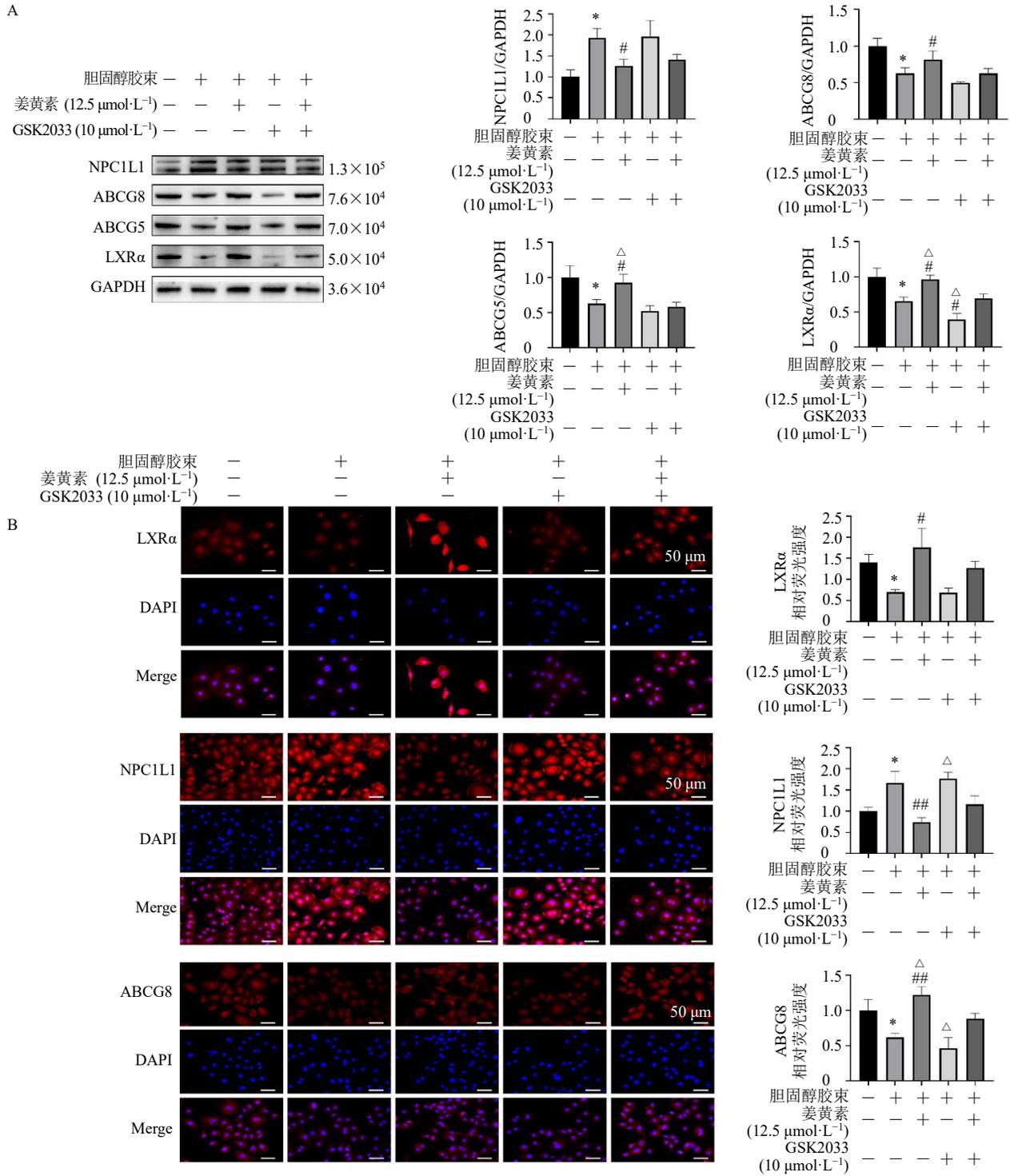
图 9 GSK2033 干预后姜黄素对 IEC-6 细胞内脂质的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 9 Effect of curcumin on intracellular lipids in IEC-6 cells after GSK2033 intervention ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

低 ( $P < 0.05$ ), NPC1L1 蛋白表达水平呈升高趋势, ABCG8 蛋白表达水平呈降低趋势。

免疫荧光染色结果与 Western blotting 结果一致, 如图 10-B 所示, 与对照组比较, 模型组 NPC1L1 蛋白表达显著升高 ( $P < 0.05$ ), ABCG8 和 LXR $\alpha$  蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 姜黄

素组 NPC1L1 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.01$ ), ABCG8 和 LXR $\alpha$  蛋白表达显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 给予 LXR $\alpha$  抑制剂 GSK2033 干预后, 与姜黄素组比较, 姜黄素 + GSK2033 组 ABCG8 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05$ ), LXR $\alpha$  蛋白表达呈降低趋势, NPC1L1 蛋白表达呈升高趋势。



A-Western blotting 检测 LXRα 抑制剂 GSK2033 干预后姜黄素对 IEC-6 细胞内胆固醇代谢相关蛋白表达的影响; B-免疫荧光检测 LXRα 抑制剂 GSK2033 干预后姜黄素对 IEC-6 细胞内胆固醇代谢相关蛋白表达的影响。

A-effect of curcumin on expressions of cholesterol metabolism-related proteins in IEC-6 cells after intervention with LXRα inhibitor GSK2033 detected by Western blotting; B-effect of curcumin on expressions of cholesterol metabolism-related proteins in IEC-6 cells after intervention with LXRα inhibitor GSK2033 detected by immunofluorescence.

**图 10 GSK2033 干预后姜黄素对 IEC-6 细胞内胆固醇代谢相关蛋白表达的影响 (×200;  $\bar{x} \pm s, n = 3$ )**  
**Fig. 10 Effect of curcumin on expressions of cholesterol-metabolism-related proteins in IEC-6 cells after GSK2033 intervention (× 200;  $\bar{x} \pm s, n = 3$ )**

## 4 讨论

胆固醇在体内过度沉积是多种心血管及代谢性疾病的重要致病因素<sup>[8]</sup>。虽然他汀类药物已在临床广泛应用,但其潜在不良反应仍限制了更大范围的使用<sup>[9]</sup>。因此,安全性更高的天然产物逐渐成为研究热点。姜黄素作为来源广泛的天然活性成分,虽然其口服生物利用度较低,但在肠道内具有较高的局部暴露浓度,使其能够直接作用于肠上皮细胞。鉴于肠道在胆固醇稳态中既负责胆固醇摄取,也承担跨肠外排等关键功能,调控肠上皮胆固醇转运过程对于维持体内胆固醇平衡具有关键意义。基于此,本研究利用体内外模型系统评估姜黄素对肠上皮细胞胆固醇摄取及 TICE 途径的影响,以期阐明姜黄素在维持胆固醇稳态中的作用靶点及潜在机制。

研究表明,姜黄素能够降低体内胆固醇含量,维持体内胆固醇平衡<sup>[10]</sup>。然而,由于姜黄素口服难以吸收入血以达到发挥生物学效应的血药浓度,其易大量聚集于小肠。基于此,本研究首先采用 HE 染色验证了高浓度姜黄素在小肠组织中不会对其生理结构造成损伤。因此,探索姜黄素通过作用于肠上皮细胞维持体内胆固醇稳态的生理学效应具有重要的意义。小肠组织维持体内胆固醇稳态涉及肠上皮细胞对胆固醇的摄取与排泄。研究表明,胆固醇摄取与肠上皮细胞顶端的 NPC1L1 相关,而胆固醇排泄与 TICE 途径相关。2010年, van der Velde 等<sup>[11]</sup>发现野生型小鼠中 TICE 途径占粪便中性甾醇排泄的 70%。此外,在人体正常生理情况下, TICE 途径排泄的胆固醇占粪便胆固醇总排泄量的 35%<sup>[12]</sup>。TICE 指由血直接经肠道分泌和排出血浆脂蛋白来源的胆固醇,包括肝源性含载脂蛋白 B 的脂蛋白被肠上皮细胞基底膜侧的 LDLR 吸收、内化,最终通过肠上皮细胞顶端侧的 ABCG5/G8 排泄至肠腔<sup>[13]</sup>。本研究考察了姜黄素对高脂饮食诱导的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠体质量、血清脂质水平和小肠组织相关蛋白表达的影响,结果显示,高脂饮食小鼠体质量、血清 TC 和 LDL-C 水平均升高,小肠组织中 NPC1L1 表达显著升高,而 ABCG5、ABCG8 及 LDLR 表达均明显下降,提示高脂喂养使小肠上皮细胞胆固醇转运呈现“摄取增加-外排受阻”的趋势,从而促进胆固醇在小鼠体内蓄积。给予姜黄素干预后,小鼠体质量、血清 TC 和 LDL-C 水平均下降,且 NPC1L1 表达显著降低,LDLR、ABCG8、ABCG5 表达升高,

表明姜黄素一方面抑制胆固醇摄取,另一方面促进通过 TICE 途径的胆固醇排出,从而整体重塑了小鼠体内的胆固醇动向。细胞实验结果与体内模型一致,进一步支持姜黄素的作用靶点位于小肠上皮细胞,并确认 TICE 途径是姜黄素发挥作用的关键环节。在胆固醇胶束诱导的 IEC-6 细胞高胆固醇模型中,姜黄素能够降低细胞内脂滴水平并抑制胆固醇从上室(顶端侧)向下室(基底侧)的转运,进一步证实姜黄素能够减少肠上皮细胞对胆固醇的吸收和向血管侧的转运。

LXR $\alpha$  是胆固醇代谢调控中的关键核受体,因其促进胆固醇清除、减轻炎症反应及抗动脉粥样硬化作用而具有重要生物学意义<sup>[14]</sup>。研究表明, LXR $\alpha$  能调节肠上皮细胞对胆固醇的处理过程:一方面,它能抑制胆固醇吸收相关分子 NPC1L1 的表达,从源头上减少肠道胆固醇摄取<sup>[15]</sup>;另一方面, ABCG5 与 ABCG8 是其典型的下游转录靶基因,两者通常以异源二聚体形式发挥作用,将细胞内胆固醇排向肠腔,并最终经粪便排出体外<sup>[16]</sup>。本研究中,无论体内还是体外模型,姜黄素均显著上调 LXR $\alpha$  表达,并伴随 ABCG5、ABCG8 表达的同时升高及 NPC1L1 表达下降。在使用 LXR $\alpha$  抑制剂 GSK2033 后,姜黄素降低细胞内脂滴水平的效应明显减弱,同时 ABCG5、ABCG8 表达的上调与 NPC1L1 表达的抑制作用均受到干扰,提示姜黄素对 TICE 途径及细胞胆固醇稳态的调节至少部分依赖 LXR $\alpha$ 。上述结果不仅明确了姜黄素的关键作用靶点,也为其通过增强胆固醇外排、抑制吸收并降低细胞胆固醇负荷提供了机制性依据。

本研究基于高脂饮食诱导的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠模型及胆固醇胶束构建的肠上皮细胞高胆固醇模型,系统分析了姜黄素对肠上皮细胞胆固醇摄取与排泄相关蛋白表达谱的调控特征。结果显示,姜黄素通过调节肠上皮细胞中 LXR $\alpha$  的表达,下调胆固醇摄取相关蛋白表达,同时上调胆固醇排泄相关蛋白表达,从而改善胆固醇代谢失衡。这一发现为姜黄素作为维护体内胆固醇稳态的潜在候选物提供了新的实验依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Luo J, Yang H Y, Song B L. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(4): 225-245.

- [2] Garçon D, Berger J M, Cariou B, *et al.* Transintestinal cholesterol excretion in health and disease [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2022, 24(3): 153-160.
- [3] Luo Y, Zhu L, Ren Z Y, *et al.* *Curcumae Rhizoma*: An anti-cancer traditional Chinese medicine [J]. *Chin Herb Med*, 2025, 17(3): 428-447.
- [4] 董朋涛, 王耀献, 李晓羽, 等. 姜黄素对糖尿病肾病的治疗作用及相关机制研究进展 [J]. *中草药*, 2025, 56(5): 1830-1839.
- [5] Hu B, Liu X X, Zhang C L, *et al.* Food macromolecule based nanodelivery systems for enhancing the bioavailability of polyphenols [J]. *J Food Drug Anal*, 2017, 25(1): 3-15.
- [6] Carroll R E, Benya R V, Turgeon D K, *et al.* Phase IIa clinical trial of curcumin for the prevention of colorectal neoplasia [J]. *Cancer Prev Res*, 2011, 4(3): 354-364.
- [7] Simmonds W J, Hofmann A F, Theodor E. Absorption of cholesterol from a micellar solution: Intestinal perfusion studies in man [J]. *J Clin Invest*, 1967, 46(5): 874-890.
- [8] Zhang L Q, Shi Y Q, Liang B, *et al.* An overview of the cholesterol metabolism and its proinflammatory role in the development of MASLD [J]. *Hepatol Commun*, 2024, 8(5): e0434.
- [9] Chang G R, Cheng W Y, Fan H C, *et al.* Kefir peptides attenuate atherosclerotic vascular calcification and osteoporosis in atherogenic diet-fed ApoE<sup>-/-</sup> knockout mice [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1158812.
- [10] Zou J, Zhang S S, Li P Y, *et al.* Supplementation with curcumin inhibits intestinal cholesterol absorption and prevents atherosclerosis in high-fat diet-fed apolipoprotein E knockout mice [J]. *Nutr Res*, 2018, 56: 32-40.
- [11] van der Velde A E, Brufau G, Groen A K. Transintestinal cholesterol efflux [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2010, 21(3): 167-171.
- [12] Le May C, Berger J M, Lespine A, *et al.* Transintestinal cholesterol excretion is an active metabolic process modulated by PCSK9 and statin involving ABCB1 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(7): 1484-1493.
- [13] Temel R E, Brown J M. Biliary and nonbiliary contributions to reverse cholesterol transport [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2012, 23(2): 85-90.
- [14] Wang B, Tontonoz P. Liver X receptors in lipid signalling and membrane homeostasis [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(8): 452-463.
- [15] Duval C, Touche V, Tailleux A, *et al.* Niemann-Pick C1 like 1 gene expression is down-regulated by LXR activators in the intestine [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340(4): 1259-1263.
- [16] Li X, Huang X L, Song K Y, *et al.* Qingre Sanjie Formula alleviates atherosclerosis by promoting LXR- $\alpha$ /ABCG5/G8-mediated reverse cholesterol transport and bile acid synthesis [J]. *Phytomedicine*, 2025, 142: 156691.

[责任编辑 李亚楠]