◇ “糖尿病心血管并发症的药物进展”专栏 ◇

http://www.cjcpt.com
2026 Jun; 31(6): 798-807

血栓通对糖尿病内皮细胞线粒体动态平衡、内皮功能损伤和动脉粥样硬化的保护作用研究

祁光伟，仝婉昱，王冀鲁，郭靖文，黎瑞巧，王启隆

天津中医药大学中医药研究院，天津 301617

摘要　目的：研究血栓通（XST）治疗糖尿病加速动脉粥样硬化（AS）的作用及机制。**方法：**采用ApoE$^{-/-}$小鼠和C57BL/6J小鼠，通过腹腔注射链脲佐菌素（STZ）建立糖尿病AS模型，并给予XST干预12周。检测空腹血糖水平、血清总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）和高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）含量，通过苏丹Ⅳ及油红O染色观察主动脉弓和主动脉根部斑块及脂质沉积情况来评价AS，离体血管环实验评估主动脉内皮依赖性舒张功能，透射电镜观察主动脉内皮细胞中线粒体形态变化，采用高葡萄糖刺激人脐静脉内皮细胞（HUVECs），共聚焦显微镜下观察线粒体形态及其分裂、融合情况。同时检测线粒体活性氧（ROS）水平，并采用蛋白免疫印迹检测线粒体动态调控蛋白的表达。**结果：**XST对糖尿病AS模型小鼠血糖血脂无明显影响，XST显著减少糖尿病AS模型小鼠主动脉弓及根部的斑块面积，并改善STZ诱导的C57BL/6J小鼠中乙酰胆碱（ACh）介导的内皮依赖性舒张功能障碍。在高糖诱导HUVECs模型中，XST显著抑制线粒体碎片化，减少ROS产生。机制研究表明，高糖刺激可上调动力相关蛋白1（Drp1）和线粒体分裂蛋白1（Fis1）的表达并降低磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶（p-AMPK）水平，而XST处理可显著上调p-AMPK表达，抑制Drp1和Fis1的表达。**结论：**XST可能通过激活AMPK/Drp1信号通路，调控内皮线粒体动态平衡，从而抑制糖尿病加速的动脉粥样硬化进程。

关键词　血栓通；糖尿病动脉粥样硬化；内皮功能障碍；线粒体动态平衡；动力相关蛋白1

中图分类号：R965.2
文献标志码：A
文 章 编 号：1009-2501(2026)06-0798-10
doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2026.06.009

糖尿病是以慢性高血糖为特征的代谢性疾病[1]。据国际糖尿病联盟数据，2021年全球糖尿病患者人数达5.37亿，预计到2045年糖尿病患者人数将增加至7亿[2]，动脉粥样硬化性心血管疾病是糖尿病患者的主要死亡原因[3]。糖尿病促进动脉粥样硬化（AS）进展的机制较为复杂，涉及高血糖、高胰岛素血症及血脂异常等多种代谢紊乱，这些因素通过诱发氧化应激、炎症反应、线粒体损伤等多途径，诱发内皮功能障碍，并促进AS的发生发展[4]。内皮功能障碍是糖尿病诱发AS的始动因素，研究表明，高血糖通过促进活性氧（ROS）的产生、抑制内皮型一氧化氮合酶（eNOS）活性，导致内皮功能受损，从而加剧AS[5]。因此，改善内皮功能障碍成为缓解糖尿病加速AS的一种重要策略。

线粒体是细胞内ATP和ROS的主要来源，其产生的ROS水平激增会破坏Ca^{2+}平衡及电子传递链功能，从而诱发内皮功能障碍[6]。课题组前期研究发现线粒体动力学异常，尤其是融合与裂变过程的失衡，可损伤糖尿病血管内皮细胞的功能，从而促进AS的发生与发展[5]。线粒体融合被认为具有保护作用，能够在整个线粒体网络中均匀分布代谢物、蛋白质和线粒体DNA，有效防止受

2025-07-22 收稿　2025-10-08 修回
国家重点研发计划（2022YFC3501805）；天津市自然科学基金面上项目（19JCYBJC28200）
祁光伟，男，硕士研究生，研究方向：中药心血管药理。
E-mail: qgw18822733936@163.com
王启隆，男，通信作者，研究员，博士生导师，研究方向：中药心血管药理。
E-mail: wangqilong_00@tjutcm.edu.cn
黎瑞巧，女，共同通信作者，助理研究员，研究方向：中药心血管药理。
E-mail: liruiqiao@tjutcm.edu.cn

损物质的积聚，维持线粒体功能的完整性，并促进 ATP 的持续合成。相反，过度的线粒体裂变可能导致线粒体断裂、电子传递链受损及 ROS 的异常积聚[7]。线粒体分裂主要由动力相关蛋白 1（Drp1）和线粒体分裂蛋白 1（Fis1）介导[8]，而线粒体融合则依赖于外膜上的线粒体融合蛋白 1 和 2（MFN1/2）以及内膜上的视神经萎缩蛋白 1（OPA1）的调控[9]。研究表明，高血糖可通过抑制腺苷酸活化蛋白激酶（AMPK）自噬依赖性 Drp1 降解通路，导致 Drp1 表达上调及 Drp1 介导的线粒体裂变增强，从而诱发血管内皮炎症反应和功能障碍，进而加速 AS 病变的进展。二甲双胍（MET）[5]、褪黑激素[10]和补阳还五汤[11]能以 AMPK 依赖性方式降低心血管系统中 Drp1 的表达，抑制线粒体过度裂变，从而延缓 AS 进程。因此，通过 AMPK 调节线粒体动力学平衡被认为是防治糖尿病相关动脉粥样硬化的一种潜在有效策略。

血栓通（XST）主要成分为三七总皂苷，包括：三七皂苷 R1、人参皂苷 Rd、Rg1 和 Rb1 等，具有活血祛瘀、扩张血管及改善血液循环的功效。研究发现 XST 具有抗心肌梗死、抗血栓、抗脑缺血、抗氧化、改善微循环障碍等作用[12]。但 XST 治疗糖尿病动脉粥样硬化的药效和机制还不甚清楚，因此，本研究使用 STZ 诱导的糖尿病 AS 小鼠模型，研究 XST 对糖尿病 AS 的保护作用，探讨其调节线粒体动力学改善内皮功能的机制，为血栓通临床应用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　实验动物和细胞　50 只 6 ~ 8 周龄 SPF 级雄性 ApoE$^{-/-}$小鼠，体质量 21 ~ 28 g，购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司[生产许可证号：SCXK（苏）2018-0008]，40 只 6 ~ 8 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠，体质量 21 ~ 28 g，购于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]，均饲养于天津中医药大学 SPF 级动物房，在正式实验开始前，进行为期 1 周的适应性饲养[使用许可证号：SYXK（津）2025-0012]。所有动物实验均严格按照“实验动物护理和使用指南”进行，并经天津中医药大学动物伦理委员会（中国天津）批准实施（批准号 TCM-LAEC2020079）。人脐静脉内皮细胞（HUVECs）购自澳赛尔斯生物技术（上海）有限公司。

1.2　药品与试剂　血栓通注射液（广西梧州制药股份有限公司，200402）、链脲佐菌素（STZ）、盐酸 MET、硝普钠、油红 O、苏丹Ⅳ（北京索莱宝生物科技有限公司，批号分别为 24240306011、419K021、528B031、2311002、2230818001）；eNOS 一抗、p-eNOS 一抗、OPA1 一抗（美国 Abcam 公司，批号分别为 GR3255120-2、GR8521-14、GR121882-21）；AMPK 一抗、p-AMPK 一抗（美国 CST 公司，批号分别为 cst5831-8、cst2535-16）；Drp1 一抗、Fis1 一抗、MFF 一抗、MFN1 一抗（美国 Santa Cruz Biotechnology 公司，货号分别为 Sc-271583、Sc-376469、Sc-398617、Sc-166644），氯化乙酰胆碱（美国 Sigma-Aldrich 公司，批号 PHR1546-500MG）。

1.3　动物模型建立及给药　40 只 ApoE$^{-/-}$小鼠及 30 只 C57BL/6J 小鼠均通过连续 5 d 腹腔注射 STZ（50 mg/kg），另设 ApoE$^{-/-}$及 C57BL/6J 对照组小鼠各 10 只，均注射等体积枸橼酸缓冲液。常规饲料饲养 2 周后，剪尾测血糖，将随机血糖值高于 16.7 mmol/L 判定为糖尿病小鼠。其中 ApoE$^{-/-}$小鼠成模 38 只（剔除 2 只未成模），C57BL/6J 小鼠成模 26 只（剔除 4 只未成模）。两种品系的成模小鼠均随机分为 3 组：模型组（STZ）、XST 组（STZ+XST，10 mg/kg，腹腔注射）和阳性对照组（STZ+MET，225 mg/kg，灌胃）。对照组和模型组腹腔注射等量生理盐水，给药持续 12 周。其间给予正常饮食，每两周测量一次小鼠体质量及血糖。实验过程中 ApoE$^{-/-}$小鼠死亡 8 只（模型组死亡 3 只，XST 组死亡 1 只，MET 组死亡 4 只）。C57BL/6J 小鼠模型组死亡 3 只。小鼠死亡原因是血糖过高不耐受。

1.4　主动脉、血清取样　实验结束后，对所有存活小鼠麻醉取血。4 ℃，4 000 r/min，离心 15 min 后取上清，全自动生化分析仪检测 ApoE$^{-/-}$小鼠 TC、TG、LDL、HDL。取血结束后，以生理盐水经左心室灌注主动脉，完整分离主动脉根部至髂动脉分叉处，精细剥离周围脂肪及结缔组织。

1.5　主动脉苏丹Ⅳ染色、主动脉根部油红 O 检测　用弹簧剪自升主动脉断口处伸入主动脉管腔内，沿主动脉弓大弯一侧向主动脉远端一侧纵向剖开整个主动脉，苏丹Ⅳ染色，使用 Image J 统计

主动脉总面积、斑块面积，计算斑块面积占主动脉面积的比例。取小鼠主动脉根部组织，制备冰冻切片，油红 O 染色，用 Image J 统计斑块面积，计算斑块面积占管腔面积的比例。

1.6　主动脉线粒体电镜检测　取 C57BL/6J 对照组小鼠和 STZ 诱导的 C57BL/6J 小鼠（STZ 模型组和 XST、MET 处理组）的主动脉剪成长约 5 mm 血管，置于组织固定液中，0.1 mol/L 磷酸缓冲液（pH 7.4）配制的 1% 锇酸避光室温二次固定，梯度乙醇脱水，并用环氧树脂包埋，制备超薄切片。采用醋酸铀和枸橼酸铅染色，置于铜载网上，透射电子显微镜观察。

1.7　胸主动脉血管环的制备及检验　C57BL/6J 对照组小鼠和 STZ 诱导的 C57BL/6J 小鼠（STZ 模型和 XST 处理组）麻醉后采血，取出心脏与胸主动脉。将胸主动脉引入装有 1×K-H 溶液的培养皿中，清除周围脂肪组织后，使用弹簧剪刀将主动脉均匀地剪切成 3 ~ 4 mm 长的血管环。将血管环置于含 5 mL，37 ℃ 1×K-H 液的浴槽中，并持续通入 95%O_2+5%CO_2 混合气，将血管环穿入两个平行的钢针上。制备主动脉环并用 10 nmol/L U46619 预收缩。在收缩平台期，加入乙酰胆碱（Ach，10^{-9} ~ 10^{-5} mol/L）或硝普钠（SNP，10^{-10} ~ 10^{-6} mol/L）处理主动脉环以确定内皮依赖性和非依赖性血管舒张反应。

1.8　细胞培养　实验采用第 3 ~ 8 代 HUVECs 细胞，待其长至 80% 融合度时消化传代，接种于共聚焦培养皿中。细胞分组如下：正常组（NG）、高糖组（HG，33 mmol/L 葡萄糖）、等渗对照组（OC，33 mmol/L 甘露醇）、XST 干预组（HG+XST，200 μg/mL）、MET 干预组（HG+MET，1 mmol/L）。处理流程：XST 组与 MET 组预先给药 2 h；随后，OC 组加入甘露醇，HG 组、HG+XST 组及 HG+MET 组加入葡萄糖。继续培养 24 h 后，使用激光共聚焦显微镜进行观察。

1.9　ROS 含量检测　将 HUVECs 接种在共聚焦小皿中，加入 MitoSOX™ Red 荧光染色剂孵育 30 min，激光共聚焦显微镜下 63 倍油镜观察线粒体 ROS 的产生情况。

1.10　线粒体形态定量　将 HUVECs 接种在共聚焦小皿中，并用 MitoTracker Deep Red 处理 30 min，激光共聚焦显微镜在 63 倍油镜下观察线粒体形态。使用 Image J 分析和量化线粒体数量和体积。

1.11　蛋白表达检测　使用 RIPA 裂解缓冲液提取蛋白质，BCA 定量蛋白质浓度。在 SDS-PAGE 凝胶上分离蛋白质并转移到 PVDF 膜。用 5% BSA 封闭 1 h，加入 p-AMPK、AMPK、Drp1、Fis1、MFF、MFN1、OPA1、GAPDH 一抗（1:1 000）4 ℃ 孵育过夜，TBST 洗涤后，加入二抗 4 ℃ 孵育 1.5 h，TBST 洗涤。ECL 发光液的 A 液和 B 液等体积混合，条带在曝光显影仪中进行显影。

1.12　统计学处理　采用 IBM SPSS Statistics 25 软件进行统计分析，计量资料首先进行正态性检验（Shapiro-Wilk 检验）和方差齐性检验。符合正态分布的计量资料以均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），其中方差齐时采用 LSD 法进行事后两两比较，方差不齐时采用邓尼特 T3 法。不符合正态分布的计量资料则以中位数（四分位数间距）表示，组间比较采用非参数检验（如 Kruskal-Wallis H 检验）。P<0.05 为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　XST 对 STZ 诱导 ApoE$^{-/-}$小鼠体质量、血糖、血脂的影响　如 Fig.1 所示，与非糖尿病 ApoE$^{-/-}$小鼠相比，糖尿病 ApoE$^{-/-}$模型组小鼠的空腹血糖水平显著升高，LDL-C 水平略升高，TG 与 HDL 水平略下降，但上述差异均无统计学意义（P>0.05）。与模型组相比，XST 治疗组空腹血糖差异无统计学意义（P>0.05）。与模型组相比，XST 组血脂呈轻微上升趋势，但差异无统计学意义（P>0.05）。上述结果提示，XST 对糖尿病动脉粥样硬化小鼠中未表现出明显的降血糖及调节血脂作用。

2.2　XST 对 ApoE$^{-/-}$小鼠主动脉斑块面积的影响　正常饮食喂养 ApoE$^{-/-}$小鼠 12 周后，收集主动脉，采用苏丹Ⅳ染色评估斑块面积占主动脉总面积的比例。结果如 Fig.2 所示，与非糖尿病 ApoE$^{-/-}$ 小鼠相比，STZ 诱导的糖尿病 ApoE$^{-/-}$ 小鼠主动脉弓及主动脉内斑块面积显著增加（P<0.01），与模型组相比，XST 和 MET 给药组斑块面积显著减少（P<0.01）。鉴于主动脉根部血流量大、脂质易堆积且斑块易形成，其病变程度更能反映 ApoE$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化进展，因此取心脏内主动脉根部进行冰冻切片，采用油红 O 染色评估斑块面积。与对照组比较，模型组斑块面积显

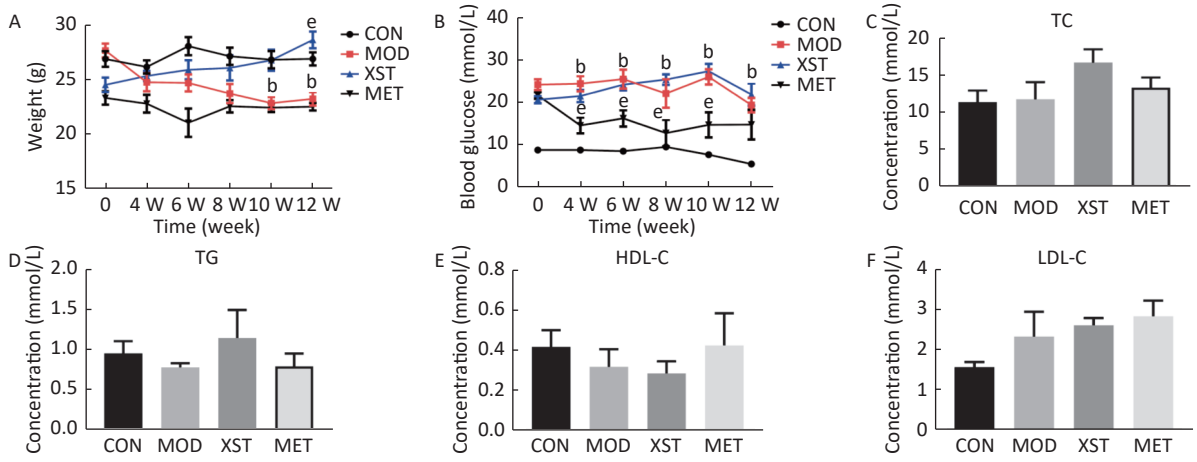


Fig.1　Effects of XST on body weight, blood glucose and lipid profiles in diabetic ApoE$^{-/-}$ mice

A: weight changes of ApoE$^{-/-}$ mice within 12 weeks. B: blood glucose changes of ApoE$^{-/-}$ mice within 12 weeks. C-F: the serum levels of TC, TG, HDL-C and LDL-C in STZ-induced diabetic ApoE$^{-/-}$ mice. n = 6-10 per group. $^{b}P < 0.05$, compared with Con group; $^{e}P < 0.05$, compared with MOD group.

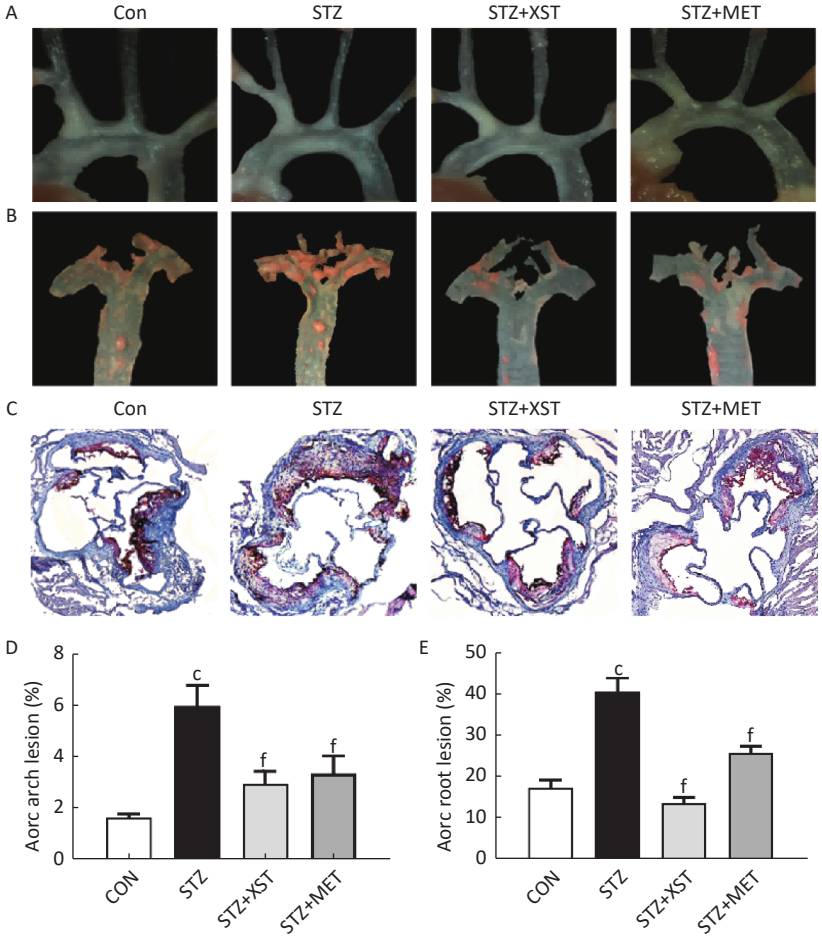


Fig.2　XST attenuates atherosclerotic lesions in diabetic ApoE$^{-/-}$ mice

A: representative images of atherosclerosis lesion at the aortic arch. B: representative images of Sudan IV staining of atherosclerotic lesions at the aortic arch. C: representative images of Oil Red O staining of atherosclerotic lesions in the aortic sinus. D: quantification of en face atherosclerotic lesion area in the aortic arch. E: quantitative evaluation of the size of atherosclerotic lesions in the aortic root. n = 6-10 per group. $^{c}P<0.01$, compared with Con group; $^{f}P<0.01$, compared with STZ group.

著增加(P<0.01)，而 XST 和 MET 给药组斑块面积　　较模型组显著减少(P<0.01)。

2.3 XST 对糖尿病小鼠内皮功能的影响 采用 STZ 诱导的 C57BL/6J 糖尿病小鼠模型，通过乙酰胆碱(ACH)介导的主动脉环舒张实验评估内皮功能。结果如 Fig.3 所示，与对照组小鼠相比，糖尿病小鼠主动脉环在 ACH 诱导的内皮依赖性舒张功能明显受损(P<0.01)，而 SNP 诱导的非内皮依赖性舒张功能则未见显著损伤，XST 可显著改善糖尿病小鼠的内皮依赖性舒张性障碍(P<0.05)。治疗 12 周后，检测 C57BL/6J 小鼠主动脉中磷酸化内皮型一氧化氮合酶(p-eNOS)的表达水平，结果显示，与对照组相比，糖尿病组小鼠主动脉中 p-eNOS 表达量显著减少(P<0.05)，而 XST 治疗后小鼠主动脉 p-eNOS 表达量显著增加(P<0.05)。

2.4 XST 对线粒体氧化应激的影响 采用 MitoSOX™ Red 荧光试剂检测 HUVECs 的 ROS 水平，如 Fig.3 所示，与正常组比较，高糖刺激导致内皮细胞中 ROS 产生显著增加(P<0.05)，XST 给药显著减低了内皮细胞中 ROS 的产生(P<0.01)，减轻了氧化应激。

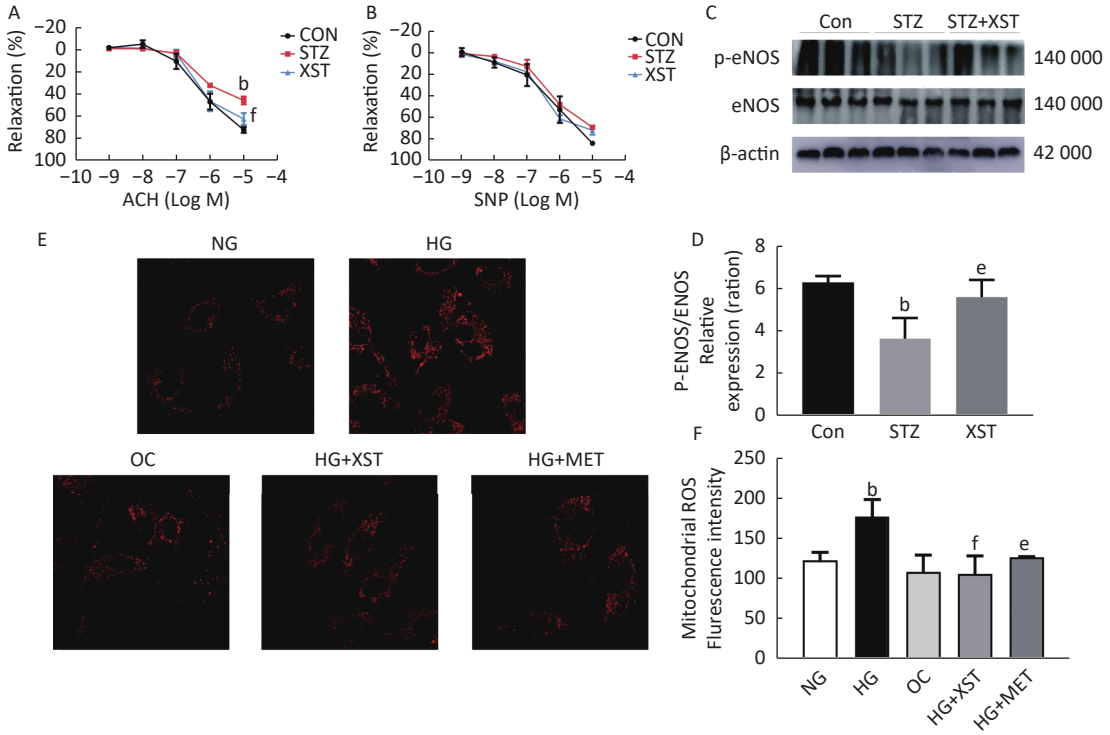


Fig.3 XST prevents endothelial dysfunction under diabetic conditions

A-B: U46619 (10 nmol/L) was used to contract the aortic rings. A: endothelium-dependent vasodilator responses were measured by Ach (10^{-9} to 10^{-5} mol/L). B: endothelium-independent vasodilator responses were measured in the presence of SNP (10^{-10} to 10^{-6} mol/L). C: p-eNOS in the aorta, was analyzed by Western blot. D: quantitative analysis of p-eNOS. n = 3. ^{b}P< 0.05, compared with Con group, ^{e}P< 0.05, compared with STZ group. E: representative fluorescence images are shown. F: fluorescence intensity quantification for mitochondrial ROS levels in HUVECs. ^{b}P< 0.05, compared with NG group, ^{e}P< 0.05, ^{f}P< 0.01, compared with HG group.

2.5 XST 对主动脉内皮细胞中线粒体形态的影响 使用透射电镜观察主动脉内皮细胞中线粒体形态，如 Fig.4A-4B 所示。对照组内皮细胞中线粒体呈长丝状，双层膜结构完整，嵴排列紧密；而糖尿病模型组则大多表现为体积变小、长度缩短的点状线粒体。定量分析结果表明，与对照组相比，糖尿病模型组小鼠线粒体长度显著减小(P<0.01)，与模型组相比，XST 和 MET 给药组小鼠线粒体长度显著增加，碎片化程度显著降低(P<0.01)。

2.6 XST 对主动脉线粒体分裂融合相关蛋白及 AMPK 表达量的影响 高糖通过上调线粒体裂变相关蛋白的表达诱导线粒体裂变。如 Fig.4C-4F 所示，模型组小鼠主动脉组织中线粒体裂变蛋白 Drp1 和 Fis1 的表达量显著升高(P<0.01)，p-AMPK 蛋白表达量明显降低(P<0.01)，XST 治疗有效逆转了这些变化，显著降低模型组小鼠主动脉 Drp1(P<0.05)和 Fis1(P<0.01)表达水平，并同时显著提升 p-AMPK 的表达(P<0.01)。

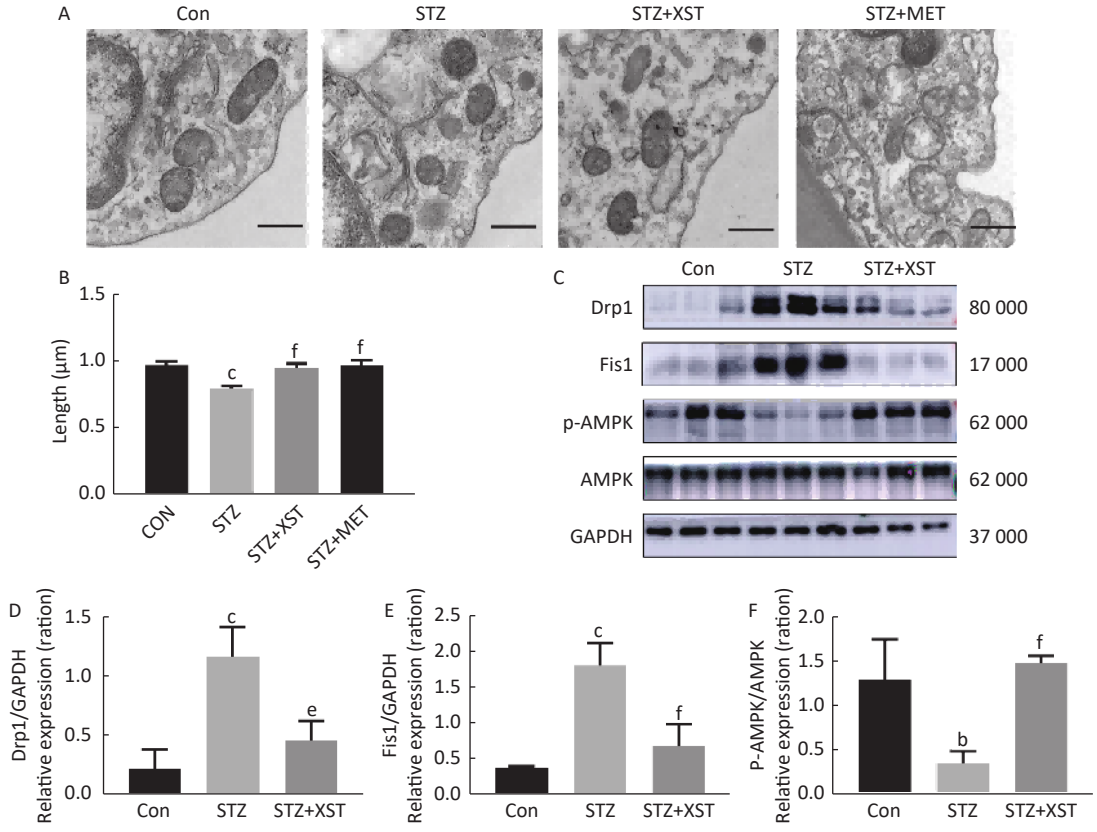


Fig.4　XST prevents hyperglycemia-induced mitochondrial fragmentation in diabetic aortic endothelium

A: representative electron microscopic images of mitochondria in the aortic endothelium (original magnification 25 000×, scale bar = 500 nm). B: quantification of mitochondrial length. At least 50 mitochondria per mouse were analyzed (n=3). C: mitochondrial dynamics-related proteins, including Drp1, Fis1, and p-AMPK in the aorta, were analyzed by Western blot. D-F: quantitative analysis of Drp1, Fis1 and p-AMPK. n=3, ^{b}P<0.05, ^{c}P<0.01, compared with Con group, ^{e}P<0.05, ^{f}P<0.01, compared with STZ group.

2.7　XST 对 HUVECs 中线粒体形态的影响　与正常组相比，高糖诱导显著加剧了 HUVECs 的线粒体碎裂，表现为线粒体形态变小、数量增多，分裂融合次数增加（P<0.01），给予 XST 或 MET 治疗后，细胞线粒体碎片化程度降低，分裂融合次数减少（P<0.01），结果如 Fig.5 所示。

2.8　XST 对 AMPK 及线粒体分裂融合蛋白的影响　在高糖刺激的 HUVECs 模型中，Drp1 和 Fis1 的表达量显著升高（P<0.05），p-AMPK 表达量显著降低（P<0.01），而 OPA1、MFN1、MFF 的表达量没有显著变化（P>0.05），XST 和 MET 给药可抑制高糖诱导的 Drp1 和 Fis1 表达上调（P<0.05）和 p-AMPK 表达下调（P<0.01），而对 MFF、OPA1、MFN1 表达均无显著影响，结果如 Fig.6 所示。

3　讨论

AS 是一种以慢性炎症反应为特征的动脉壁病变，主要表现为在大中型血管内膜形成富含脂质的粥样斑块，易发于血流紊乱的动脉分支和血管弯曲处[13]。AS 是冠状动脉疾病、脑血管疾病和外周动脉疾病的主要病理基础，其高发病率与高死亡率已成为全球性健康问题[14]。尽管他汀类、抗血小板类等药物干预手段在预防和治疗 AS 方面取得显著进展，但由于作用机制相对单一，仍有相当一部分患者出现疗效欠佳及耐受性问题。因此，为了更好地应对动脉粥样硬化性心血管疾病，迫切需要寻找针对 AS 且无明显副作用的新型有效治疗药物[15]。

据报道，解毒活血方[16]、补阳还五汤[11]、四妙勇安汤[17]等传统中药方剂以及丹参[18]、三七[19]、桃仁[20]、川芎[21]等单味中药在治疗 AS 方面有较好疗效[22]。其中三七总皂苷为主要成分的 XST 可通过降低血脂水平、减轻炎症反应、调控巨噬细胞发挥抗 AS 作用[23]，本研究中发现 XST 对 STZ 诱导的 ApoE$^{-/-}$小鼠糖尿病加速动脉粥样硬化模型中斑块形成具有显著抑制作用，但不依赖于调控

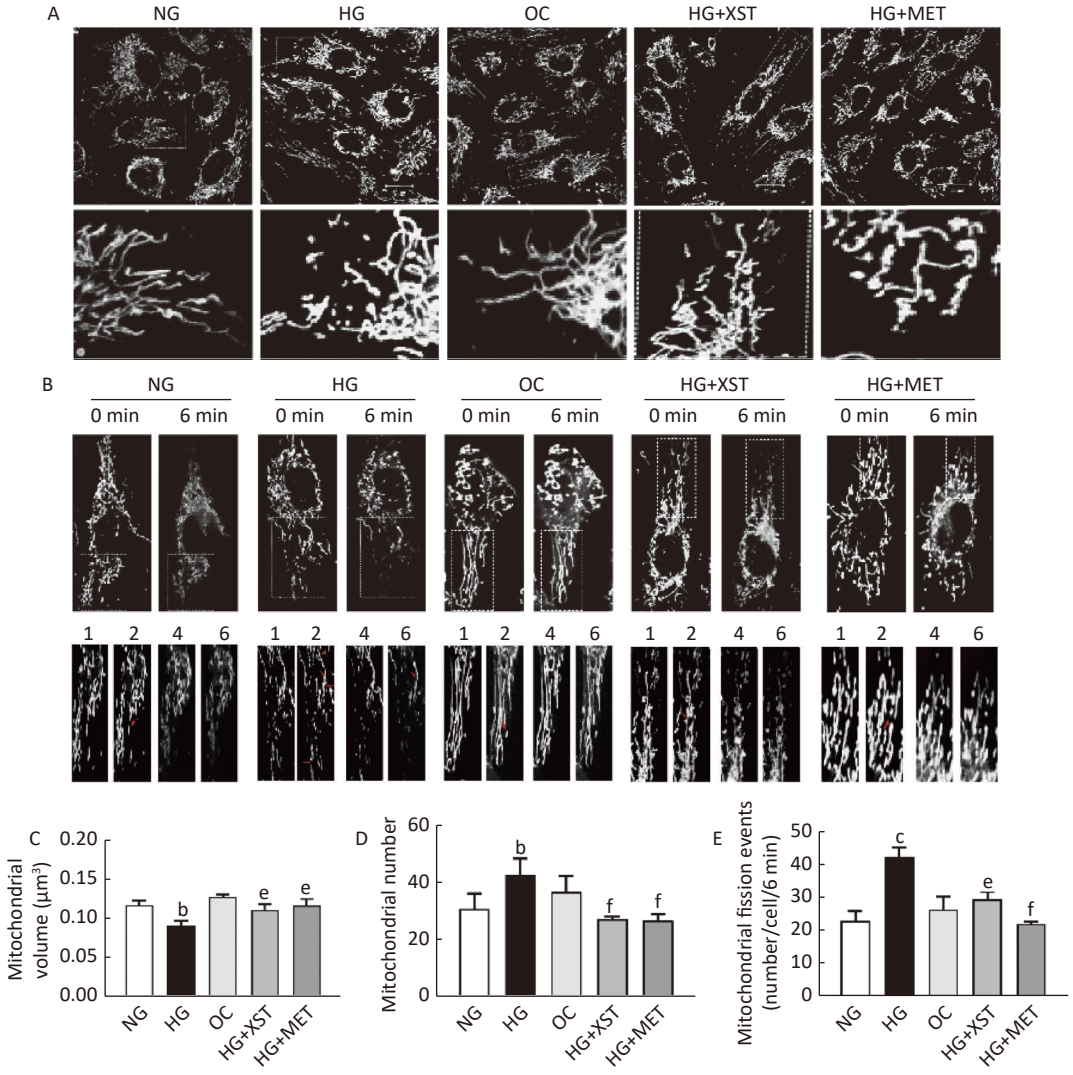


Fig.5 XST prevents high glucose-induced mitochondrial fission in HUVECs

A: mitochondria were labeled with MitoTracker Deep Red, and mitochondrial morphology was analyzed using fluorescence microscopy (scale bar=20 μm). B: mitochondrial morphology in live HUVECs stained with MitoTracker Deep Red FM and captured using time-lapse confocal microscopy. Images were collected at 1 min intervals for 6 min. C-D: mitochondrial volume and number were quantified. E: quantitative analysis of mitochondrial fission events. $n \geqslant 30$ cells. $^{b}P<0.05$, $^{c}P<0.01$, compared with NG group, $^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$, compared with HG group.

血脂的作用。这与文献报道有一定差异，这种差异可能是由不同动物模型造成的，在本研究中使用的是 STZ 诱导的 ApoE$^{-/-}$小鼠糖尿病加速动脉粥样硬化模型，在赵献秀[24]等的研究中是由高脂肪饲料和维生素 D3 联合 L-甲硫氨酸诱导的 AS 模型。

内皮功能障碍会影响血管舒张和保护性因子如一氧化氮（NO）的释放，导致血管舒缩平衡紊乱、氧化还原失衡、炎症反应，最终引发 AS[25]。本研究发现 XST 显著改善糖尿病小鼠的内皮依赖性舒张性障碍。已有研究表明，eNOS 磷酸化和 NO 生成受损是高糖诱导血管内皮功能障碍进程中的关键环节[26]，并且发现糖尿病小鼠内皮中 p-eNOS 水平显著下调[27]。在本研究中同样发现糖尿病小鼠内皮中 p-eNOS 水平显著下调，而 XST 治疗后显著增加糖尿病小鼠内皮中 p-eNOS 水平。内皮细胞不仅是 ROS 的来源，同时也是 ROS 的靶标，ROS 通过损伤多种细胞器诱导内皮功能障碍。本实验中发现高糖诱导内皮细胞中 ROS 增多，而 XST 可显著减少 ROS 的产生，从而缓解内皮功能障碍。

线粒体功能障碍不仅是 ROS 过度生成的核心驱动因素，也是内皮细胞功能异常的重要诱因[28]。线粒体是一种高度动态的细胞器，通过持

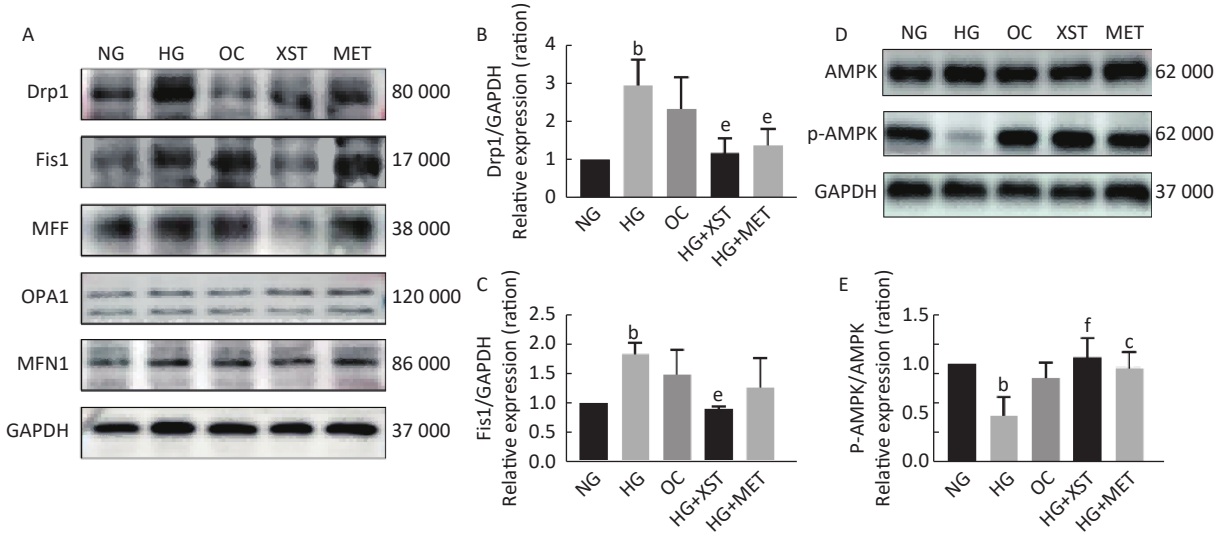


Fig.6　XST reduces Drp1 expression via AMPK activation

A: mitochondrial dynamics-related proteins, including Drp1, Fis1, MFF and OPA1 were analyzed by Western blot. B-C: quantitative analysis of Drp1 and Fis1. D: p-AMPK was analyzed by Western blotting. E: quantitative analysis of p-AMPK. n=3, ^{b}P<0.05, ^{c}P<0.01 compared with NG group, ^{e}P<0.05, ^{f}P<0.01, compared with HG group.

续融合与裂变维持自身的形态稳定与功能完整，其网络结构的动态变化是调控自身正常生理功能的重要机制之一[29]。Fis1 与 Drp1 蛋白的过度表达，和 Mfn1 表达下降，可导致线粒体过度分裂与融合不足，这种动态失衡可能引发氧化应激、破坏能量供应，最终导致细胞死亡[30]。已有研究表明，高糖环境可显著增强内皮细胞中线粒体裂变相关蛋白 Drp1 的活性，进而诱导线粒体过度裂变，并促进线粒体源性活性氧的生成，应用 Drp1 抑制剂 Mdivi-1 可有效缓解高糖诱导的氧化应激，并减轻其对主动脉血管细胞的损伤[5]。本实验中同样观察到糖尿病小鼠主动脉及内皮细胞中线粒体裂变增强，而 XST 可抑制线粒体的过度裂变，同时下调 Drp1 与 Fis1 的表达。这表明 XST 可通过下调 Drp1 与 Fis1 的表达水平，抑制线粒体裂变过程，进而减少 ROS 生成，改善内皮功能障碍。然而，本研究仍存在一些局限性，例如 Drp1 的活性受两个关键丝氨酸残基磷酸化的调节，丝氨酸 616 和丝氨酸 637，但 XST 具体调控哪个位点还需要继续研究及探讨。

AMPK 作为细胞能量代谢的核心传感器，在治疗糖尿病及其并发症中发挥关键作用[31]。AMPK 同样也是直接调控线粒体动力学的关键因子，其可通过多种途径影响线粒体的融合和裂变[32]，其中 AMPK/Drp1 信号轴可调控线粒体的过度裂变，是调控线粒体融合-裂变的关键途径[33]，MET、补阳还五汤、烟酰胺、鸢尾素和人参皂苷 Rg1 等可通过激活 AMPK 降低 Drp1 表达并抑制线粒体裂变。本研究结果显示 XST 可以通过激活 AMPK 使得 Drp1 和 Fis1 的表达量降低。提示 XST 抑制 Drp1 改善内皮功能的机制与其激活 AMPK 信号密切相关。

综上所述，本研究证明 XST 可能通过激活 AMPK 信号通路，抑制 Drp1 介导的线粒体过度裂变，减少线粒体 ROS 生成，改善内皮功能障碍，进而延缓糖尿病加速的 AS 进程。本研究明确 XST 治疗糖尿病 AS 的作用，为临床应用 XST 治疗糖尿病动脉粥样硬化提供科学依据。

参考文献

[1] Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(17): 6275.

[2] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2022, 183: 109119.

[3] Low Wang CC, Hess CN, Hiatt WR, et al. Clinical Update: Cardiovascular disease in diabetes mellitus: Atherosclerotic cardiovascular disease and heart failure in Type 2 diabetes mellitus-mechanisms, management, and clinical considerations [J]. Circulation, 2016, 133(24): 2459-2502.

[4] Chao ML, Luo S, Zhang C, et al. S-nitrosylation-mediated coupling of G-protein alpha-2 with CXCR5 induces Hippo/YAP-dependent diabetes-accelerated atherosclerosis [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 4452.

[5] Wang Q, Zhang M, Torres G, et al. Metformin suppresses diabetes-accelerated atherosclerosis via the inhibition of Drp1-mediated mitochondrial fission [J]. Diabetes, 2017, 66(1): 193-205.

[6] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications [J]. Nature, 2001, 414(6865): 813-820.

[7] Zd S, Cq L, Hw W, et al. Inhibition of DRP1-dependent mitochondrial fission by Mdivi-1 alleviates atherosclerosis through the modulation of M1 polarization [J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 427.

[8] 邹沁霖, 冯丽娜, 樊世钰, 等. 线粒体动力学稳态与血管重塑性疾病 [J]. 生命的化学, 2024, 44(10): 1923-1932.

[9] Murphy MP, Hartley RC. Mitochondria as a therapeutic target for common pathologies [J]. Nat Rev Drug Discov, 2018, 17(12): 865-886.

[10] Chen WR, Zhou YJ, Sha Y, et al. Melatonin attenuates vascular calcification by inhibiting mitochondria fission via an AMPK/Drp1 signalling pathway [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(11): 6043-6054.

[11] Tong W, Leng L, Wang Y, et al. Buyang huanwu decoction inhibits diabetes-accelerated atherosclerosis via reduction of AMPK-Drp1-mitochondrial fission axis [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 312: 116432.

[12] 魏曼莉, 吕林艳, 郑志远, 等. 血栓通注射液临床前遗传毒性研究 [J]. 中国药物警戒, 2024, 21(9): 1014-1018.

[13] Tian Y, Liu YF, Wang YY, et al. Molecular mechanisms of PTEN in atherosclerosis: A comprehensive review [J]. Eur J Pharmacol, 2024, 979: 176857.

[14] Yang J, Zhong C, Yu J. Natural monoterpenes as potential therapeutic agents against atherosclerosis [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(3): 2429.

[15] Xue X, Deng Y, Wang J, et al. Hydroxysafflor yellow A, a natural compound from Carthamus tinctorius L with good effect of alleviating atherosclerosis [J]. Phytomedicine, 2021, 91: 153694.

[16] 尹丽梅, 袁建, 陈楷, 等. 解毒活血方调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对 ApoE-/-动脉粥样硬化小鼠斑块稳定性的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(12): 112-120.

[17] 高照, 许心蕊, 金秋硕, 等. 四妙勇安汤通过拮抗 Ox-LDL 脂代谢途径对 ApoE-/-小鼠动脉粥样硬化颈动脉斑块的影响 [J]. 海南医学院学报, 2022, 28(14): 1050-1058.

[18] Ma X, Zhang L, Gao F, et al. Salvia miltiorrhiza and Tanshinone IIA reduce endothelial inflammation and atherosclerotic plaque formation through inhibiting COX-2 [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 167: 115501.

[19] Zhao Y, Zheng G, Yang S, et al. The plant extract PNS mitigates atherosclerosis via promoting Nrf2-mediated inhibition of ferroptosis through reducing USP2-mediated Keap1 deubiquitination [J]. Br J Pharmacol, 2024, 181(23): 4822-4844.

[20] 王怡茹, 张一凡, 韦婧, 等. 桃仁红花煎通过抑制淋巴管增生改善 ApoE-/-小鼠动脉粥样硬化的炎症反应 [J]. 暨南大学学报 (自然科学与医学版), 2021, 42(1): 62-70.

[21] Chen Z, Zhang C, Gao F, et al. A systematic review on the rhizome of Ligusticum chuanxiong Hort. (Chuanxiong) [J]. Food Chem Toxicol, 2018, 119: 309-325.

[22] 万宛若, 黄丹, 徐婉茹, 等. 中药成分改善动脉粥样硬化及其机制研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(17): 5748-5758.

[23] 魏玥, 李洪峥, 杨文文, 等. 基于数据挖掘探讨三七类中药复方治疗冠心病的用药规律 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2023, 21(12): 2113-2117.

[24] 赵献秀, 赖玲, 何嘉欣, 等. 注射用血栓通对大鼠动脉粥样硬化的治疗效果 [J]. 广西医科大学学报, 2018, 35(2): 158-161.

[25] Cao X, Wu V, Han Y, et al. Role of argininosuccinate synthase 1 -dependent l-arginine biosynthesis in the protective effect of endothelial Sirtuin 3 against atherosclerosis [J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11(12): 2307256.

[26] 张俊诗, 梁政伟, 丁菁, 等. 蛋白磷酸酶 2Cα 介导高糖诱导的 eNOS Ser1177 磷酸化下调并导致人脐静脉内皮细胞功能障碍 [J]. 中国病理生理杂志, 2023, 39(6): 973-981.

[27] Chen Z, Haus JM, Chen L, et al. Inhibition of CCL28/CCR10-mediated eNOS downregulation improves skin wound healing in the obesity-induced mouse model of type 2 diabetes [J]. Diabetes, 2022, 71(10): 2166-2180.

[28] Yan R, Zhang X, Xu W, et al. ROS-induced endothelial dysfunction in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. Aging Dis, 2024, 16(1): 250-268.

[29] 生宁, 郑浩, 张金兰. 基于线粒体的中药药效物质和作用机制研究 [J]. 分析测试学报, 2025, 44(9): 1871-1877.

[30] Zhang Y, Liu S, Cao D, et al. Rg1 improves Alzheimer's disease by regulating mitochondrial dynamics mediated by the AMPK/Drp1 signaling pathway [J]. J

Ethnopharmacol, 2025, 340: 119285.
[31] 吴文玉, 张永萍, 徐剑, 等. 基于线粒体探讨小檗碱作用机制的研究进展 [J]. 中医药信息, 2022, 39(11): 80-83.
[32] 杨蕙, 张秀丽, 李薇, 等. 左归降糖解郁方调控 AMPK/MFF/DRP1 信号改善糖尿病并发抑郁症大鼠海马线粒体动力学的机制研究 [J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(23): 3275-3284.
[33] 鲁尚壮, 杨雁舒. 二甲双胍抑制肝纤维化机制的研究进展 [J]. 现代临床医学, 2025, 51(3): 222-224,236.

Protective effects of Xueshuantong on mitochondrial dynamic balance, endothelial dysfunction, and atherosclerosis in diabetes

QI Guangwei, TONG Wanyu, WANG Jilu, GUO Jingwen, LI Ruiqiao, WANG Qilong

Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

ABSTRACT **AIM**: To investigate the therapeutic effect and underlying mechanisms of Xueshuantong (XST) in diabetes-accelerated atherosclerosis (AS). **METHODS**: Diabetes-accelerated AS models were established in ApoE$^{-/-}$ mice and C57BL/6J mice by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) followed by XST administration for 12 weeks. Fasting blood glucose and serum levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were measured. Atherosclerosis was assessed by evaluating plaque formation and lipid deposition in the aortic arch and root using Sudan IV and Oil Red O staining. Endothelium-dependent vasorelaxation was evaluated using isolated aortic ring assays. Mitochondrial morphology in aortic endothelial cells was examined by transmission electron microscopy. Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were exposed to high glucose and treated with XST. Mitochondrial morphology and dynamics were analyzed using confocal microscopy. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) levels were measured, and the expression of mitochondrial dynamics-related protein was assessed by Western blotting. **RESULTS**: XST had no significant effect on blood glucose or lipid levels in diabetic AS mice. XST significantly reduced atherosclerotic plaque areas in the aortic arch and root of diabetic ApoE^{-}/$^{-}$ mice, and improved acetylcholine-mediated endothelium-dependent vasorelaxation in STZ-induced C57BL/6J mice. In high glucose-stimulated HUVECs, XST significantly inhibited mitochondrial fragmentation and reduced mitochondrial ROS production. Mechanistically, high glucose increased the expression of dynamin-related protein 1 (Drp1) and mitochondrial fission protein 1 (Fis1), while decreasing phosphorylated AMP-activated protein kinase (p-AMPK) levels. XST treatment reversed these effects by activating AMPK and downregulating Drp1 and Fis1. **CONCLUSION**: XST may alleviates diabetes-accelerated atherosclerosis by activating the AMPK/Drp1 signaling pathway and restoring mitochondrial dynamic balance in endothelial cells.

KEYWORDS Xueshuantong; diabetic atherosclerosis; endothelial dysfunction; mitochondrial dynamics; Drp1