

## 血管紧张素(1-7)通过 p53/Drp1 轴对血管紧张素 II 诱导的血管内皮细胞衰老的影响

郭春玲<sup>1</sup>, 逯朝阳<sup>2</sup>, 杨滨<sup>2</sup>, 荣书玲<sup>2</sup>, 王瑞英<sup>2</sup>, 杨志明<sup>2</sup>, 李保<sup>2</sup>

(1. 山西医科大学, 山西省太原市 030001; 2. 山西医科大学第二医院心血管内科, 山西省太原市 030013)

[关键词] 血管紧张素(1-7); 血管紧张素 II; 人脐静脉内皮细胞; 衰老

[摘要] **目的** 观察血管紧张素(1-7) [Ang(1-7)] 对血管紧张素 II (Ang II) 诱导的人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 衰老的作用及机制。**方法** 体外用含有 10% 胎牛血清 (FBS) 的 DMEM 培养基培养 HUVEC 48 h, 随机分为对照组、Ang(1-7) 组 (1  $\mu$ mol/L)、Ang II 组 (1  $\mu$ mol/L) 和 Ang II + Ang(1-7) 组。通过细胞衰老  $\beta$ -半乳糖苷酶 (SA- $\beta$ -Gal) 染色试剂盒检测各组衰老细胞数量 (光学显微镜观察), 通过活性氧检测试剂盒测定各组细胞活性氧 (ROS) 的水平, 通过 Western blot 检测各组细胞 p53 和动力蛋白相关蛋白 1 (Drp1) 的表达。**结果** 与对照组比较, Ang II 组 SA- $\beta$ -Gal 染色阳性细胞明显增多 ( $P < 0.001$ ), 细胞 ROS 水平增加 ( $P < 0.001$ ), p53 及 Drp1 蛋白表达量明显增加 ( $P < 0.01$ )。与 Ang II 组比较, Ang II + Ang(1-7) 组 SA- $\beta$ -Gal 染色阳性细胞率 ( $P < 0.01$ )、细胞 ROS 水平 ( $P < 0.001$ )、p53 及 Drp1 蛋白表达量 ( $P < 0.05$ ) 均降低。**结论** Ang(1-7) 可能通过影响 p53/Drp1 通路, 抑制 HUVEC 内 ROS 生成, 减轻 Ang II 诱导的 HUVEC 衰老。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

### Effect of angiotensin (1-7) on angiotensin II-induced vascular endothelial cell senescence by the p53/Drp1 pathway

GUO Chunling<sup>1</sup>, LU Zhaoyang<sup>2</sup>, YANG Bin<sup>2</sup>, RONG Shuling<sup>2</sup>, WANG Ruiying<sup>2</sup>, YANG Zhiming<sup>2</sup>, LI Bao<sup>2</sup>

(1. Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China; 2. Department of Cardiology, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030013, China)

[KEY WORDS] angiotensin (1-7); angiotensin II; human umbilical vein endothelial cell; aging

[ABSTRACT] **Aim** The purpose of this study was to observe the effect and mechanism of angiotensin (1-7) (Ang(1-7)) on angiotensin II (Ang II)-induced senescence of human umbilical vein endothelial cell (HUVEC). **Methods** HUVEC were cultured in vitro with DMEM high glucose medium containing 10% fetal bovine serum (FBS) for 48 hours and randomly divided into control group, Ang(1-7) group (1  $\mu$ mol/L), Ang II group (1  $\mu$ mol/L), and Ang II + Ang(1-7) group. Cell senescence  $\beta$ -galactosidase (SA- $\beta$ -Gal) staining kits were used to detect the number of senescent cell in each group (observed under an optical microscope); reactive oxygen species (ROS) levels were measured using reactive oxygen detection kits, and p53 and dynamin related protein-1 (Drp1) expression in each group were detected by Western blot.

**Results** Compared with the control group, both SA- $\beta$ -Galpositive cell and ROS levels in the Ang II group were significantly increased ( $P < 0.001$ ), and p53 and Drp1 protein expression in the cell were significantly increased ( $P < 0.01$ ). Compared with Ang II group, SA- $\beta$ -Galpositive cell ( $P < 0.01$ ), ROS levels ( $P < 0.001$ ), p53 and Drp1 protein expression ( $P < 0.05$ ) were decreased in Ang II + Ang(1-7) group.

**Conclusion** Ang(1-7) may inhibit the ROS generation in HUVEC by affecting the p53/Drp1 pathway, and reverse the aging of HUVEC induced by Ang II.

[收稿日期] 2019-12-09

[修回日期] 2020-05-01

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(81900275); 山西省青年科技研究基金面上项目(201801D221273); 山西省重点研发计划项目(201803D31116)

[作者简介] 郭春玲, 硕士研究生, 研究方向为冠心病的基础与临床, E-mail 为 guochunling2018@163.com。通信作者李保, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管疾病基础研究及临床诊治, E-mail 为 libaoxys@163.com。

衰老是心血管疾病的一个独立危险因素<sup>[1]</sup>,越来越多的证据表明内皮细胞衰老在心血管疾病的发生发展中起重要作用<sup>[2-3]</sup>。肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 参与了动脉粥样硬化的发生及发展<sup>[4]</sup>。血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 是 RAAS 的主要活性肽激素,有证据表明 Ang II 可促进内皮细胞衰老<sup>[5]</sup>。研究证实,异常活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 增多可介导血管衰老<sup>[6]</sup>,动力蛋白相关蛋白 1 (dynamin related protein-1, Drp1) 表达增高可引起细胞内 ROS 的过量产生。p53 是调控细胞衰老的重要转录因子, Qi 等<sup>[7]</sup>研究表明, p53 可调控 Drp1 的表达。血管紧张素 (1-7) [angiotensin (1-7), Ang (1-7)] 具有抗炎、抗氧化<sup>[8]</sup>、抗动脉粥样硬化<sup>[9]</sup>等心血管保护作用。近年来, Romero 等<sup>[10]</sup>研究表明 Ang (1-7) 是一种抗衰老肽。但是 Ang (1-7) 是否能逆转 Ang II 诱导的人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 衰老尚不清楚。本研究猜测: Ang (1-7) 可能通过影响 p53/Drp1 通路, 抑制 HUVEC 内 ROS 生成, 减轻 Ang II 诱导的 HUVEC 衰老。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

HUVEC 购自中国科学院上海细胞库; Ang (1-7)、Ang II 购自 Sigma 公司; 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自美国 Gibco 公司; 细胞裂解液 RIPA、蛋白定量试剂盒 (BCA 法) 购自北京索莱宝科技有限公司; 衰老相关  $\beta$ -半乳糖苷酶 (senescence associated  $\beta$  galactosidase, SA- $\beta$ -Gal) 染色试剂盒购自上海碧云天公司; DMEM 高糖培养基、青链霉素混合液、含 EDTA 的 0.25 g/L 胰蛋白酶购自武汉博士德生物公司, Drp1 抗体购自 Santa Cruz 公司, p53 抗体购自万类生物公司。

### 1.2 细胞

人脐静脉内皮细胞株在 37℃ 恒温水浴中 1 min 内迅速解冻, 严格无菌操作移入细胞培养瓶中, 加入含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 置培养箱中于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下静置培养, 观察细胞生长状态, 每隔 3 天换培养液 1 次, 待细胞融合为铺路石状时, 将细胞用含 EDTA 的胰蛋白酶消化传代, 选择生长良

好的一代细胞用于实验 (一般取第 3~7 代), 细胞贴壁达到 80% 后进行试验。

### 1.3 实验分组

经过前期大量预实验及查阅文献<sup>[11-12]</sup>, 确定 Ang II、Ang (1-7) 最适浓度均为 1  $\mu$ mol/L, 实验分为 4 组。①对照组; ②Ang (1-7) 组: 1  $\mu$ mol/L Ang (1-7) 完全培养液作用细胞 48 h; ③Ang II 组: 1  $\mu$ mol/L Ang II 完全培养液作用细胞 48 h; ④Ang II + Ang (1-7) 组: 先用 1  $\mu$ mol/L Ang (1-7) 干预 30 min, 然后加入含有 1  $\mu$ mol/L Ang II 完全培养液培养 48 h。

### 1.4 SA- $\beta$ -半乳糖苷酶染色

参照试剂盒说明书, 先吸除细胞培养液, PBS 洗涤 1 次, 加入 1 mL  $\beta$ -半乳糖苷酶染色固定液, 室温固定 15 min, PBS 洗涤细胞 3 次, 每次约 3 min。吸除 PBS, 每孔加入 1 mL 染色工作液 (ABC 染色液 x-gal 混合液现配现用), 37℃ 无 CO<sub>2</sub> 孵育过夜。普通光学显微镜下计数胞质蓝染细胞数目, 随机细胞计数 8 个视野, 每个视野至少 50 个细胞, 计算细胞染色阳性率。显微镜下观察体积增大、胞质和胞核出现蓝色沉淀物的细胞为阳性细胞, 即为衰老细胞。计数各组 HUVEC 衰老细胞数, 衰老细胞阳性率 (%) = (衰老细胞数/观察细胞总数)  $\times$  100%。

### 1.5 细胞内活性氧的检测

参照试剂盒说明, 用 DCFH-DA 探针检测活性氧 (ROS)。本身没有荧光的 DCFH-DA 可穿过细胞膜进入细胞, 在胞内转化生成 DCFH。在 ROS 存在的条件下, DCFH 被氧化生成荧光物质 DCF, 绿色荧光强度与细胞的 ROS 水平呈正比, 在激发波长 502 nm、发射波长 530 nm 附近, 用荧光酶标仪检测 DCF 荧光, 从而测定细胞内 ROS 水平。

### 1.6 Western blot 法测定 p53 和 Drp1 蛋白表达水平

加入 RIPA 细胞裂解液, 离心, 提取总蛋白。将每个样本等量 (20  $\mu$ g) 进行电泳、切胶, 电转移, 然后转膜, 封闭, 并依次孵育一抗和二抗, ECL 显影分析 p53 和 Drp1 蛋白的表达情况。

### 1.7 统计学分析

应用 SPSS22.0 统计学软件进行分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 多组间的两两比较采用 *t* 检验, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组 SA- $\beta$ -Gal 染色阳性率的比较

与对照组比较, Ang II 组 SA- $\beta$ -Gal 染色阳性细

胞明显增多( $P<0.001$ ), Ang(1-7) 组阳性细胞数变化不大( $P>0.05$ )。与 Ang II 组比较, Ang II + Ang(1-7) 组阳性细胞数明显降低( $P<0.01$ ; 图 1)。

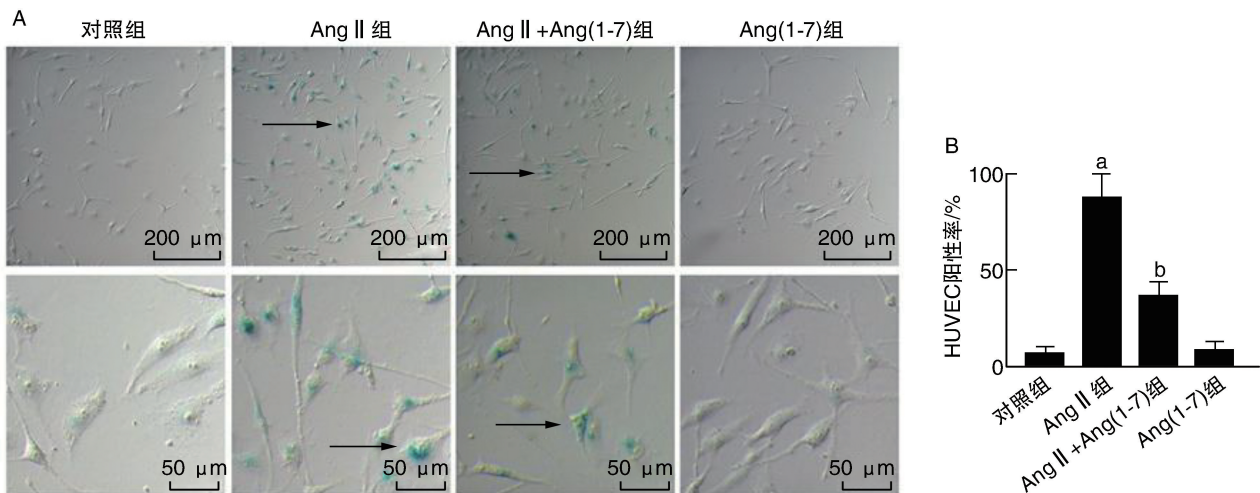


图 1. Ang(1-7) 对 Ang II 诱导的细胞衰老的影响 A 为 SA- $\beta$ -Gal 染色图, 图中黑色箭头所指为 SA- $\beta$ -Gal 阳性细胞; B 为各组 SA- $\beta$ -Gal 染色阳性率统计图( $n=8$ )。a 为  $P<0.001$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.01$ , 与 Ang II 组比较。

Figure 1. Effect of Ang(1-7) on Ang II-induced HUVEC senescence

### 2.2 Ang(1-7) 可降低 Ang II 诱导细胞内 ROS 的生成

与对照组比较, Ang II 组细胞 ROS 生成明显增

多( $P<0.001$ ); Ang(1-7) 组 ROS 生成无明显变化( $P>0.05$ )。与 Ang II 组比较, Ang II + Ang(1-7) 组 ROS 生成明显减少( $P<0.001$ ; 图 2)。

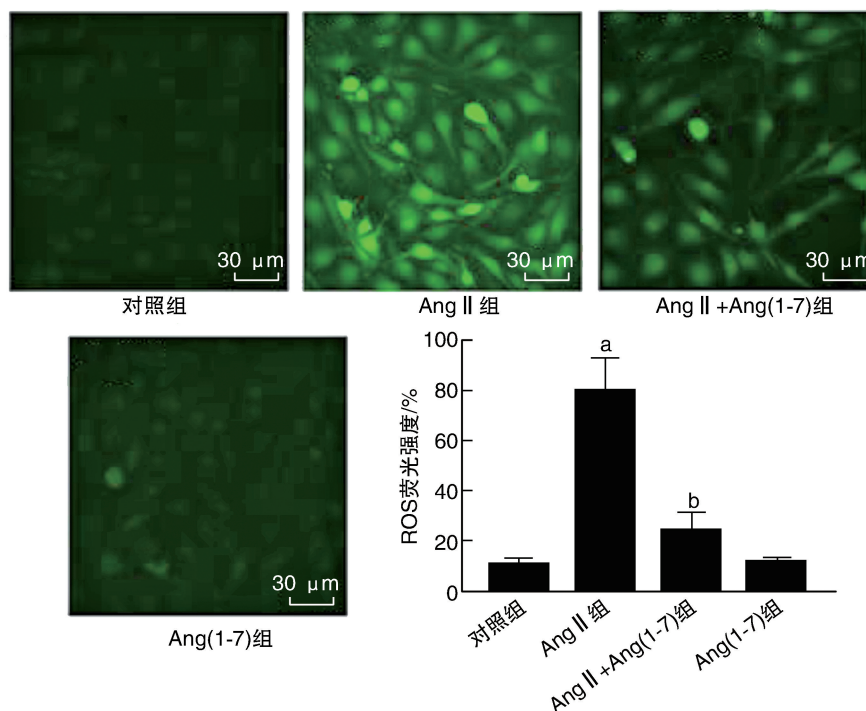


图 2. Ang(1-7) 降低 Ang II 诱导的 HUVEC 中 ROS 过度生成 绿色所示为各组细胞 ROS 荧光; 柱状图为各组细胞 ROS 荧光强度统计( $n=3$ )。a 为  $P<0.001$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.001$ , 与 Ang II 组比较。

Figure 2. Ang(1-7) reduced the production of Ang II-induced ROS in HUVEC



### 2.3 Ang(1-7)抑制 Ang II 诱导的 p53 和 Drp1 蛋白的表达

与对照组比较, Ang II 组细胞 p53、Drp1 蛋白表达量明显增多 ( $P < 0.01$ ), Ang(1-7) 组 p53、Drp1 蛋白表达量无明显变化 ( $P > 0.05$ )。与 Ang II 组比较, Ang II + Ang(1-7) 组 p53、Drp1 蛋白表达量降低 ( $P < 0.05$ ; 图 3)。

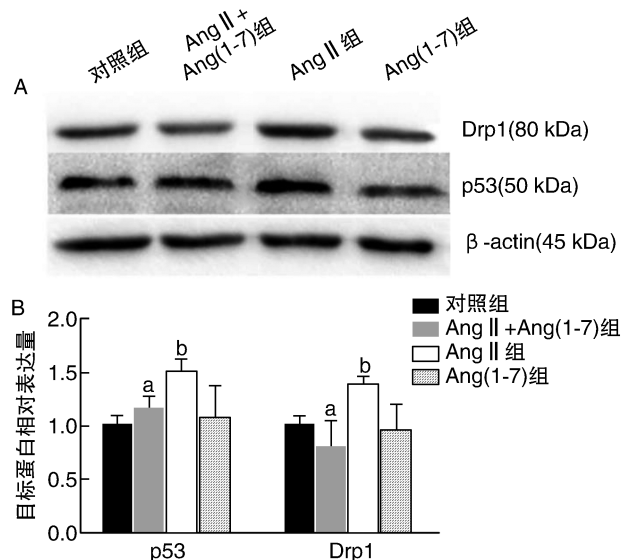


图 3. Ang(1-7)抑制 Ang II 诱导的 HUVEC 中 p53、Drp1 蛋白表达 A 为 p53、Drp1 蛋白的 Western blot; B 为各组细胞 p53、Drp1 蛋白相对表达量统计图 ( $n=5$ )。a 为  $P < 0.05$ , 与 Ang II 组比较; b 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较。

Figure 3. Ang(1-7) inhibits Ang II-induced p53 and Drp1 protein expression in HUVEC

## 3 讨论

动脉粥样硬化性疾病是一种慢性炎症性疾病。细胞衰老是血管壁内炎症的重要来源,可促进动脉粥样硬化的发展<sup>[13]</sup>。内皮细胞是动脉血管壁的保护屏障,其损伤是动脉粥样硬化的始动环节。研究证实,内皮细胞衰老可促进动脉粥样硬化<sup>[2]</sup>。Ang II 可通过诱导内皮细胞中氮氧化物 (nitrogen oxide, NOx) 家族蛋白的表达进而增加 ROS 的产生<sup>[6]</sup>; 另外, Yang 等<sup>[11]</sup> 研究表明 Ang II 可通过降低端粒酶活性诱导内皮细胞衰老,可伴随着 ROS 的产生。本实验借助 Ang II 造模方法,通过加重氧化应激水平,利用 SA-β-Gal 染色验证细胞衰老,成功对内皮细胞进行衰老模型造模。本实验结果显示, Ang II 组细胞染色阳性率明显升高, Ang(1-7) 干预可以使 SA-β-Gal 阳性细胞减少,衰老细胞阳性率明显降低,说明

Ang(1-7)可作为内皮细胞的保护剂,减轻其损伤与衰老。

血管衰老主要涉及内皮功能障碍及血管硬化<sup>[14]</sup>,其中 ROS 是一种重要的血管细胞衰老诱导源,可诱导一定的 DNA 损伤和衰老,依赖或独立于端粒缩短<sup>[15-16]</sup>。大量体外实验表明 p53/p21WAF1 和 Rb-p16INK4A 信号通路可通过 ROS 依赖的正反馈调节增强衰老<sup>[17]</sup>,其中 p53/p21WAF1 在细胞衰老中研究较多。有证据表明,衰老与血管壁 ROS 的增加有关<sup>[13,16]</sup>。最近有研究发现,过量的 ROS 可通过 p38MAPK/NF-κB/SASP 通路促进炎症因子的产生,诱导 DNA 损伤,促进细胞衰老<sup>[18]</sup>; Kumar 等<sup>[19]</sup> 研究也证实 ROS-Akt-mTOR 轴调节参与细胞过早衰老的过程,以上均提示 ROS 可介导细胞衰老。那么通过清除自由基和增强抗氧化防御来降低 ROS 生成的干预手段已被广泛认为是一种抗衰老策略<sup>[20]</sup>。在心血管疾病中, Ang(1-7) 通过减少巨噬细胞浸润,降低单核细胞趋化因子 1 (monocyte chemokine-1, MCP-1)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor-α, TNF-α)、核转录因子 κB (nuclear factor-κB, NF-κB)、血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 和 ROS 水平,细胞凋亡和一氧化氮释放增加,从而降低了动脉粥样硬化的风险。此外,在人细胞系和基因敲除 ApoE 小鼠中,无论体内还是体外均可通过减少 MCP-1、VCAM-1、IL-6 水平,保护内皮细胞,预防早期动脉粥样硬化,抑制动脉粥样硬化进展<sup>[12,21-22]</sup>。Zhao 等<sup>[8]</sup> 实验也表明, Ang(1-7) 可通过 Akt 信号通路抑制 ROS 相关的线粒体损伤起到细胞保护的作用。本实验证实 Ang(1-7) 干预可降低内皮细胞内 ROS 起到细胞保护的作用,与文献<sup>[23]</sup> 结果相一致。

线粒体动力学稳态失衡在细胞衰老及氧自由基生成等病理及生理过程中起着重要的作用<sup>[16]</sup>。线粒体是 ROS 的主要来源,线粒体中 ROS 的过度产生可促进衰老和衰老的进程,导致与年龄有关的疾病<sup>[18]</sup>。Vendrov 等<sup>[6]</sup> 体内研究证实在老龄 (16 个月) ApoE<sup>-/-</sup>/p47phox<sup>-/-</sup> 鼠主动脉血管壁及平滑肌细胞 ROS 异常增多,可增加动脉管壁的粥样斑块形成。线粒体是细胞内高度动态的细胞器,通过持续的融合和分裂来维持细胞稳态,一旦平衡被打破,线粒体的动力学就会受到损害,从而引起线粒体稳态的紊乱,导致细胞衰老<sup>[24]</sup>。在哺乳动物体内参与线粒体分裂的蛋白主要是 Drp1。Drp1 主要定位于细胞质基质,是调控线粒体分裂的一种重要

GTPase。Zhang 等<sup>[25]</sup>研究表明,衰老相关基因 miR-21-5p/203a-3p 通过下调 Drp1 促进内皮细胞衰老,提示 Drp1 参与内皮细胞的衰老过程。有趣的是,Drp1 的氧化还原作用可限制线粒体功能障碍及 ROS 的升高,防止内皮衰老<sup>[26]</sup>。Ang II 刺激可引起线粒体形态的改变,打破线粒体分裂及融合平衡,进而调控活性氧的产生,促进内皮细胞的凋亡与衰老<sup>[27-28]</sup>。本实验结果提示 Ang II 组细胞 ROS 产生增加,Drp1 表达明显增加,Ang(1-7)可明显抑制氧化应激及抑制线粒体分裂。

p53 蛋白是一种转录蛋白,其活性在正常细胞中是被抑制的,只有当细胞暴露于各种应激信号(氧化应激、DNA 损伤<sup>[17]</sup>、自噬等)时才可能被激活<sup>[3,29]</sup>。众所周知,Drp1 是 p53 下游通路上的作用靶点,可以通过其线粒体易位来增加 Drp1 的活性<sup>[30]</sup>。体内体外实验均表明,p53 可以调控线粒体功能<sup>[7,31]</sup>。Yuan 等<sup>[32]</sup>研究 p53 基因沉默或者敲除可直接抑制 Drp1 的表达、线粒体功能以及足细胞凋亡。先前也有实验证实 p53 可直接通过对 Drp1 转录水平的调节来促进 Drp1 依赖的线粒体裂变。Qi 等<sup>[7]</sup>研究中 Ang II 可增加 p53 乙酰化作用,从而诱导 Drp1 表达,促进线粒体裂变,最终导致心肌细胞凋亡。本实验中用 Western blot 检测 p53 和 Drp1,结果显示,Ang II 刺激 48 h 后 HUVEC 中 p53 和 Drp1 表达水平明显升高,Ang(1-7)下调了 HUVEC 中 p53 及 Drp1 的表达。这些结果表明,Drp1 的表达与 p53 的表达呈正相关。由此猜测 Drp1 对 HUVEC 衰老的调控可能是由 p53 途径介导的。本研究揭示了 Ang(1-7)在 p53 及 p53 依赖的蛋白因子 Drp1 通路中起着重要的作用,p53/Drp1 可能为 Ang II 诱导的内皮细胞衰老及其衰老相关疾病提供了一个新的治疗策略。

综上,体外细胞实验表明,Ang(1-7)可能是通过 p53/Drp1 通路,抑制 ROS 的产生来调节 Ang II 诱导的 HUVEC 衰老,为 Ang(1-7)参与内皮细胞的保护提供了直接的证据。Ang(1-7)的外源性治疗可能为衰老相关疾病,如帕金森病、癌症、动脉粥样硬化性疾病等心血管疾病提供新的治疗策略。但是目前研究中关于 Ang(1-7)调控 Ang II 诱导的线粒体分裂的信号通路尚不明确,可作为今后相关研究的指导方向。

#### [参考文献]

- [1] North BJ, Sinclair DA. The intersection between aging and cardiovascular disease [J]. *Circ Res*, 2012, 110(8): 1097-1108.
- [2] Jia G, Aroor AR, Jia C, et al. Endothelial cell senescence in aging-related vascular dysfunction [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(7): 1802-1809.
- [3] Shimizu I, Minamino T. Cellular senescence in cardiac diseases [J]. *J Cardiol*, 2019, 74(4): 313-319.
- [4] Neves MF, Cunha AR, Cunha MR, et al. The role of renin-angiotensin-aldosterone system and its new components in arterial stiffness and vascular aging [J]. *High Blood Press Cardiovasc Prev*, 2018, 25(2): 137-145.
- [5] Hsu PY, Lin WY, Lin RT, et al. MicroRNA let-7g inhibits angiotensin II-induced endothelial senescence via the LOX-1-independent mechanism [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(4): 2243-2251.
- [6] Vendrov AE, Vendrov KC, Smith A, et al. NOX4 NADPH oxidase-dependent mitochondrial oxidative stress in aging-associated cardiovascular disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 23(18): 1389-1409.
- [7] Qi J, Wang F, Yang P, et al. Mitochondrial fission is required for angiotensin II-induced cardiomyocyte apoptosis mediated by a Sirt1-p53 signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 176.
- [8] Zhao P, Li F, Gao W, et al. Angiotensin(1-7) protects cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation-induced oxidative stress by preventing ROS-associated mitochondrial dysfunction and activating the Akt signaling pathway [J]. *Acta Histochem*, 2015, 117(8): 803-810.
- [9] 柴婵娟, 杨慧宇, 杨志明, 等. 血管紧张素(1-7)和血管紧张素 II 对 THP-1 源性泡沫细胞胆固醇外流的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(9): 885-890.
- [10] Romero A, San Hipólito-Luengo Á, Villalobos LA, et al. The angiotensin (1-7)/Mas receptor axis protects from endothelial cell senescence via klotho and Nrf2 activation [J]. *Aging Cell*, 2019, 18(3): e12913.
- [11] Yang R, Fang W, Liang JW, et al. Apelin/APJ axis improves angiotensin II-induced endothelial cell senescence through AMPK/SIRT1 signaling pathway [J]. *Arch Med Sci*, 2018, 14(4): 725-734.
- [12] Liang B, Wang X, Zhang N, et al. Angiotensin (1-7) attenuates angiotensin II-induced ICAM-1, VCAM-1, and MCP-1 expression via the MAS receptor through suppression of P38 and NF-κB pathways in HUVEC [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(6): 2472-2482.
- [13] Chiriaco M, Georgiopoulos G, Duranti E, et al. Inflammation and vascular ageing: from telomeres to novel emerging mechanisms [J]. *High Blood Press Cardiovasc Prev*, 2019, 26(4): 321-329.
- [14] Jin J, Liu Y, Huang LH, et al. Advances in epigenetic regulation of vascular aging [J]. *Rev Cardiovasc Med*,

- 2019, 20(1): 19-25.
- [15] Yin H, Pickering JG. Cellular senescence and vascular disease; novel routes to better understanding and therapy [J]. *Can J Cardiol*, 2016, 32(5): 612-623.
- [16] Salazar G. NADPH oxidases and mitochondria in vascular senescence[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5): 1327.
- [17] Mohammadzadeh A, Mirza-Aghazadeh-Attari M, Hallaj S, et al. Crosstalk between P53 and DNA damage response in ageing[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2019, 80: 8-15.
- [18] Ungvari Z, Tarantini S, Donato AJ, et al. Mechanisms of vascular aging[J]. *Circ Res*, 2018, 123(7): 849-867.
- [19] Kumar R, Sharma A, Gupta M, et al. Cell-Free culture supernatant of probiotic lactobacillus fermentum protects against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced premature senescence by suppressing ROS-Akt-mTOR axis in murine preadipocytes[J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2020, 12(2): 563-576.
- [20] Davalli P, Mitic T, Caporali A, et al. ROS, cell senescence, and novel molecular mechanisms in aging and age-related diseases[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 3565127.
- [21] Zhang YH, Zhang YH, Dong XF, et al. ACE2 and Ang (1-7) protect endothelial cell function and prevent early atherosclerosis by inhibiting inflammatory response [J]. *Inflamm Res*, 2015, 64(3/4): 253-260.
- [22] Lelis DF, Freitas DF, Machado AS, et al. Angiotensin (1-7), adipokines and inflammation [J]. *Metabolism*, 2019, 95: 36-45.
- [23] 梁伟杰, 陈君, 余盛龙, 等. 血管紧张素(1-7)/Mas受体轴通过调控 ATP 敏感性钾通道对抗高糖引起的人脐静脉内皮细胞损伤[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(10): 989-996.
- [24] Vasileiou P, Evangelou K, Vlasits K, et al. Mitochondrial homeostasis and cellular senescence[J]. *Cells*, 2019, 8(7): 686.
- [25] Zhang JJ, Liu WQ, Peng JJ, et al. miR-21-5p/203a-3p promote ox-LDL-induced endothelial cell senescence through down-regulation of mitochondrial fission protein Drp1[J]. *Mech Ageing Dev*, 2017, 164: 8-19.
- [26] Kim YM, Youn SW, Sudhakar V, et al. Redox regulation of mitochondrial fission protein Drp1 by protein disulfide isomerase limits endothelial senescence [J]. *Cell Rep*, 2018, 23(12): 3565-3578.
- [27] Helfenberger KE, Castillo AF, Mele PG, et al. Angiotensin II stimulation promotes mitochondrial fusion as a novel mechanism involved in protein kinase compartmentalization and cholesterol transport in human adrenocortical cells[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2019, 192: 105413.
- [28] Gao L, Liu Y, Wang Y, et al. H2 relaxin ameliorates angiotensin II-induced endothelial dysfunction through inhibition of excessive mitochondrial fission [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(4): 799-805.
- [29] Ma L, Han C, Peng T, et al. Ang(1-7) inhibited mitochondrial fission in high-glucose-induced podocytes by up-regulation of miR-30a and downregulation of Drp1 and p53 [J]. *J Chin Med Assoc*, 2016, 79(11): 597-604.
- [30] Dashzeveg N, Yoshida K. Cell death decision by p53 via control of the mitochondrial membrane [J]. *Cancer Lett*, 2015, 367(2): 108-112.
- [31] Guo X, Sesaki H, Qi X. Drp1 stabilizes p53 on the mitochondria to trigger necrosis under oxidative stress conditions in vitro and in vivo [J]. *Biochem J*, 2014, 461(1): 137-146.
- [32] Yuan Y, Zhang A, Qi J, et al. p53/Drp1-dependent mitochondrial fission mediates aldosterone-induced podocyte injury and mitochondrial dysfunction [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 314(5): F798-F808.
- (此文编辑 朱雯霞)