

DOI: 10.12287/j.issn.2096-8965.20250411

线粒体通透性转换孔异常开放在动脉粥样硬化性 内皮细胞衰老和损伤中的作用

古丽加玛力·尼亚孜, 孙龙飞, 廖军*

(新疆医科大学附属中医医院, 新疆 乌鲁木齐 830000)

【摘要】目的 动脉粥样硬化 (AS) 是以血管内皮损伤、炎症以及内皮细胞衰老为特点的衰老相关疾病。近年来越来越多的研究显示, 线粒体通透性转换孔 (mPTP) 异常不仅导致严重线粒体功能障碍, 而且在细胞衰老过程中发挥着关键作用。AS 发生发展过程中, 血管内皮细胞衰老与 mPTP 的关系以及作用仍不够清楚。本研究旨在阐明 mPTP 在血管内皮细胞衰老中的作用, 明确靶向干预 mPTP 是否有效减轻血管内皮细胞衰老和损伤。**方法** 利用脂多糖 (LPS) 诱导人冠状动脉内皮细胞 (HCAEC) 构建 AS 相关的体外内皮损伤模型。通过 β -半乳糖苷酶 (SA- β -gal) 衰老染色、Western blotting、mPTP 荧光染色、ATP 含量测定及实时定量 PCR 等技术, 系统评估内皮细胞的衰老状态及线粒体功能变化。在此基础上, 进一步通过抑制 mPTP 的开放, 探讨其对线粒体功能、内皮细胞衰老及相关炎症反应的调控作用。**结果** 在体外诱导的 HCAEC 损伤模型中, HCAEC 线粒体 mPTP 异常开放, 细胞 ATP 水平显著下降, 释放到细胞质中的 mtDNA 显著增加。同时, SA- β -gal 衰老染色显著增加, 细胞衰老相关的蛋白 P16、P21、P53 水平显著上调, 衰老相关分泌表型标记因子 IL-6 显著上调。在体外诱导的 HCAEC 损伤模型中, 利用 mPTP 抑制剂 VBIT-4 抑制 mPTP 后, 细胞线粒体膜电位和 ATP 水平恢复, 抑制 mPTP 逆转了由 LPS 诱导的细胞衰老相关的蛋白 P16、P21、P53 以及 IL-6 水平的上调。**结论** 在 AS 的病理过程中, 血管内皮细胞 mPTP 异常, 其通过影响内皮细胞衰老进而影响内皮细胞功能, 抑制血管内皮细胞 mPTP 开放可以减轻内皮细胞衰老, 降低内皮细胞炎症水平, 改善线粒体功能。这为 AS 的防治提供更多的诊疗策略。

【关键词】 动脉粥样硬化; 内皮细胞衰老; 线粒体通透性转换孔

中图分类号: R543

文献标识码: A

文章编号: 2096-8965 (2025) 04-0077-07

Role of abnormal mitochondrial permeability transition pore opening in endothelial cell senescence and injury in atherosclerosis

Gulijiamali Niyazi, Sun Longfei, Liao Jun*

(College of Traditional Chinese Medicine of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China)

【 Abstract 】 Objective Atherosclerosis (AS) is an aging-related disease characterized by vascular endothelial injury, inflammation, and endothelial cell senescence. Recent studies increasingly indicate that abnormal opening of the mitochondrial permeability transition pore (mPTP) not only causes severe mitochondrial dysfunction but also plays a critical role in cellular senescence. However, the relationship and role of mPTP in vascular endothelial

收稿日期: 2025-07-24; 修回日期: 2025-11-18

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金青年基金项目 (2025D01C454)

通信作者: 廖 军 (1980-), 男, 新疆喀什人, 主任医师, 主要从事神经、骨骼肌肉系统疾病的中医康复方向研究,

E-mail: Profliao123@163.com

cell senescence during the pathogenesis and progression of AS remain insufficiently clear. This study aims to elucidate the role of mPTP in vascular endothelial cell senescence and to determine whether targeted intervention of mPTP can effectively mitigate endothelial cell senescence and injury. **Methods** An in vitro model of atherosclerosis-related endothelial injury was established using lipopolysaccharide (LPS)-induced human coronary artery endothelial cells (HCAECs). Senescence status and mitochondrial function were systematically evaluated using SA- β -gal senescence staining, Western blotting, mPTP fluorescence staining, ATP level measurement, and quantitative real-time PCR. Furthermore, by inhibiting mPTP opening, its regulatory effects on mitochondrial function, endothelial cell senescence, and associated inflammatory responses were investigated. **Results** In the in vitro LPS-induced HCAEC injury model, abnormal mitochondrial mPTP opening was observed, accompanied by a significant decrease in cellular ATP levels and a marked increase in mtDNA release into the cytosol. Concurrently, SA- β -gal staining intensity was significantly enhanced, protein levels of senescence-associated markers P16, P21, and P53 were significantly upregulated, and the expression of the senescence-associated secretory phenotype (SASP) marker gene IL-6 was significantly elevated. Inhibition of mPTP using the inhibitor VBIT-4 in this model restored mitochondrial membrane potential and ATP levels. Furthermore, VBIT-4 treatment reversed the LPS-induced upregulation of senescence-associated P16, P21, P53, and IL-6. **Conclusion** During the pathological process of AS, abnormal mPTP opening in vascular endothelial cells contributes to endothelial dysfunction by promoting cellular senescence. Inhibition of mPTP alleviates endothelial cell senescence, reduces inflammatory levels, and ameliorates mitochondrial function. These findings provide new insights into potential diagnostic and therapeutic strategies for AS.

【**Keywords**】Atherosclerosis; Endothelial cell senescence; Mitochondrial permeability transition pore

0 引言

动脉粥样硬化 (Atherosclerosis, AS) 泛指以机体动脉血管内膜层脂质沉积、平滑肌细胞异常增生引起血管内膜纤维化以及粥样斑块形成, 导致动脉壁变硬, 血管腔狭窄甚至完全堵塞为主要发病特征的一组疾病^[1]。AS是众多心血管疾病的病理基础, 严重影响患者生活质量并显著增加患者死亡率, 严重危害人类健康。据不完全统计, 全球每年2 000多万人丧命于AS及其相关疾病^[2], 随着老龄化趋势愈发严重, AS患病率逐渐上升。近年来越来越多的证据显示, AS是衰老人群中较早出现的病理变化, 因此AS被认为是衰老相关疾病, 血管内皮细胞衰老在AS的发生发展中发挥重要作用^[3-5]。

细胞衰老是指年龄相关的细胞固有功能的退化或丧失, 组织器官功能逐步退化, 其表现为慢性的、年龄相关的病理改变^[6]。研究显示, 线粒体缺陷及功能障碍可引起细胞衰老相关分子和信号通路的激活, 从而引起细胞衰老^[5-6]。线粒体通透性转换孔 (mitochondrial Permeability Transition Pore, mPTP) 在细胞衰老过程中发挥着关键作用, 其开放不仅导致线粒体功能失调和代谢紊乱, 还会通过释放促凋亡因子和激活凋亡信号通路加速细胞衰老^[7-8]。线粒体氧化应激和钙超载等触发线粒体上的

mPTP打开, 正常情况下mPTP是一种非选择性通道, 瞬时mPTP开放可以调节钙和线粒体活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 等信号转导, 而不可逆的mPTP异常激活导致严重线粒体功能障碍^[7]。证据表明, 线粒体DNA (mtDNA) 通过mPTP泄露到胞质, 进一步激活细胞环鸟苷酸-腺苷酸合成酶 (cyclic GMP-AMP Synthase, cGAS) - 干扰素基因刺激因子 (Stimulator of Interferon Genes, STING) 信号通路, 促进炎症反应^[8]。线粒体电压依赖性阴离子通道1寡聚化抑制剂VBIT-4通过抑制mPTP开放, 抑制mtDNA释放到胞质, 从而减轻炎症, 其机制是抑制mPTP的开放可以恢复线粒体膜电位, 减少氧化应激, 从而延缓衰老^[9]。

AS作为衰老相关疾病, 其疾病发生发展过程中, 细胞衰老与mPTP的关系以及作用机制仍不够清楚。本研究拟用脂多糖 (Lipopolysaccharides, LPS) 诱导人冠状动脉内皮细胞 (Human Coronary Artery Endothelial Cells, HCAECs) 建立AS内皮损伤模型, 检测血管内皮细胞衰老以及线粒体功能相关指标; 通过抑制mPTP开放, 观察其对血管内皮细胞衰老和线粒体功能以及炎症的影响; 通过体外实验, 进一步阐明mPTP在血管内皮细胞衰老和损伤中的作用, 明确靶向干预mPTP是否有效减轻血管内皮细胞衰老和炎症, 这可为AS致病机制研究

提供一个崭新的领域。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

HCAEC购自中国科学院细胞库, 使用含5%胎牛血清 (Gibco, A5256701)、100 IU/mL青霉素 (Gibco, 15140148)、100 μ g/mL链霉素 (Gibco, 15140148)、1%内皮生长因子 (Thermo Fisher, S-003-10) 的内皮细胞培养基 (Thermo Fisher, M200500), 置于37°C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中培养, 每隔48 h换液。实验组HCAEC使用1 μ g/mL LPS (Beyotime, ST1470-10mg) 处理24 h构建AS相关的内皮损伤模型; 对照组则使用等量磷酸缓冲盐溶液 (Phosphate Buffered Saline, PBS) 处理。为抑制细胞衰老, 部分细胞用10 μ mol/L白藜芦醇 (Resveratrol, RSV) (MCE, HY-16561) 预处理48 h; 为抑制mPTP开放, 另一部分细胞使用10 μ mol/L的mPTP抑制剂VBIT-4 (MCE, HY-129122) 预处理48 h。

1.2 蛋白提取以及 Western blotting

处理后的细胞去除培养基, PBS清洗1次。细胞样品用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂RIPA裂解缓冲液 (Beyotime, P0013B) 提取, 冰上裂解后4°C、12 000 r/min离心10 min后取上清液, 使用BCA蛋白浓度测定试剂盒 (碧云天, P0009) 进行蛋白定量。20 μ g蛋白样品通过十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并将其转移到硝化纤维膜上。将膜封闭后孵一抗: 加入1:1 000稀释的P21抗体 (CST, 2947)、P16 (CST, 80772)、P53 (CST, 9282) 抗体和1:5 000稀释的小鼠 β -actin抗体 (CST, 3700), 4°C孵育过夜; 次日取出, 用TBST振荡洗涤5 min $\times$ 3次, 随即加入辣根过氧化物酶 (Horseradish Peroxidase, HRP) 标记的抗兔二抗 (abclonal, AS092) 或HRP标记的1:5 000稀释抗小鼠二抗 (abclonal, AS061), 4°C孵育1 h; 孵育后再次TBST振荡洗涤3次, 按照说明书使用ECL显影液 (翌圣生物, 36222ES76) 进行显影, ImageJ软件进行灰度值统计, GraphPad Prism 9.0软件统计画图。

1.3 细胞衰老相关 β -半乳糖苷酶 (Senescence Associated β -galactosidase, SA- β -gal) 染色检测

细胞衰老染色使用SA- β -gal染色试剂盒 (翌圣生物, 40754ES60)。HCAEC细胞按合适密度接种于24孔板中, 处理结束后, 用PBS清洗细胞3次。固定液室温固定10 min, 弃去固定液后用PBS液清

洗3次。加入新配制的染色工作液400 μ L/孔, 37°C过夜, 第2天, 用PBS洗3次后放置于倒置显微镜下观察样本, 每个样本随机选3个视野, 染色阳性率=蓝色细胞数量/视野内细胞总数 $\times$ 100%。

1.4 mPTP 染色

采用mPTP检测试剂盒 (碧云天, C2009S) 评估mPTP的开放程度。依据说明书, 使用试剂盒内的钙离子敏感荧光探针对细胞染色。在各组细胞完成相应处理后, 与探针在37°C、避光条件下共孵育。该检测的原理: 荧光强度与mPTP的开放程度呈负相关关系。随后, 使用荧光显微镜观察并采集图像, 并通过分析荧光强度来评估mPTP的开放状态。

1.5 mtDNA 检测

胞质mtDNA的检测通过qPCR进行。具体步骤: 首先, 使用细胞线粒体分离试剂盒 (碧云天, C3601) 将细胞质与线粒体组分分离, 随后从细胞质组分中提取DNA。经纯化后, 该细胞质DNA直接作为qPCR模板。qPCR反应使用SYBR Green荧光染料 (Vazyme Biotech, Q411-02/03) 在Roche LightCycler 480 (LC480) 仪器上进行。采用2^{- Δ CT}方法对qPCR结果进行相对定量分析: 该方法首先将实验组的目的基因CT值经内参基因均一化 (Δ CT), 再进一步与对照组校准后的 Δ CT值进行比较 ($\Delta\Delta$ CT), 最终以2^{- $\Delta\Delta$ CT}表示实验组目的基因相对于对照组的表达变化倍数。使用GraphPad Prism 9.0软件进行统计学分析并生成图表。18S rRNA作为内参基因。使用的引物如下。

MT-ND1 F: CTCTTCGTCTGATCCGTCCT,

R: TGAGGTTGCGGTCTGTTAGT

MT-ND2 F: GTAGACAGTCCCACCCTCAC,

R: TTGATCCCGTTTCGTGCAAG

L1ORF1 F: AGAACGCCACAAAGATACTCCTCG,

R: CTCTCTTCTGGCTTGTAGGGTTTCTG

B2M F: AAAGTGAACAACCTGCTCCTGAATG,

R: CTACACACTGCTTTGAATGCGTCC

18S rRNA F: CTACACACTGCTTTGAATGCGTCC,

R: CCATCCAATCGGTAGTAGCG

1.6 细胞内ATP检测

细胞内ATP水平使用ATP含量检测试剂盒 (碧云天, S0026) 进行测定, 具体操作步骤严格遵循试剂盒说明书。通过GraphPad Prism 9.0软件对检测结果进行统计学分析并生成图表。

1.7 RNA提取及qRT-PCR

RNA提取使用TRIzol RNA分离试剂盒

(Vazyme, REC03B-100)。处理后的细胞去除培养基, PBS清洗1次, 按照试剂盒说明书进行RNA提取。用NanoDrop 2000 仪器检测RNA的纯度和质量。反转录采用PrimeScript RT 试剂盒 (Vazyme, R223), 按照说明书步骤进行, 1 μ g总RNA逆转录为cDNA。使用SYBR Green 和 LC480 仪器进行qRT-PCR检测。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法对qPCR结果进行相对定量分析。使用GraphPad Prism 9.0 软件进行统计学分析并生成图表。 β -actin作为内参基因。使用的引物如下。

β -actin F: CATGTACGTTGCTATCCAGGC,
R: CTCCTTAATGTCACGCACGAT
IL-6 F: CCTGAACCTTCCAAAGATGGC,
R: TTCACCAGGCAAGTCTCCTCA

1.8 统计学方法

所有实验均进行3次独立重复, 数据以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。使用GraphPad Prism 9.0 软件进行数据分析及绘图, 组间差异比较采用 *t* 检验或单因素方差分析, 多重比较采用 Tukey 法, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

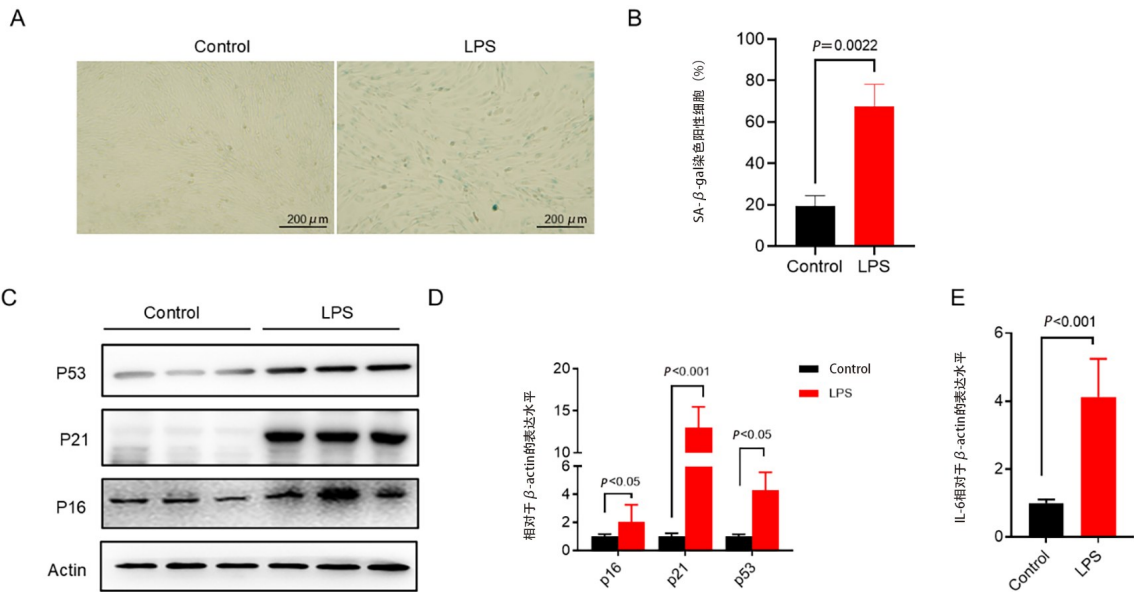
2.1 体外诱导 AS 内皮细胞损伤模型中细胞衰老和炎症水平显著上调

为观察 AS 型内皮细胞损伤模型中的细胞衰老

与炎症水平, 采用LPS处理HCAEC以建立体外模型。与对照组相比, 该模型表现出显著的细胞衰老与炎症特征: 其一, SA- β -gal 衰老染色显示阳性细胞数量显著增加; 其二, Western blotting 检测提示, 关键衰老相关蛋白P16、P21 及 P53 的表达均显著上调; 其三, 衰老相关分泌表型标记因子 IL-6 mRNA 水平显著上调 (见图1) ($P<0.05$)。这些结果表明, 在体外诱导的 AS 内皮细胞损伤模型中, 细胞衰老与炎症反应均被显著激活。

2.2 体外诱导的 AS 内皮细胞损伤模型中, mPTP 异常开放伴随线粒体功能障碍

为探究内皮细胞损伤模型中是否存在 mPTP 异常开放及线粒体功能紊乱, 研究检测了 mPTP 开放程度、细胞内 ATP 水平以及细胞质中 mtDNA 与核基因组标志物的表达变化。实验设计中, 选择检测线粒体基因 *MT-ND1* 与 *MT-ND2* 以反映 mtDNA 因线粒体膜损伤而泄漏至胞质的情况, 提示 mPTP 开放及线粒体完整性受损; 同时, 检测核基因标志物 *L1ORF1* 与 *B2M* 以排除细胞核 DNA 泄漏的干扰, 确保 mtDNA 升高特异来源于线粒体。结果显示, 与对照组相比, 体外诱导的 AS 内皮细胞损伤模型中: 细胞内 ATP 水平显著降低, 提示线粒体能量合成功能障碍; mPTP 开放程度明显增加, 表明线粒体通透性转换异常激活; 细胞质中 *MT-ND1* 与 *MT-ND2* 的表达量均显著升高而核基因 *L1ORF1* 与 *B2M* 未出现同

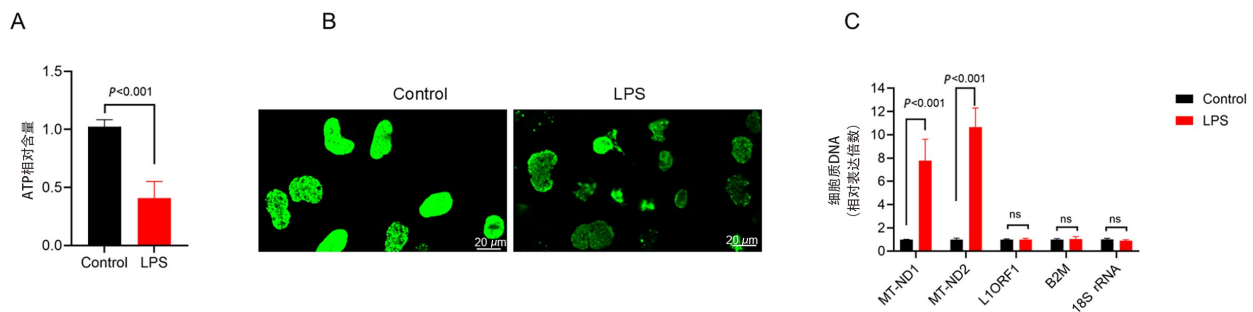


实验组 (LPS): HCAEC 使用 1 μ g/mL LPS 处理构建 AS 内皮损伤模型; 对照组 (Control): HCAEC 使用等量 PBS 处理。A: SA- β -gal 染色检测细胞衰老; B: 对衰老染色阳性细胞进行统计 (衰老细胞百分比, $n=3$, Bar=200 μ m); C: Western blotting 检测细胞衰老标记蛋白 P16、P21、P53 水平; D: ImageJ 软件对细胞衰老相关蛋白 P16、P21、P53 水平统计分析 ($n=3$)。E: RT-qPCR 检测 IL-6 mRNA 水平 ($n=4$)。组间比较采用 *t* 检验 ($P<0.05$)。

图1 LPS 诱导的 AS 内皮细胞损伤模型中衰老细胞显著增加伴随 IL-6 水平显著升高
Figure 1 LPS-induced atherosclerotic endothelial cell injury model shows a significant increase in senescent cells along with significantly elevated IL-6 levels

步升高, 提示mtDNA释放具有选择性, 并非源于细胞整体膜破裂或核DNA泄漏 (见图2) ($P<0.05$)。以上结果表明, 在体外诱导的AS内皮细胞损伤模型

中, mPTP异常开放伴随线粒体功能障碍, 表现为ATP合成减少与mtDNA特异性泄漏至胞质, 提示线粒体完整性丧失可能在AS内皮损伤中起重要作用。



实验组 (LPS): HCAEC使用1 $\mu\text{g/mL}$ LPS处理构建AS内皮损伤模型; 对照组 (Control): HCAEC使用等量PBS处理。A: 实验组及对照组总ATP水平 ($n=3$); B: 通过钙离子敏感荧光探针对细胞进行染色以检测mPTP开放程度, Control表示mPTP正常开放, 绿色荧光减弱表明膜通道孔活性增强, Bar=20 μm ; C: 通过RT-qPCR检测细胞质中mtDNA (MT-ND1和MT-ND2)、核LINE1元件 (L1ORF1和B2M)、核糖体基因 (18S rRNA) 的qPCR分析 ($n=4$)。组间比较采用 t 检验 ($P<0.05$)。

图2 体外诱导AS内皮细胞损伤模型中, ATP水平下降, mPTP异常开放, mtDNA释放增加
Figure 2 In vitro-induced atherosclerotic endothelial cell injury model shows decreased ATP levels, abnormal mPTP opening, and increased mtDNA release

2.3 抑制mPTP开放显著减轻内皮细胞衰老和炎症, 改善线粒体功能

为探讨抑制mPTP异常开放是否对HCAEC衰老表型、炎症分泌以及线粒体功能有影响, 分别利用RSV和VBIT-4处理细胞, 观察其细胞表型, 检测衰老相关蛋白P16、P21、P53以及炎症因子IL-6, 同时检测线粒体mPTP开放程度、ATP水平等。结果显示: 利用VBIT-4抑制mPTP开放后, 可显著逆转细胞衰老变化, 衰老标志物P16、P21和P53蛋白表达明显下调, 炎症因子IL-6水平受到抑制; 同时, mPTP开放程度显著降低, ATP水平得到有效恢复 (见图3) ($P<0.05$)。以上结果提示, 抑制mPTP开放能够有效减轻LPS诱导的HCAEC衰老及炎症反应, 并改善其线粒体功能。

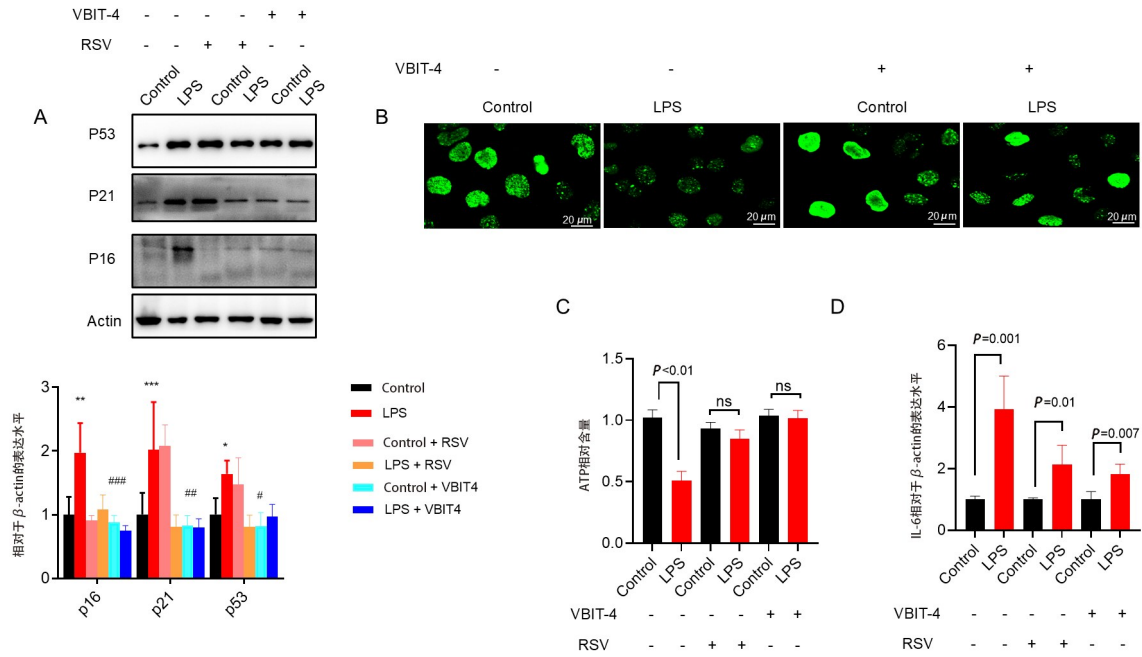
3 讨论

AS是以炎性细胞浸润、进行性脂质沉积和纤维组织增生为特征的累及全身动脉系统的慢性疾病^[10]。研究显示, 血管内皮损伤和功能障碍是诱发AS发生发展的重要初始环节, 一方面导致内皮的通透性增加, 破损处进行性脂质沉积, 另一方面促进炎症因子及趋化因子的释放, 促进慢性炎症和纤维组织增生, 协同促进AS的发生发展^[2,7]。近年来越来越多的证据显示, AS是衰老人群中较早出现的病理变化, 作为衰老相关疾病, 细胞衰老在AS的发生发展中发挥重要作用^[3-6,11-12]。

本研究通过LPS诱导HCAEC建立AS内皮损伤模型, 旨在聚焦炎症通路在内皮细胞衰老中的作

用。LPS作为一种强效的炎症诱导剂, 能够稳定、可靠地诱发内皮细胞的炎症反应和衰老表型, 这使我们能够在一个相对明确的背景下, 深入探讨mPTP在其中的核心机制, 避免多种模型可能引入的混杂信号。其次, 在初期机制探索中, 使用单一模型有助于更清晰地聚焦所研究的科学问题。在LPS诱导的体外模型中, 内皮细胞呈现出典型的衰老特征: SA- β -gal活性增强、细胞周期调控蛋白P16、P21和P53表达上调, 以及细胞衰老相关分泌表型 (Senescence-Associated Secretory Phenotype, SASP) 关键因子IL-6的分泌增加。更重要的是, 观察到这种细胞衰老状态与线粒体功能紊乱密切相关, 具体表现为mPTP的异常开放、ATP合成不足以及mtDNA向胞质的异常释放。

血管内皮细胞形成血管的内壁, 直接暴露于循环系统中的内源性信号和代谢物, 这使得血管内皮细胞容易受到损伤与产生功能障碍, 这也是AS病理过程的起始环节^[9-10]。血管内皮细胞的衰老不仅是内皮损伤、血管衰老的病理表现, 也是引起血管内皮功能障碍的主要因素, 持续的细胞衰老和SASP被认为是AS中慢性炎症和不良血管重塑的驱动力^[13]。Roos等^[14]发现清除衰老细胞可以有效改善血管炎症, 减少血管脂质堆积, 提升血管功能; Feng等^[15-16]发现减轻巨噬细胞和血管内皮细胞的衰老, 可改善血管炎症, 减少AS斑块形成。衰老的血管内皮细胞减少一氧化氮的产生并损害内皮屏障功能, 不仅会阻止损伤区域的再内皮化和血管屏障重建, 还会通过SASP促进血管内皮炎症和血栓形



实验组 (LPS): HCAEC 使用 1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 处理构建 AS 内皮损伤模型; 对照组 (Control): HCAEC 使用等量 PBS 处理。部分细胞用 10 $\mu\text{mol/L}$ RSV 抑制细胞衰老 (LPS+RSV, Control+RSV); 另取部分细胞用 10 $\mu\text{mol/L}$ VBIT-4 抑制 mPTP 开放 (LPS+VBIT-4, Control+VBIT-4)。A: Western blotting 检测细胞衰老标记蛋白 P16、P21、P53 水平 (下方为统计图)。LPS 组与 Control 组相比: * $P<0.05$; ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ 。LPS 组与 LPS+VBIT4 处理组相比: # $P<0.05$, ### $P<0.01$, #### $P<0.001$; B: VBIT-4 处理并通过钙离子敏感荧光探针进行染色以检测 mPTP 开放程度, Control 表示 mPTP 正常开放, 绿色荧光减弱表明膜通道孔活性增强, Bar=20 μm ; C: VBIT-4 处理后检测细胞总 ATP 水平 ($n=3$); D: VBIT-4 处理后通过 RT-qPCR 检测细胞 IL-6 mRNA 水平 ($n=3$)。组间比较采用 t 检验 ($P<0.05$)。

图3 抑制mPTP开放显著改善由LPS诱导的HCAECs衰老, ATP水平下降和IL-6的增加
Figure 3 LPS-induced HCAEC senescence, decreased ATP levels, and increased IL-6 are attenuated by inhibition of mPTP opening

成,从而引发血管壁的结构和功能异常,促进AS及其相关疾病的发生发展^[10-13]。因此,衰老细胞的选择性消除被认为是一种除了常规降脂疗法和最近开发的抗炎疗法之外的新型治疗方法。

线粒体缺陷及功能障碍是引起细胞衰老的主要原因,也是细胞衰老的驱动因素^[7]。其中,mPTP与细胞衰老之间存在密切的联系,主要体现在以下几个方面:(1)衰老细胞中ROS水平升高,而过量的ROS会诱导mPTP的开放。mPTP异常开放导致线粒体膜电位降低,氧化磷酸化解耦,导致ATP合成减少。这种代谢紊乱进一步加剧细胞的衰老状态^[8]。(2)衰老细胞中钙离子(Ca^{2+})稳态失调,钙超载会促进mPTP的开放。mPTP的频繁开放会导致线粒体功能失调,加速细胞衰老^[17]。(3)mPTP开放会导致线粒体肿胀、外膜破裂,释放促凋亡因子(如细胞色素c)和mtDNA至胞质,被DNA传感器cGAS识别并合成第二信使cGAMP,进而激活STING蛋白。STING通过下游TBK1-IRF3/NF- κB 信号轴触发I型干扰素和促炎因子(如IL-1 β 、TNF- α)的表达^[9,18]。细胞衰老的特征之一是线粒体功能障碍和基因组不稳定,两者均通过mPTP-mtDNA-cGAS-STING轴加剧SASP^[9,18]。川崎病研

究显示,mtDNA cGAS-STING激活导致内皮细胞功能障碍和血管炎,提示该通路可能参与AS早期的内皮损伤。靶向mPTP或STING抑制剂可能减轻血管炎症和斑块进展^[19]。(4)mPTP开放会促进线粒体基质中辅酶 NAD^{+} 的消耗,导致细胞能量代谢紊乱,这种能量代谢的失衡是细胞衰老的重要特征之一^[20]。研究提示,线粒体mPTP机制与阿尔茨海默病等衰老相关疾病关系密切^[8,21]。证据表明,mPTP在线粒体质量控制中发挥重要作用,是自噬依赖的寿命延长所需要的^[22]。这些发现强烈提示,mPTP的异常开放不仅是线粒体功能障碍的一个表现,更是驱动内皮细胞衰老的核心环节。据此推测,mPTP异常开放导致的能量危机(ATP下降)和胞内警报(mtDNA释放)共同构成了促衰老信号。释放至胞质的mtDNA可作为损伤相关分子模式,进一步放大炎症反应,这与我们观察到的IL-6水平升高相吻合,从而形成了一个“mPTP开放—线粒体功能障碍—细胞衰老—炎症放大”的恶性循环。实验中使用mPTP抑制剂VBIT-4,通过特异性抑制mPTP的异常开放,显著抑制LPS诱导的细胞衰老,减轻炎症反应,并改善了线粒体功能。这一结果证实了mPTP异常开放可能是导致内皮细胞衰

老和炎症的上游事件。与以往相关报道基本一致^[9,23]。

本研究揭示了mPTP在AS内皮细胞衰老中的关键作用。研究提示,在AS的病理过程中,血管内皮细胞的mPTP异常开放,通过影响细胞衰老导致细胞功能异常,进而参与AS的发生进展。本项研究造模方式较为单一,在未来的研究中需引入ox-LDL、TNF- α 等其他体外模型,乃至在体动物模型(如ApoE^{-/-}小鼠)是至关重要的;mPTP如何引起细胞衰老,以及它们之间如何共同参与调节血管内皮损伤,需要进一步深入研究。这些课题是后续研究的明确方向。而基于其分子机制,筛选有效的小分子化合物或中药靶向mPTP调节剂或其下游通路(如STING)抑制剂,评估其减轻细胞衰老和对血管内皮功能的保护效果,可为AS的防治提供更多的诊疗策略。

参考文献

- [1] GIMBRONE M A, CARDEÑA G G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 620-636.
- [2] LIBBY P. The changing landscape of atherosclerosis[J]. *Nature*, 2021, 592(7855): 524-533.
- [3] BU L L, YUAN H H, XIE L L, et al. New dawn for atherosclerosis: Vascular endothelial cell senescence and death[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(20): 15160.
- [4] KOTLA S, VU H T, KO K A, et al. Endothelial senescence is induced by phosphorylation and nuclear export of telomeric repeat binding factor 2-interacting protein[J]. *JCI Insight*, 2019, 4(9): e124867.
- [5] JIA G, AROOR A R, JIA C, et al. Endothelial cell senescence in aging-related vascular dysfunction[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(7): 1802-1809.
- [6] BLOOM S I, ISLAM M T, LESNIEWSKI L A, et al. Mechanisms and consequences of endothelial cell senescence[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2023, 20(1): 38-51.
- [7] KULOVIC-SISSAWO A, TOCANTINS C, DINIZ M S, et al. Mitochondrial dysfunction in endothelial progenitor cells: Unraveling insights from vascular endothelial cells [J]. *Biology (Basel)*, 2024, 13(2): 70.
- [8] PANEL M, GHALEH B, MORIN D. Mitochondria and aging: A role for the mitochondrial transition pore? [J]. *Aging Cell*, 2018, 17(4): e12793.
- [9] LI X, CHEN X, ZHENG L, et al. Non-canonical STING-PERK pathway dependent epigenetic regulation of vascular endothelial dysfunction via integrating IRF3 and NF- κ B in inflammatory response[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13(12): 4765-4784.
- [10] TABAS I, GARCÍA-CARDEÑA G, OWENS G K. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis[J]. *J Cell Biol*, 2015, 209(1): 13-22.
- [11] MACHADO-OLIVEIRA G, RAMOS C, MARQUES A R A, et al. Cell senescence, multiple organelle dysfunction and atherosclerosis[J]. *Cells*, 2020, 9(10): 2146.
- [12] PANTSULAIA IA, CISZEWSKI W M, NIEWIAROWSKA J. Senescent endothelial cells: Potential modulators of immunosenescence and ageing[J]. *Ageing Res Rev*, 2016, 29: 13-25.
- [13] SUN Y, WANG X, LIU T, et al. The multifaceted role of the SASP in atherosclerosis: From mechanisms to therapeutic opportunities[J]. *Cell Biosci*, 2022, 12(1): 74.
- [14] ROOS C M, ZHANG B, PALMER A K, et al. Chronic senolytic treatment alleviates established vasomotor dysfunction in aged or atherosclerotic mice[J]. *Aging Cell*, 2016, 15(5): 973-977.
- [15] FENG X, CHEN W, NI X, et al. Metformin, macrophage dysfunction and atherosclerosis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 682853.
- [16] SADHU S, DECKER C, SANSBURY B E, et al. Radiation-induced macrophage senescence impairs resolution programs and drives cardiovascular inflammation [J]. *J Immunol*, 2021, 207(7): 1812-1823.
- [17] WANG K, DU Y, LI P, et al. Nanoplastics causes heart aging/myocardial cell senescence through the Ca²⁺/mtDNA/cGAS-STING signaling cascade[J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 96.
- [18] CHEN Q, YOUNG L, BARSOTTI R. Mitochondria in cell senescence: A friend or foe? [J]. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2023, 136: 35-91.
- [19] WEI K, CHEN T, FANG H, et al. Mitochondrial DNA release via the mitochondrial permeability transition pore activates the cGAS-STING pathway, exacerbating inflammation in acute Kawasaki disease[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22 (1): 328.
- [20] SONG Z, PARK S H, MU W C, et al. An NAD⁺-dependent metabolic checkpoint regulates hematopoietic stem cell activation and aging[J]. *Nat Aging*, 2024, 4(10): 1384-1393.
- [21] JIA K, DU H. Mitochondrial permeability transition: A pore intertwines brain aging and alzheimer's disease[J]. *Cells*, 2021, 10(3): 649.
- [22] ZHOU B, KREUZER J, KUMSTA C, et al. Mitochondrial permeability uncouples elevated autophagy and lifespan extension[J]. *Cell*, 2019, 177(2): 299-314.e16.
- [23] GAN I, JIANG J, LIAN D, et al. Mitochondrial permeability regulates cardiac endothelial cell necroptosis and cardiac allograft rejection[J]. *Am J Transplant*, 2019, 19(3): 686-698.