

综述

糖酵解在血管内皮细胞衰老中的作用机制

苏建飞¹ 董莹² 臧奕² 李佳^{1,2*}⁽¹⁾中国药科大学多靶标天然药物全国重点实验室, 南京 211198; ⁽²⁾中国科学院上海药物研究所, 上海 201206

摘要 细胞衰老是细胞生命进程的关键环节, 指细胞在执行生命活动过程中, 随着时间的推移, 细胞增殖能力和生理学功能逐渐退化的过程。细胞衰老以细胞永久性增殖停滞和多种表型变化为特征, 这些变化包括大量生物活性分子的释放, 这些分子被统称为衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)。血管内皮细胞的衰老是许多心血管和代谢相关疾病的重要诱发因素, 且细胞衰老过程中伴随着显著的代谢重构, 鉴于糖酵解是血管内皮细胞获取能量的主要来源, 因此内皮细胞衰老所致的糖酵解通量改变与诸多泛血管性疾病紧密相关。该文总结了血管内皮细胞衰老的糖酵解通量变化和机制以及靶向糖酵解对内皮细胞衰老的影响, 以期从糖代谢角度为解决内皮细胞衰老相关疾病提供参考与支持。

关键词 血管内皮细胞; 细胞衰老; 糖酵解; 心血管类疾病; 肿瘤

The Mechanism of Glycolysis in the Senescent of Vascular Endothelial Cells

SU Jianfei¹, DONG Ying², ZANG Yi², LI Jia^{1,2*}⁽¹⁾State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China;⁽²⁾Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201206, China)

Abstract Cellular senescence is a crucial link in the process of cellular life, referring to the gradual degradation of cell proliferation and physiological functions over time during the execution of life activities. Cellular senescence is characterized by permanent cell proliferation arrest and various phenotypic changes, including the release of many bioactive molecules, collectively known as the SASP (senescence-associated secretory phenotype). Senescent vascular endothelial cell is an important triggering factor for many cardiovascular and metabolic related diseases. Given that changes in glycolysis can lead to dysfunction of endothelial cell function and angiogenesis, changes in glycolytic flux caused by endothelial senescence are closely related to many pan vascular diseases. This review summarizes the changes and mechanisms of glycolytic flux in endothelial cell senescence, as well as the impact of targeted glycolysis on endothelial senescence, providing reference and support for addressing endothelial senescence-related diseases from the perspective of glucose metabolism.

Keywords vascular endothelial cells; senescence; glycolysis; cardiovascular diseases; tumour

收稿日期: 2024-01-04 接受日期: 2024-02-27

国家自然科学基金(批准号: 32300638)资助的课题

*通信作者。Tel: 13818163206, E-mail: jli@simm.ac.cn

Received: January 4, 2024 Accepted: February 27, 2024

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32300638)

*Corresponding author. Tel: +86-13818163206, E-mail: jli@simm.ac.cn

细胞衰老 (cellular senescence) 最早被认为是细胞增殖能力有限性的体现, 脊椎动物细胞受到应激刺激会停止分裂。随着认知的不断发展, 目前认为细胞衰老是指当处于不断增殖的细胞受到氧化应激、DNA 损伤或癌基因激活等多重内源或外源压力时所诱发的细胞周期永久停滞的一种状态^[1-3]。当衰老细胞在生物体中不断积累时会导致组织功能障碍, 进而驱动与衰老有关的表型。

衰老的细胞具有多种典型的特征, 在形态学上表现为细胞形态的不规则和体积增大、细胞膜成分改变、溶酶体和线粒体的累积, 以及细胞核的核纤层蛋白 (lamin b1) 的缺失等, 细胞会进入永久性的周期阻滞停止增殖^[4-5]。细胞衰老另一大特征是衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 的形成与分泌, SASP 是细胞衰老的关键效应分子, 它由促炎因子、生长因子、趋化因子和基质金属蛋白酶等一系列细胞因子组成, 由衰老细胞分泌形成了独特的微环境^[6]。

细胞衰老作为一种正常的生理现象, 始终贯穿发生在机体的各个阶段, 属于细胞进程中必然发生的细胞命运, 因此普遍生理状态下的细胞衰老是机体正常发育活动的重要机制; 但是在某些疾病状态或是不利因素的刺激诱导下, 细胞衰老的弊端愈加显现, 其会诱发或加重疾病的发生发展。因此, 细胞衰老是一把双刃剑, 对机体的利和弊需要在不同的阶段和生理病理背景下去讨论与研究。衰老细胞的益处表现在多个方面, 比如在哺乳动物早期胚胎发育阶段中, 机体的多个部位如中耳的中肾和内淋巴囊等会启动细胞编程性衰老, 分泌的基质金属蛋白酶 2 和 9 (matrix metalloproteinases 2/9, MMP2/9) 能促进胎盘的结构重塑和完整的生理功能^[7-8], 衰老细胞通过被巨噬细胞清除的方式来促进肾小管结构的完善以及平衡内淋巴囊的细胞群数量比例^[7]。但此时细胞衰老可能是一个暂时的细胞状态, 具有可逆性^[9], 这与我们认知定义中的不可逆状态可能有所不同。除此之外细胞衰老由于增殖阻滞, 还能起到抑制损伤加剧的作用, 衰老的成纤维细胞和内皮细胞通过分泌血小板衍生生长因子 AA (platelet derived growth factor-AA, PDGF-AA) 诱导肌纤维细胞分化, 从而加速伤口闭合^[10-12]。

然而在应激条件或是机体衰老背景下, 免疫系统对衰老细胞的清除能力减弱, 后者不断累积并持

续释放复杂的、多成分的 SASP 同化周围细胞, 或分泌到其他组织附近使微环境恶化促进衰老, 这可作为新的细胞衰老的效应机制。细胞衰老的发生发展中常伴随许多病理学特征的出现, 其中炎症作为最为显著的表现之一, 在衰老组织中和许多衰老相关性疾病中普遍存在, 且以一种非正常的、过度的反应形式出现, 被认为是引起众多老年疾病的一大危险因素^[13-15], 因此还存在“炎症衰老”这一说法^[16]。SASP 表现出明显的异质性, 其成分复杂多变, 包含多种促炎趋化因子和细胞因子等。SASP 会随着时间的推移表现出极高的可塑性, 这可能与不同的衰老诱导方式和细胞类型密切相关^[17-18]。SASP 辅助构成了许多疾病中的组织环境, 比如骨关节炎、动脉粥样硬化和癌症等, 目前认为 SASP 引起的慢性炎症是导致许多年龄相关性疾病发生发展的重要原因^[14]。

基于细胞衰老的异质性, 目前在衰老研究领域中最亟待解决的问题, 就是衰老细胞的异质性和标记物不具有统一性。衰老细胞的溶酶体内容物会有所增加以及溶酶体活性发生改变, β -半乳糖苷酶活性增加^[19], 因此 β -半乳糖苷酶染色是鉴定中应用最为广泛的指标, 也被认为是衰老细胞的金指标。但是衰老细胞目前仍缺乏十分明确的标志物, 因为并非所有衰老细胞都能表现出一致的生物标志物; 而且一些标记物也并不只存在于衰老细胞中, 某些标志物也可在凋亡细胞或休眠细胞中观察到, 因此对衰老细胞的鉴定常借助多种不同标记物来综合评价^[4]。

有越来越多的证据表明衰老细胞发生了显著的代谢改变以及细胞代谢的中间产物在衰老过程中发挥重要作用, 其中血管内皮细胞的衰老在组织和机体衰老中占据非常关键的地位^[20]。由于血管内皮细胞构成了广泛存在的血管内壁结构, 与各组织器官的病变发生发展密切联系, 并且充足的血流灌注和应激因子是导致血管内皮细胞衰老的重要因素^[21]。鉴于血管内皮细胞的代谢通路非常特殊, 绝大部分能量供给方式为糖酵解^[22], 因此目前对血管内皮细胞衰老后的能量代谢重构在不断深入研究中。此外, 很多细胞衰老相关疾病如心血管疾病、肿瘤等都与血管内皮细胞衰老密不可分^[21], 且衰老后糖酵解仍占据重要地位, 但其衰老所致的糖酵解通量改变是否是其中的关键性因素尚未被清晰阐明。本文针对

血管内皮细胞衰老的特征及其中糖酵解代谢通路的改变以及靶向糖酵解对衰老的调控作用进行具体的阐述, 为改善机体健康程度和解决相关性疾病提供参考与理论基础。

1 血管内皮细胞特征与衰老

血管在机体各组织器官分布非常丰富, 目前也认为血管的老化是很多衰老相关疾病以及个体衰老的重要因素, 血管内皮细胞的主要生理功能体现在屏障、分泌、参与血管形成等方面^[23-24]。血管分为外中内三层膜结构, 其中内皮细胞是内膜的主要构成细胞, 形态上表现为单层扁平上皮, 附衬于心血管系统的内表面, 构成了血管壁与血液之间的分界面^[23]。血管内皮的屏障作用依附于黏附结构和细胞连接构成的紧密结构, 这与血管通透性和代谢交换功能息息相关。由血管内皮细胞分泌的诸多活性物质和组织成分执行着相应的生理病理过程: 一氧化氮(NO)/内皮素控制血管舒张与收缩; 抗凝血酶III和 $\alpha 2$ /组织因子及V因子影响凝血和血栓进程; 血管内皮细胞还能合成并释放组织型纤溶酶原激活物和抑制因子, 维持促纤溶和抗纤溶活性的动态平衡^[23,25-27]。

血管内皮细胞存在静息态和激活态两种形式, 在完整的组织血管结构中, 细胞处于静息状态, 而当接收到特定激活因子如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等刺激后细胞会发生活化, 行使血管增生的生理功能^[28]。

由于独特的解剖生理学位置, 内皮细胞会持续接触许多循环因子、血液流动压力和致病性刺激, 极易受到损伤引发细胞衰老, 引起功能障碍和屏障功能失调, 进而导致组织和器官相应功能受损^[29]。血管内皮细胞衰老时除了具有与一般衰老细胞相似的表型特征如周期阻滞、分泌丰富的SASP因子外, 还有一些与血管相关的影响: 细胞扁平扩大, 与基底膜的黏附作用增强, 排列紧密不易脱落, 长期积累恶化的血管内皮细胞导致血液流动受到阻碍^[30-31]; 此外与血管功能紧密相关的NO分子的合成分泌水平也会因此受到影响, NO不仅作为一种血管舒张性物质, 具有改善血管屏障抗凝血等保护作用, 它还被认为可能具有抗血管内皮细胞衰老的功能, NO产量和利用度的降低与许多血管衰老性疾病的发生发展有密切联系^[32-33], 因此也被认为是血管内皮细胞衰老

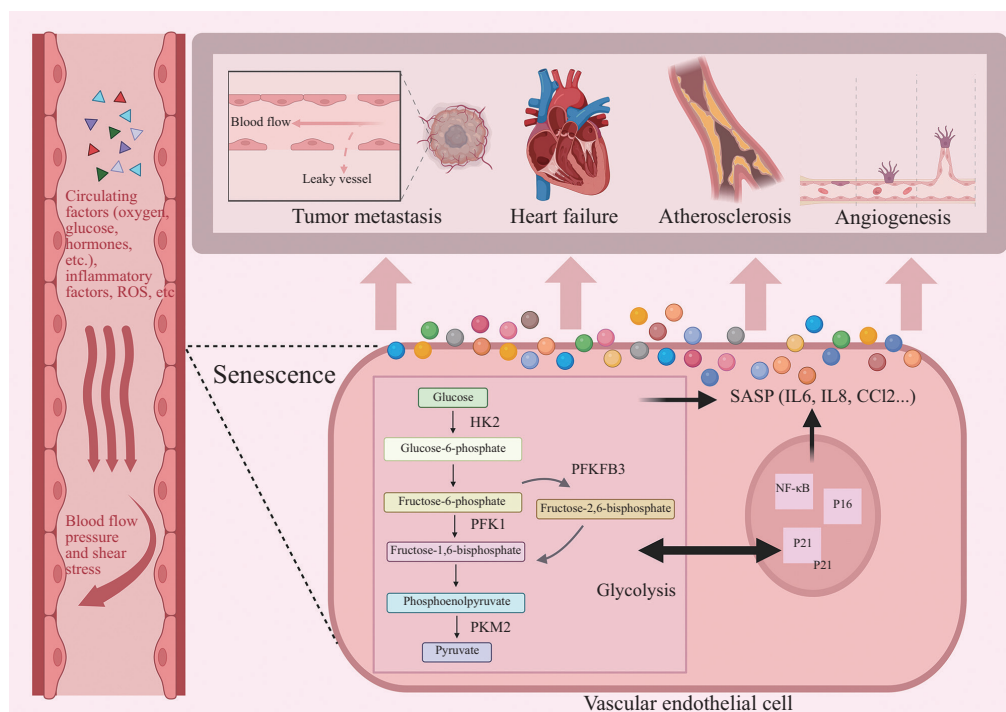
的一大标志。内皮功能障碍是血管老化和病变的核心机制, 与年龄相关的内皮依赖性舒张反应减弱既导致了血管生成减少, 又影响了血管张力。内皮功能障碍也增加了血管对动脉粥样硬化的易感性, 内皮功能和完整性受损导致大分子物质渗漏促进斑块形成(图1)。以上事件均被认为是血管内皮细胞衰老的相关疾病的重要因素。

衰老有基因组不稳定、端粒磨损、表观遗传学改变、自噬稳态丧失、线粒体功能障碍、细胞衰老、慢性炎症等十二种特征, 其中细胞衰老是机体衰老的重要机制, 而血管内皮细胞是发生细胞衰老的主要细胞类型之一, 血管内皮细胞的衰老会导致许多相关疾病的发生发展^[34]。其余的机体衰老机制也会影响血管内皮细胞的衰老进程, 紊乱的血流使血管内皮细胞的端粒变短从而诱导衰老表型, 而当端粒酶发生活化时则能逆转细胞衰老^[35-36]; 众多应激因素还会引起内皮细胞非端粒DNA损伤, 线粒体功能障碍等, 激活抑癌通路, 细胞增殖进入阻滞状态诱发衰老^[21]。

细胞衰老能够促进组织修复, 损伤部位的部分细胞由于刺激发生衰老, 分泌的SASP可招募免疫细胞聚集, 随后通过免疫清除衰老细胞促进损伤修复^[37]。利用senolytics药物治疗模拟了这一免疫清除的过程, 血管内皮细胞的衰老高度影响了血管新生、心力衰竭、动脉粥样硬化等过程, 而清除衰老细胞则能够有效遏制相应的病理发展^[38-42]。

2 血管内皮细胞衰老与代谢能量改变

内皮细胞的能量供给非常具有特点, 对能量的利用与肿瘤细胞类似, 均以糖酵解为主要能量来源, 甚至内皮细胞的来源于糖酵解的ATP利用率能达到85%以上^[22]。内皮细胞直接接触血流, 氧气丰富, 以无氧糖酵解作为主要供能途径似乎有所矛盾, 但事实上这一结果是合理的, 这使内皮细胞能更好地适应外界环境变化, 主要表现在: ①高度糖酵解产生的大量乳酸具有促血管生成的功能, 能更好地行使内皮细胞的生理学功能^[43-46]; ②对氧气消耗低, 可以极大程度保留血氧含量, 为周围组织输送充足的氧气; ③在葡萄糖供给充足情况下, 糖酵解快速生成ATP的能力能够满足内皮细胞迁移时对能量的瞬间需求; ④为糖酵解侧支提供了更多的碳来源以维持生物大分子的合成; ⑤对氧气需求低使内皮细胞能够



血管内皮细胞直接接触血流, 长期接受血流中的刺激因子和剪切应力, 极易发生细胞衰老。衰老的血管内皮细胞糖酵解发生显著变化, 糖酵解中的重要酶类与核内的衰老相关转录因子存在密切联系, 两条通路相互影响, 并且靶向糖酵解途径可以直接影响SASP的合成与分泌, 进而介导衰老相关性疾病, 影响肿瘤转移、心力衰竭、动脉粥样硬化、病理性血管生成等过程。

Vascular endothelial cells directly come into contact with blood flow and are exposed to stimuli and shear stress in the blood flow for a long time, which can easily lead to cellular senescence. The glycolysis of senescent vascular endothelial cells has changed significantly. The important enzymes in glycolysis are closely related to the aging related transcription factors in the nucleus. The two pathways interact with each other to regulate, and the targeted glycolysis pathway can directly affect the synthesis and secretion of SASP, further mediate aging related diseases, and affect tumor metastasis, heart failure, atherosclerosis, pathological angiogenesis and other processes.

图1 衰老的血管内皮细胞通过糖酵解途径介导了众多相关疾病的发生发展

Fig.1 Senescent endothelial cells mediate the occurrence and development of numerous related diseases through glycolysis pathways

在一些低氧组织中维持正常功能, 保障了这些组织中的能量与营养物质的供给^[47-48]。

当内皮细胞发生衰老时, 其代谢仍然处于异常活跃的状态, 各代谢通路会显著性转变。(1) 有氧糖酵解上调: 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)激活以及苹果酸酶(malic enzyme, ME)和苹果酸脱氢酶(malate dehydrogenase, MDH)活性减弱;(2) 丙酮酸脱氢酶激酶活性降低促使丙酮酸脱氢酶激活, 导致代谢通量从糖酵解向三羧酸循环转移;(3) 降低磷酸甘油酸脱氢酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性, 丝氨酸合成和磷酸戊糖途径下调, 谷胱甘肽和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)合成水平降低;(4) 谷氨酰胺代谢的增加, 以及谷氨酰胺酶1水平的增加, 可能为衰老细胞提供能量;(5) 血管紧张素转化酶、血管紧张素2和I型血管紧张素II受体活性的增

加可导致线粒体合成的减少, 线粒体裂变和活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生增加;(6) 线粒体功能受损可激活多聚ADP核糖聚合酶[poly(ADP-ribose) polymerase, PARP]修复线粒体。PARP调节核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)激活, NF- κ B在细胞衰老时易位至细胞核, 与不同的启动子共同作用结合SASP基因, 导致SASP的产生;(7) 激活了NADPH氧化酶产生超氧化物, 超氧化物与NO形成过氧亚硝酸盐, 从而正反馈上调ROS水平, 并进一步降低NO^[49]。

而关于血管内皮细胞最重要的能量利用方式无氧糖酵解在衰老后的变化一直存在争议。当高糖环境诱导内皮细胞衰老时, HUVECs细胞的糖酵解衍生ATP和糖酵解储量减少, 并且高糖降低了乳酸与丙酮酸^[50]的比值以及细胞内NAD总量^[51], 说明血管内皮细胞在高糖衰老模型中糖酵解动员被抑制,

总体通量发生下调。核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NRF2)是调节氧化和亲电应激反应的关键转录因子, NRF2在衰老过程中表达水平下降, KUOSMANEN等^[52]发现在衰老内皮细胞中存在丰富的microRNA来降低NRF2的表达,而这种衰老相关的下调降低了血管内皮细胞糖酵解活性; STABENOW等^[53]在内皮细胞复制性衰老模型中观察到糖酵解和氧化葡萄糖代谢的上调,衰老细胞表现出更高的糖酵解活性和乳酸生成水平,同时乳酸脱氢酶A的表达增强;而同样在HUVECs复制性衰老体系中, UNTERLUGGAUER等^[50]也发现了葡萄糖的摄取和乳酸的生成增加,但是通过对两者代谢物的转化率进行相关性分析发现不存在显著相关性,并且代谢物转化率显示乳酸的生成与谷氨酰胺代谢存在密切联系,与此同时检测糖酵解相关代谢酶发现,己糖激酶、乳酸脱氢酶、醛缩酶和丙酮酸激酶等表达水平和活性没有明显的改变。以上对于血管内皮细胞衰老的糖酵解变化的不同说法一方面是由于衰老诱导的方式存在多样性,代表了不同的衰老机制,因此细胞的代谢变化可能存在差异性;另一方面对于糖酵解通量的变化有多角度的解释,代谢物、相关调节酶以及细胞外酸化速率等都是评价的指标,但即使在同一体系中,指标的变化也可能存在不一致性。

3 靶向糖酵解影响血管内皮细胞衰老

有很多研究已经显示代谢途径的改变是调控血管内皮细胞活化的重要机制,不同的代谢途径能够通过不同形式引起细胞功能障碍,进而导致疾病恶化。虽然在细胞衰老的背景下,内皮细胞的糖酵解通量变化没有确切的解释,但目前仍然有较多研究已经发现通过调控糖酵解途径中的酶和中间代谢物可以促进或影响细胞的衰老状态。

磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate, PEP)是糖酵解的中间产物,可以被丙酮酸激酶催化分解,从而快速提供ATP。有报道称,正常老年人与年轻人的血清PEP浓度比值高达十余倍^[54]。AN等^[55]发现PEP的补充增加了HUVECs中的耗氧率和糖酵解速率,并首次在研究发现了50~250 μmol/L的PEP可以显著促进THP-1单核细胞与人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)的黏附。同时,该剂量的PEP降低了HUVECs细胞

内皮一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)和一氧化氮含量。此外, PEP的补充增加了ROS水平, SA-β-Gal染色水平增强,并上调了细胞阻滞相关蛋白如p21、p16的表达,以及促炎因子包括TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8、IL-18和MCP-1的表达,通过补充PEP上调HUVECs糖酵解通量引起了衰老现象。在衰老过程中,由于激活转录因子ATF4的转录减少,糖酵解侧支的丝氨酸生物合成酶PHGDH的表达水平显著降低,抑制丝氨酸的合成。PHGDH与丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase isozyme type M2, PKM2)相互作用阻止后者K305乙酰化和被降解;此外, PKM2 K433被乙酰化,刺激PKM2核转位并调节磷酸化H3T11的活性从而影响衰老相关基因的转录,说明糖酵解侧支的相关基因也参与到内皮衰老中^[56]。内皮细胞持续暴露于高糖环境下造成氧化损伤导致细胞衰老,敲低FOXO1(forkhead box O1)则可以刺激糖酵解关键酶6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-二磷酸酶3(6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3, PFKFB3)表达增加,一方面直接促进糖酵解,另一方面通过PFKFB3定位到DNA损伤位点调控下游MRN-ATM途径,发挥非经典功能参与DNA损伤修复,从而减轻糖酵解依赖性DNA修复缺陷的糖尿病内皮细胞衰老表型,改善高血糖诱导的血管功能障碍,即FOXO1通过调控PFKFB3介导的经典和非经典功能影响内皮细胞衰老^[51]。SIRT1是糖酵解的重要调节者,另有研究发现丹参酮IIA(Tanshinone IIA, TSA)通过激活SIRT1/eNOS信号通路,减轻过氧化氢诱导的内皮细胞衰老^[57]。以上发现说明通过糖酵解产物调节或转录因子调节均能实现对血管内皮细胞衰老的有效调控。

综上,衰老的血管内皮细胞发生了显著性的代谢重构,糖酵解在衰老进展中发挥了重要作用,并且通过调控内皮细胞糖酵解途径的关键酶和产物可以影响衰老表型,在后续我们将进一步阐述糖酵解在血管内皮细胞衰老介导的疾病中的重要性 and 调控方式,增加对相关疾病的理解和提供治疗以及预后思路。

4 血管内皮细胞衰老通过介导糖酵解影响血管生成

内皮细胞是血管新生特别是血管芽生方式的主要贡献者,在外界刺激诱导下,血管内皮细胞从静

息态转为激活态,首先形成芽生的特殊细胞形式,即在顶端伸出多簇伪足的内皮尖端细胞,以及其后方起到支撑作用的内皮柄细胞(stalk cell);随后芽生结构不断向前衍生,当触碰到另一个相似结构或是成熟血管时,在接触部位发生融合,形成管腔,血液连通,新生血管形成^[28]。

在不同状态下,可以通过调控糖酵解中几个重要的酶来影响内皮细胞的糖酵解活性。糖酵解作为血管内皮细胞行使功能的主要能量途径,当内皮细胞处于静息状态时,相对于激活状态糖酵解受到了抑制:PFKFB3、己糖激酶2(human kallikrein 2, HK2)等糖酵解相关基因会由于转录因子KLF2的激活而被抑制^[58],FOXO1则可以通过抑制转录因子MYC间接抑制糖酵解^[59]。另外,血液中的许多生长因子(VEGF、FGF)也可以通过激活糖酵解来促进内皮细胞行使血管新生的功能^[60]。衰老的内皮细胞表现出一氧化氮的产生和血栓调节蛋白的表达减少,黏附分子的表达增加,活性氧和炎性细胞因子的产生增加,并且增殖和形成毛细血管样结构能力被显著抑制。内皮细胞衰老可促进血管舒张和凝血功能失调、诱导氧化应激和炎症,导致内皮功能障碍及相关的血管生成过程被抑制^[61]。显而易见的是在内皮细胞衰老进程中糖酵解发生显著变化,因此衰老很有可能通过该通路中相关基因的转录调控来影响血管生成。

5 糖酵解途径与心血管类内皮细胞衰老相关疾病

此外也有证据表明影响细胞的糖酵解开关会影响到机体的内皮细胞衰老的相关疾病,目前认为血管动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)易发区域常出现血管内皮细胞的衰老,并且伴随糖酵解水平增加,这是导致炎症和动脉硬化病变的重要原因^[62]。在病理条件下,糖酵解代谢产物乳酸可以通过调节脂质沉积、钙化、斑块血管生成等参与动脉粥样硬化的过程,在这个过程中,内皮细胞的通透性和功能显著受损^[63]。

AS斑块形成的过程起始于EC损伤,在糖尿病相关的动脉粥样硬化中,高糖的血液环境可触发ECs中ROS的过度生成,有研究发现这种应激会促进ECs发生衰老。YANG等^[62]发现敲低AMPK α 1/PRKAA1能抑制血管内皮细胞的增殖和降低糖酵解速率,同时

血管内皮的通透性增加,由该通路驱动的糖酵解升高被认为是动脉粥样硬化病变的保护机制。本研究中作者并未直接提及血管内皮细胞衰老,虽然通常认为内皮细胞通透性增加是由于NO合成减少所导致的,但关于细胞通透性和衰老之间的关系仍需要深入探究与验证。众多证据表明,糖尿病患者的心血管并发症的继发于是由于触发了PARP-1的激活,从而介导了糖尿病心血管并发症的发生和进展,该核酶是参与ECs核DNA损伤修复中的糖酵解依赖的关键酶^[64-65]。内皮细胞还参与了血管炎症相关的心力衰竭,钠-葡萄糖共转运体2(sodium-glucose co-transporter 2, SGLT2)抑制剂Cana(Canagliflozin)可以通过抑制HK2来降低炎症水平,表明靶向内皮HK可能是一种新的抗炎症衰老相关的抗心衰机制^[66]。磷酸果糖激酶1(phosphofructokinase-1, PFK-1)是糖酵解代谢中的一种重要的速率限制酶,负责将果糖-6-磷酸和ATP转化为果糖-1,6-二磷酸和ADP。在心脏衰竭的内皮细胞中分析研究发现,PFKP亚型表达水平显著升高,通过抑制PFKP可以阻断Nppb的表达,Nppb是CM重构和心力衰竭的重要标志物。这表明糖酵解PFKP酶参与了心脏内皮细胞的重构反应,可能对心衰有所贡献。PFK活性的增加还进一步上调了糖酵解通量,减少了丙酮酸和乳酸的积累,引起了心脏收缩功能障碍^[67]。以上说明了调控血管内皮细胞糖酵解基因和代谢物是治疗心血管类疾病的重要手段。

6 内皮细胞衰老与肿瘤进展

内皮细胞的代谢以及命运转变与肿瘤进展存在密切联系。肿瘤细胞也是一类以糖酵解作为主要能量来源的细胞,靶向抑制肿瘤细胞的糖酵解能显著遏制癌症进程。肿瘤相关的血管内皮细胞比一般的血管内皮细胞显示出更强的糖酵解活性,表现为GLUT1和PFKFB3的上调,调控血管内皮细胞相关的糖酵解功能则可以显著抑制癌细胞增殖与扩散^[68-69]。而转录组数据显示,在多种癌症类型中,与肿瘤细胞或恶性肿瘤血管中的其他细胞相比,血管内皮细胞表现出的衰老程度最高^[70]。结合前文提到的血管内皮细胞衰老引起的糖酵解通量变化,因此我们认为在肿瘤微环境中,血管内皮细胞的衰老所致糖酵解改变是影响肿瘤发生发展的重要机制之一。

有研究表明抑制血管内皮细胞的糖酵解相关的PFKFB3活性能够通过抑制血管的恶化和过度增

长来减轻肿瘤进展,但需要注意的是低剂量和高剂量的抑制剂3PO都是为了将内皮细胞的糖酵解降低到正常水平而非过低的状态,否则将引起内皮细胞的死亡,破坏血管屏障促进肿瘤转移^[71]。因此当内皮细胞衰老后糖酵解的下调可能也会影响癌细胞的增殖、迁移。

通常认为在肿瘤组织中,当病人接受化疗或放疗等治疗形式所产生的衰老血管内皮细胞,会产生相关的SASP因子,影响肿瘤增殖与促进迁移。FISCHER等^[72]发现在人色素瘤的内皮细胞中Notch1受体(Notch1 receptors, N1ICD)常呈现为激活状态,持续的N1ICD活性诱导了血管内皮细胞衰老,促进了VCAM1的表达,从而促进了中性粒细胞浸润、肿瘤细胞与血管内皮细胞的黏附和血管内浸润,因此,持续的血管Notch信号促使血管内皮细胞产生衰老相关转移信号来促进肿瘤转移。电离辐射和阿霉素能诱导HUVECs发生衰老,乳腺癌细胞与衰老HUVECs共培养或者上清共孵育培养能显著促进癌细胞的增殖、迁移和侵袭。其中趋化因子CXCL11在该体系的侵袭活性中起主要作用,用中和性抗体或SiRNA处理则显著削弱了癌细胞恶化的表型,因此CXCL11可以作为一个潜在靶点,防止治疗诱导的衰老内皮细胞对肿瘤微环境产生不良影响^[73]。

以上研究说明了血管内皮细胞的衰老直接影响了癌细胞的增殖与侵袭,并且可能通过调控糖酵解变化来影响恶化表型,但是目前对于这一可能的潜在机制尚无深入的研究。显而易见的是由血管内皮细胞衰老所引起的糖酵解变化必然引起了血管完整性和通透性方面的改变进而影响肿瘤进展,但是我们需要考虑的是糖酵解这一通路在其中的贡献占比量。这些促癌相关的SASP因子是否与血管内皮细胞的糖酵解通路存在串扰,与相关酶是否存在相近通路和相互作用的转录因子。目前肿瘤细胞微环境对肿瘤细胞的代谢重编程作用已被广泛研究,但是内皮细胞的衰老所引起的微环境改变值得进一步探索,对其中的因子尤其是与糖酵解重要基因联动的因子变化的鉴别可能是很重要的工作。

7 问题与展望

血管内皮细胞衰老是机体非常普遍发生的现象,参与多种泛血管类相关疾病的发生发展。衰老内皮细胞的代谢重编程发生深刻转变,但是糖酵解

的变化尚且存在争议,不同的细胞类型和刺激因素以及通量变化指标的不一致性可能是造成这种不同的原因,因此通过靶向糖酵解途径的各类代谢酶来解决内皮细胞的衰老问题可能也需要采取不同的策略。由于内皮细胞的衰老在心血管类疾病中的角色十分重要,并且糖酵解途径的异常扰动是血管内皮细胞衰老相关血管性疾病的常见因素和后果,调控糖酵解相关关键酶或糖酵解依赖性的其他转录因子均能够改善心血管相关疾病。但是虽然已经有证据表明衰老血管内皮细胞的糖酵解存在变化,但是血管相关衰老疾病是否是由血管内皮细胞衰老的糖酵解变化直接引起的尚未有明确的说法。关于内皮细胞衰老促进肿瘤的进展是一大研究方向,尤其是SASP的参与非常关键,但是这是否是通过糖酵解来驱动的以及是否借此改变肿瘤细胞的糖酵解或相关能量供给构成仍是一个值得深刻探究的领域。除此之外,在各种肿瘤微环境衰老与血管内皮细胞相互影响的肿瘤类型中,需要进一步分析肿瘤特性,明确靶向衰老的利弊之处所在,这可能对临床治疗的指导应用具有重要意义。

参考文献 (References)

- [1] ZHANG L, PITCHER L E, YOUSEFZADEH M J, et al. Cellular senescence: a key therapeutic target in aging and diseases [J]. J Clin Invest, 2022, 132(15): e158450.
- [2] KUDLOVA N, DE SANCTIS J B, HAJDUCH M. Cellular senescence: molecular targets, biomarkers, and senolytic drugs [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(8): 4168.
- [3] KUILMAN T, MICHALOGLOU C, MOOI W J, et al. The essence of senescence [J]. Genes Dev, 2010, 24(22): 2463-79.
- [4] GORGOULIS V, ADAMS P D, ALIMONTI A, et al. Cellular senescence: defining a path forward [J]. Cell, 2019, 179(4): 813-27.
- [5] MCHUGH D, GIL J. Senescence and aging: causes, consequences, and therapeutic avenues [J]. J Cell Biol, 2018, 217(1): 65-77.
- [6] CUOLLO L, ANTONANGELI F, SANTONI A, et al. The senescence-associated secretory phenotype (SASP) in the challenging future of cancer therapy and age-related diseases [J]. Biology, 2020, 9(12): 485.
- [7] MUNOZ-ESPIN D, CANAMERO M, MARAVER A, et al. Programmed cell senescence during mammalian embryonic development [J]. Cell, 2013, 155(5): 1104-18.
- [8] STORER M, MAS A, ROBERT-MORENO A, et al. Senescence is a developmental mechanism that contributes to embryonic growth and patterning [J]. Cell, 2013, 155(5): 1119-30.
- [9] LI Y, ZHAO H, HUANG X, et al. Embryonic senescent cells re-enter cell cycle and contribute to tissues after birth [J]. Cell Res, 2018, 28(7): 775-8.
- [10] CHU X, WEN J, RAJU R P. Rapid senescence-like response af-

- ter acute injury [J]. *Aging Cell*, 2020, 19(9): e13201.
- [11] DEMARIA M, OHTANI N, YOUSSEF S A, et al. An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA [J]. *Dev Cell*, 2014, 31(6): 722-33.
 - [12] RITSCHKA B, STORER M, MAS A, et al. The senescence-associated secretory phenotype induces cellular plasticity and tissue regeneration [J]. *Genes Dev*, 2017, 31(2): 172-83.
 - [13] FURMAN D, CAMPISI J, VERDIN E, et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span [J]. *Nat Med*, 2019, 25(12): 1822-32.
 - [14] FRANCESCHI C, CAMPISI J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2014, doi: 10.1093/gerona/glu057.
 - [15] CEVENINI E, MONTI D, FRANCESCHI C. Inflamm-aging [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2013, 16(1): 14-20.
 - [16] FRANCESCHI C, BONAFE M, VALENSIN S, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, 908: 244-54.
 - [17] MACIEL-BARON L A, MORALES-ROSALES S L, AQUINO-CRUZ A A, et al. Senescence associated secretory phenotype profile from primary lung mice fibroblasts depends on the senescence induction stimuli [J]. *Age*, 2016, 38(1): 26.
 - [18] GALLAGE S, GIL J. Mitochondrial dysfunction meets senescence [J]. *Trends Biochem Sci*, 2016, 41(3): 207-9.
 - [19] DIMRI G P, LEE X H, BASILE G, et al. A Biomarker that identifies senescent human-cells in culture and in aging skin *in-vivo* [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(20): 9363-7.
 - [20] AUGUSTIN H G, KIPNIS J. Vascular rejuvenation is geroprotective [J]. *Science*, 2021, 373(6554): 490-1.
 - [21] 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.
 - [22] DE BOCK K, GEORGIADOU M, SCHOORS S, et al. Role of PFKFB3-driven glycolysis in vessel sprouting [J]. *Cell*, 2013, 154(3): 651-63.
 - [23] KRUGER-GENGE A, BLOCKI A, FRANKE R P, et al. Vascular endothelial cell biology: an update [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4411.
 - [24] MINAMI T, MURAMATSU M, KUME T. Organ/tissue-specific vascular endothelial cell heterogeneity in health and disease [J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(10): 1609-19.
 - [25] COLLEN D. Ham-Wasserman lecture: role of the plasminogen system in fibrin-homeostasis and tissue remodeling [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2001, doi: 10.1182/asheducation-2001.1.1.
 - [26] GIMBRONE M A, Jr, GARCIA-CARDENA G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 620-36.
 - [27] LEVIN E G, LOSKUTOFF D J. Cultured bovine endothelial-cells produce both urokinase and tissue-type plasminogen activators [J]. *J Cell Biol*, 1982, 94(3): 631-6.
 - [28] NAITO H, IBA T, TAKAKURA N. Mechanisms of new blood-vessel formation and proliferative heterogeneity of endothelial cells [J]. *Int Immunol*, 2020, 32(5): 295-305.
 - [29] ERUSALIMSKY J D. Vascular endothelial senescence: from mechanisms to pathophysiology [J]. *J Appl Physiol*, 2009, 106(1): 326-32.
 - [30] CHALA N, MOIMAS S, GIAMPIETRO C, et al. Mechanical fingerprint of senescence in endothelial cells [J]. *Nano Lett*, 2021, 21(12): 4911-20.
 - [31] WANG C, BAKER B M, CHEN C S, et al. Endothelial cell sensing of flow direction [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(9): 2130-6.
 - [32] HAYASHI T, YANO K, MATSUI-HIRAI H, et al. Nitric oxide and endothelial cellular senescence [J]. *Pharmacol Therapeut*, 2008, 120(3): 333-9.
 - [33] HAYASHI T, MATSUI-HIRAI H, MIYAZAKI-AKITA A, et al. Endothelial cellular senescence is inhibited by nitric oxide: Implications in atherosclerosis associated with menopause and diabetes [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(45): 17018-23.
 - [34] LOPEZ-OTIN C, BLASCO M A, PARTRIDGE L, et al. Hallmarks of aging: an expanding universe [J]. *Cell*, 2023, 186(2): 243-78.
 - [35] 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.
 - [36] MINAMINO T, MIYAUCHI H, YOSHIDA T, et al. Endothelial cell senescence in human atherosclerosis: role of telomere in endothelial dysfunction [J]. *Circulation*, 2002, 105(13): 1541-4.
 - [37] LÓPEZ-OTIN C, BLASCO M A, PARTRIDGE L, et al. Hallmarks of aging: an expanding universe [J]. *Cell*, 2023, 186(2): 243-78.
 - [38] CRESPO-GARCIA S, TSURUDA P R, DEJDA A, et al. Pathological angiogenesis in retinopathy engages cellular senescence and is amenable to therapeutic elimination via BCL-xL inhibition [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(4): 818-32, e7.
 - [39] JIANG Y H, JIANG L Y, WANG Y C, et al. Quercetin attenuates atherosclerosis modulating oxidized LDL-induced endothelial cellular senescence [J]. *Frontiers Pharmacol*, 2020, doi: 10.3389/fphar.2020.00512.
 - [40] DOOKUN E, WALASZCZYK A, REDGRAVE R, et al. Clearance of senescent cells during cardiac ischemia-reperfusion injury improves recovery [J]. *Aging Cell*, 2020, 19(10): e13249.
 - [41] ANDERSON R, LAGNADO A, MAGGIORANI D, et al. Length-independent telomere damage drives post-mitotic cardiomyocyte senescence [J]. *EMBO J*, 2019, 38(5): e100492.
 - [42] CHILDS B G, BAKER D J, WIJSHAKE T, et al. Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis [J]. *Science*, 2016, 354(6311): 472-7.
 - [43] HUNT T K, ASLAM R S, BECKERT S, et al. Aerobically derived lactate stimulates revascularization and tissue repair via redox mechanisms [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2007, 9(8): 1115-24.
 - [44] RUAN G X, KAZLAUSKAS A. Lactate engages receptor tyrosine kinases Axl, Tie2, and vascular endothelial growth factor receptor 2 to activate phosphoinositide 3-kinase/Akt and promote angiogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(29): 21161-72.
 - [45] SONVEAUX P, COPETTI T, DE SAEDELEER C J, et al. Targeting the lactate transporter MCT1 in endothelial cells inhibits lactate-induced HIF-1 activation and tumor angiogenesis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33418.
 - [46] VÉGRAN F, BOIDOT R, MICHIELS C, et al. Lactate influx

- through the endothelial cell monocarboxylate transporter MCT1 supports an NF- κ B/IL-8 pathway that drives tumor angiogenesis [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(7): 2550-60.
- [47] BUCHWALD P. A local glucose-and oxygen concentration-based insulin secretion model for pancreatic islets [J]. *Theor Biol Med Model*, 2011, 8: 20.
- [48] GATENBY R A, GILLIES R J. Why do cancers have high aerobic glycolysis [J]? *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(11): 891-9.
- [49] HAN Y, KIM S Y. Endothelial senescence in vascular diseases: current understanding and future opportunities in senotherapeutics [J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(1): 1-12.
- [50] UNTERLUGGAUER H, MAZUREK S, LENER B, et al. Premature senescence of human endothelial cells induced by inhibition of glutaminase [J]. *Biogerontology*, 2008, 9(4): 247-59.
- [51] SUN D, CHEN S, LI S, et al. Enhancement of glycolysis-dependent DNA repair regulated by FOXO1 knockdown via PFKFB3 attenuates hyperglycemia-induced endothelial oxidative stress injury [J]. *Redox Biol*, 2023, 59: 102589.
- [52] KUOSMANEN S M, SIHVOLA V, KANSANEN E, et al. MicroRNAs mediate the senescence-associated decline of NRF2 in endothelial cells [J]. *Redox Biol*, 2018, 18: 77-83.
- [53] STABENOW L K, ZIBROVA D, ENDER C, et al. Oxidative glucose metabolism promotes senescence in vascular endothelial cells [J]. *Cells*, 2022, 11(14): 2213.
- [54] GOMES A P, ILTER D, LOW V, et al. Age-induced accumulation of methylmalonic acid promotes tumour progression [J]. *Nature*, 2020, 585(7824): 283-7.
- [55] AN T, ZHANG X Y, GAO X, et al. Phosphoenolpyruvate induces endothelial dysfunction and cell senescence through stimulation of metabolic reprogramming [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2023, 55(2):103-114.
- [56] WU Y, TANG L, HUANG H, et al. Phosphoglycerate dehydrogenase activates PKM2 to phosphorylate histone H3T11 and attenuate cellular senescence [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 1323.
- [57] XIAO X, XU M, FANG Y. Tanshinone IIA attenuates hydrogen peroxide-induced senescence of human umbilical vein endothelial cells through activating SIRT1/eNOS pathway [J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2019, 35(9): 806-11.
- [58] DODDABALLAPUR A, MICHALIK K M, MANAVSKI Y, et al. Laminar shear stress inhibits endothelial cell metabolism via KLF2-mediated repression of PFKFB3 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(1): 137-45.
- [59] WILHELM K, HAPPEL K, EELEN G, et al. FOXO1 couples metabolic activity and growth state in the vascular endothelium [J]. *Nature*, 2016, 529(7585): 216-U26.
- [60] YU P, WILHELM K, DUBRAC A, et al. FGF-dependent metabolic control of vascular development [J]. *Nature*, 2017, 545(7653): 224-8.
- [61] WANG Y, BOERMA M, ZHOU D. Ionizing radiation-induced endothelial cell senescence and cardiovascular diseases [J]. *Radiat Res*, 2016, 186(2): 153-61.
- [62] YANG Q, XU J, MA Q, et al. PRKAA1/AMPK α 1-driven glycolysis in endothelial cells exposed to disturbed flow protects against atherosclerosis [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4667.
- [63] XU R, YUAN W, WANG Z. Advances in glycolysis metabolism of atherosclerosis [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2023, 16(2): 476-90.
- [64] GARCIA SORIANO F, VIRAG L, JAGTAP P, et al. Diabetic endothelial dysfunction: the role of poly (ADP-ribose) polymerase activation [J]. *Nat Med*, 2001, 7(1): 108-13.
- [65] PACHER P, OBROSOVA I G, MABLEY J G, et al. Role of nitrosative stress and peroxynitrite in the pathogenesis of diabetic complications. Emerging new therapeutical strategies [J]. *Curr Med Chem*, 2005, 12(3): 267-75.
- [66] UTHMAN L, KUSCHMA M, ROMER G, et al. Novel anti-inflammatory effects of canagliflozin involving hexokinase II in lipopolysaccharide-stimulated human coronary artery endothelial cells [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2021, 35(6): 1083-94.
- [67] VIGIL-GARCIA M, DEMKES C J, EDING J E C, et al. Gene expression profiling of hypertrophic cardiomyocytes identifies new players in pathological remodelling [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(6): 1532-45.
- [68] CANTELMO A R, CONRADI L C, BRAJIC A, et al. Inhibition of the glycolytic activator PFKFB3 in endothelium induces tumor vessel normalization, impairs metastasis, and improves chemotherapy [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(6): 968-85.
- [69] YE H W L, LIN C J, FU W M. Enhancement of glucose transporter expression of brain endothelial cells by vascular endothelial growth factor derived from glioma exposed to hypoxia [J]. *Mol Pharmacol*, 2008, 73(1): 170-7.
- [70] WU Z, UHL B, GIRE S O, et al. A transcriptomic pan-cancer signature for survival prognostication and prediction of immunotherapy response based on endothelial senescence [J]. *J Biomed Sci*, 2023, 30(1): 21.
- [71] CONRADI L C, BRAJIC A, CANTELMO A R, et al. Tumor vessel disintegration by maximum tolerable PFKFB3 blockade [J]. *Angiogenesis*, 2017, 20(4): 599-613.
- [72] WIELAND E, RODRIGUEZ-VITA J, LIEBLER S S, et al. Endothelial Notch1 activity facilitates metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(3): 355-67.
- [73] HWANG H J, LEE Y R, KANG D, et al. Endothelial cells under therapy-induced senescence secrete CXCL11, which increases aggressiveness of breast cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2020, 490: 100-10.