

本文引用: 赵方尧, 李俊豪, 杨科, 等. 液-液相分离在动脉粥样硬化中的关键作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(3): 185-193. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.03.001.

[文章编号] 1007-3949(2025)33-03-0185-09

· 专家论坛 ·

## 液-液相分离在动脉粥样硬化中的关键作用

赵方尧<sup>1,2</sup>, 李俊豪<sup>2</sup>, 杨科<sup>1,2</sup>, 杨洪军<sup>1</sup>

1. 中国中医科学院医学实验中心, 北京市 100700; 2. 中国计量大学生命科学学院, 浙江省杭州市 310018

[专家简介] 杨科, 医学博士, 副教授, 硕士研究生导师。现任浙江省中西医结合学会中药专业委员会青年委员会副主任委员、浙江省中药与天然药物专业委员会青年委员、中国营养学会药食同源专业委员会委员、中国中西医结合学会中药专业委员会青年委员等, 并任《现代药物与临床》《药物评价研究》《中国动脉硬化杂志》青年编委等。研究方向为中药药效物质基础与作用机制研究及新药开发、慢性非传染性疾病的早期诊断与预后及心血管药理学等。以第一作者/通信作者在 *Eur J Med Chem*、*Int J Biol Macromol* 等期刊发表 SCI 论文 20 余篇。主持国家重点研发计划、国家自然科学基金、中国博士后科学基金等多项科研课题。



[摘要] 液-液相分离是细胞内生物分子凝聚形成无膜细胞器的重要过程, 在细胞信号传导和基因表达调控等方面发挥着重要作用。研究表明液-液相分离可能参与动脉粥样硬化的发生与发展, 并在疾病的诊断和治疗中具有潜在应用价值。该文介绍了液-液相分离的概念和机制, 深入探讨了液-液相分离与动脉粥样硬化的关系, 总结了液-液相分离在动脉粥样硬化研究中的进展, 并展望了其应用前景。

[关键词] 液-液相分离; 动脉粥样硬化; 研究进展; 应用前景

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### The key role of liquid-liquid phase separation in atherosclerosis

ZHAO Fangyao<sup>1,2</sup>, LI Junhao<sup>2</sup>, YANG Ke<sup>1,2</sup>, YANG Hongjun<sup>1</sup>

1. Experiment Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. School of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China

[ABSTRACT] Liquid-liquid phase separation is an important process in which intracellular biomolecules condense to form membraneless organelles, playing a significant role in cell signaling and gene expression regulation. Studies have shown that liquid-liquid phase separation may be involved in the occurrence and development of atherosclerosis and has potential applications in the diagnosis and treatment of the disease. This article introduces the concept and mechanism of liquid-liquid phase separation, delves into the relationship between liquid-liquid phase separation and atherosclerosis, summarizes the progress of liquid-liquid phase separation in atherosclerosis research, and looks forward to its application prospects.

[KEY WORDS] liquid-liquid phase separation; atherosclerosis; research progress; application prospect

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是一种慢性炎症性血管疾病<sup>[1]</sup>, 其主要特征是血管壁内脂质和

胆固醇异常沉积, 引发炎症反应和纤维组织增生, 最终导致动脉管壁变硬、管腔变狭窄甚至闭塞, 从

[收稿日期] 2024-10-15

[修回日期] 2024-12-07

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(81803761); 中央本级重大增减支项目·名贵中药资源可持续利用能力建设(2060302)

[作者简介] 赵方尧, 硕士, E-mail: 1830683664@qq.com。通信作者杨科, 博士, 副教授, 研究方向为中药药效物质基础及其作用机制研究, E-mail: yangyongyao168@sina.com。杨洪军, 博士, 博士研究生导师, 研究方向为基于整合药理学策略的中药复杂作用解析、中药新药设计、中医药新技术新方法研究, E-mail: hongjun0420@vip.sina.com。

而影响血液流动<sup>[2]</sup>。As 是全球范围内致心血管疾病的主要原因,严重威胁着人类健康<sup>[3]</sup>。据统计,全球每年因 As 引发的心血管疾病死亡人数高达 1 700 万<sup>[4]</sup>。因此,深入研究 As 的发病机制、寻找有效的防治方法对降低心血管疾病发病率和死亡率至关重要。尽管现有的细胞培养<sup>[5]</sup>、动物模型<sup>[6]</sup>、分子生物学技术<sup>[7]</sup>、影像学技术<sup>[8]</sup>等研究手段为揭示 As 的发病机制提供了重要信息,但 As 病理过程的复杂性对其分子机制的深入理解仍存在诸多挑战。近年来,液-液相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)现象逐渐成为生物学研究的热点,其在细胞信号传导和基因表达调控等方面发挥着重要作用。研究表明,LLPS 可能参与 As 的发生和发展,并在疾病的诊断和治疗中具有潜在应用价值<sup>[9]</sup>。该综述旨在分析 LLPS 在 As 病理过程中的重要作用及其应用前景。

## 1 液-液相分离概述

### 1.1 定义与基本原理

LLPS 是生物物理学中的一个重要概念,其描述了一种特定的物质分离过程,这一过程在细胞内环境中尤为常见,并且在调控细胞内许多生物学功能中扮演着关键角色。LLPS 是指在一定条件下,原本均一的液体溶液中的某些成分因为分子间相互作用的变化而自发地分离成两个不同的液体相,这两个相具有不同的物理和化学性质,但都保持液态<sup>[10]</sup>。

分子间的多价相互作用,特别是蛋白质或核酸分子上多个相互作用位点的同步结合,为 LLPS 提供了强大的驱动力<sup>[11-12]</sup>。这些多价相互作用与弱相互作用如氢键、范德瓦耳斯力、疏水相互作用和离子相互作用等协同作用,在分子浓度较高时,促使溶液中的特定分子或分子复合体在局部区域聚集,形成一个更为紧密的相互作用网络<sup>[13]</sup>。当这些特定组分的浓度超过一定阈值时,它们之间的相互作用增强,能够克服与溶剂分子的相互作用,从而触发 LLPS。生物分子如蛋白质和核酸,作为聚合物,其浓度<sup>[13]</sup>、序列<sup>[14]</sup>、结构和长度<sup>[15]</sup>的不同都会影响相分离的过程,尤其是长链聚合物更易于参与其中。物理化学条件,如 pH<sup>[16]</sup>、盐浓度<sup>[17]</sup>和温度<sup>[18]</sup>的变化,通过影响分子的电荷状态、屏蔽电荷和相互作用强度等因素,对相分离起着重要的调节作用。此外,翻译后修饰和分子伴侣的作用也不容忽视,它们能够改变蛋白质的相互作用特性和溶解

性,进而影响相分离的过程<sup>[19]</sup>。相分离形成的液滴并非静态,而是处于动态平衡中,分子可以在液滴内部和外部之间自由交换。细胞通过调节分子的表达、修饰和相互作用,以及改变细胞内的物理化学条件,精确地控制相分离的过程和功能。这些相分离结构在细胞内承担着多种生物学功能,包括信号传递<sup>[20]</sup>、基因表达调控、蛋白质质量控制<sup>[21]</sup>等。整个 LLPS 过程是高度可逆的,细胞能够根据生理需求的变化迅速组装或解散相分离结构,以适应不断变化的内部环境和外部挑战<sup>[22]</sup>(图 1)。

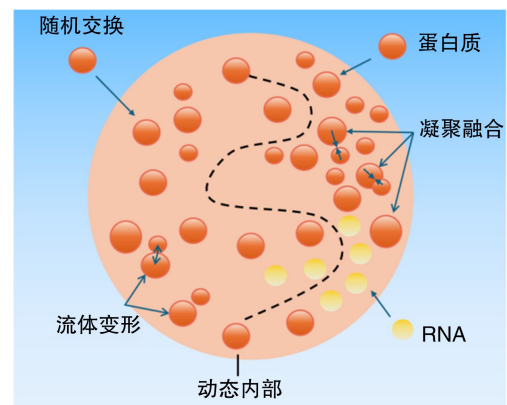


图 1. LLPS 生物学机制图

这幅图展示了 LLPS 的分子机制,其中红色圆点代表蛋白质分子,黄色圆点代表 RNA 分子。图中描绘了分子在两个不同的液体相之间的随机交换过程,以及这些相之间的凝聚融合现象。液体相的流体变形特性使其能够在外力作用下改变形状,而其动态内部结构则反映了分子在不断运动和重新排列的动态过程。

Figure 1. Schematic diagram of the biological mechanism of LLPS

### 1.2 发展历程

LLPS 的发展历程是一个跨越物理学、化学和生物学多个领域的过程。LLPS 的概念最早可以追溯到对自然界中不同物质相态的研究,其描述了不同成分在特定条件下分离形成不同相的现象,如油和水在容器中自然分层<sup>[23]</sup>。1835 年—1839 年间研究者在神经元细胞内发现了第一个无膜隔室核仁,这一概念被引入生物学领域,用以解释细胞内某些结构的形成。2009 年研究者在秀丽隐杆线虫胚胎发育过程中发现了由 RNA 和蛋白质组成的 P 颗粒,这些颗粒是通过 LLPS 形成的液滴,揭示了 LLPS 与细胞功能的直接关联,为细胞生物学带来了革命性的变化<sup>[24]</sup>。之后,研究者发现细胞中的许多膜细胞器,如核仁、Cajal 体、应激颗粒、microRNA 诱导的沉默复合体和突触细胞骨架,都是特异性蛋白质和核

酸的过渡。随着科学技术的发展,对生物分子 LLPS 形成的类似液体的无膜细胞器的了解越来越清楚,LLPS 的过程主要由蛋白质和核酸表面的化学性质决定,当这些大分子达到一定浓度(如超过某个阈值)或在特定化学环境下,它们之间的相互作用力超过热运动的干扰,从而开始聚集。近年来,LLPS 研究取得了突破性进展,成为生命科学领域的研究热点。从神经退行性疾病中 tau 蛋白<sup>[25]</sup>和  $\alpha$ -突触核蛋白的异常聚集<sup>[26]</sup>,到 RNA 生物学中应激颗粒和加工体的形成,再到细胞信号传导中信号分子和激酶的相分离,LLPS 在多种生物学过程中发挥着重要作用。此外,LLPS 与细胞器形成和疾病发生发展的关系也日益受到关注。未来,LLPS 研究将朝着开发新型检测技术、调控策略和疾病治疗应用的方向发展,为理解生命过程和疾病机制以及开发新的治疗策略提供新的思路 and 工具。

### 1.3 主要方法与技术手段

LLPS 研究的实验技术和方法发展是生物学领域的一个重要前沿,这些技术的进步为揭示细胞内 LLPS 现象的机制和功能提供了强有力的支持。

利用荧光显微镜技术<sup>[27]</sup>,包括共聚焦显微镜和超分辨率显微镜,如随机光学重构显微镜和光激活定位显微镜,通过激光扫描和荧光染料标记,以高分辨率实时观察细胞内 LLPS 的空间分布和动态变化,超分辨率技术更是超越了传统光学极限,揭示了 LLPS 的细微结构<sup>[28]</sup>;在生物化学分析方面,富集实验和体外重组技术<sup>[29]</sup>被用来提取和定性分析液滴,以及重建 LLPS 系统,从而深入理解其内在机制;生物物理方法如动态光散射<sup>[30]</sup>、核磁共振<sup>[31]</sup>和小角 X 射线散射<sup>[32]</sup>等,提供了液滴大小、分布、分子结构和排列特征的详细信息,而流变学测试则测定了液滴的黏度和弹性等机械性质,这些物理特性的阐明对于理解 LLPS 的功能特性至关重要。分子生物学技术<sup>[33]</sup>,包括基因敲除、过表达和 RNA 干扰<sup>[34]</sup>,结合成簇规律间隔短回文重复序列及其相关蛋白 9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats-Cas9, CRISPR-Cas9) 等基因编辑工具,能够精确地探索基因和 RNA 在 LLPS 过程中的作用。此外,计算机模拟<sup>[35]</sup>和建模技术,如分子动力学模拟和蒙特卡罗模拟,提供了新的视角,能够模拟分子间相互作用、LLPS 动态过程,并进行统计性分析,预测不同条件下的热力学性质,为实验研究提供理论依据。

## 2 液-液相分离与动脉粥样硬化

### 2.1 液-液相分离与动脉粥样硬化的关系

As 的起始阶段涉及脂质在血管壁的积累,形成脂肪条纹,而 LLPS 在这一过程中的作用可能是多方面的。其一,LLPS 通过影响脂质代谢相关蛋白的凝聚状态,可以调控脂质的摄取、转运和沉积。例如,载脂蛋白 B100 (apolipoprotein B100, ApoB100) 是低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 的主要结构蛋白,负责将脂质从肝脏运送到全身组织<sup>[36-37]</sup>。胆固醇酯转运蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) 在胆固醇酯与脂蛋白的转运中起着关键作用<sup>[38]</sup>。如果这些蛋白在细胞内发生 LLPS,影响脂质从血液中转移到血管壁细胞内的能力,这种脂质的异常积累是 As 早期病变的标志。研究发现, ApoB100 在细胞内可以形成富含脂质的颗粒,并与 CETP 相互作用<sup>[39]</sup>。这种 LLPS 现象可能影响 ApoB100 的脂质结合能力和转运效率,进而影响脂质代谢和 As 的发生发展。此外,研究发现 COPII 组分通过 LLPS 驱动形成 COPII 蛋白凝聚体,进而在生理条件下选择性地介导脂蛋白的高效分泌。COPII 蛋白凝聚体的过度生长引起的液态性、动态性下降,影响特化分泌货物脂蛋白,导致脂质转运效率下降,可能会引起脂蛋白分泌受阻,进而导致血脂代谢失衡,促进 As 的发展<sup>[40-41]</sup>。其二,炎症反应是 As 进展的关键因素,LLPS 可能通过影响炎症信号通路的蛋白凝聚体形成调控炎症因子的释放和炎症细胞的活化<sup>[42]</sup>。LLPS 可能促进核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域 3 (nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3, NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein, ASC) 等炎症小体组分的凝聚,激活 Caspase-1,促进白细胞介素 1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和白细胞介素 18 (interleukin-18, IL-18) 的成熟和释放,从而影响炎症反应的强度和持续时间<sup>[43]</sup>。其三,血管内皮细胞功能障碍是 As 的早期事件,LLPS 可能通过影响内皮细胞内信号传导和基因表达,导致内皮细胞功能紊乱。LLPS 可能导致内皮细胞中内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 活性降低,影响血管舒缩功能,增加血管通透性,使得脂质和其他炎症细胞更容易渗透到血管壁内<sup>[44]</sup>。其四,平滑肌细胞增殖和迁移是粥样斑块形成的关键步骤。研究发现,异核糖核蛋白 A1 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, hnRNPA1) 作为一种调

节细胞质 RNP 颗粒中 RNA 代谢的关键蛋白,其 C 端区域介导动态 LLPS,可能作为募集 miR-124、Drosha 酶和双链 RNA 结合蛋白 8 (DiGeorge critical region 8, DGCR8) 的核心支架,以协调血管平滑肌细胞的增殖和心内膜形成。LLPS 可能通过影响 hnRNPA1 介导的信号通路和蛋白质聚集,促进血管平滑肌细胞的增殖和迁移,进而促进 As 斑块形成<sup>[45]</sup>。其五,细胞外基质重塑在 As 中起着重要作用,LLPS 可能影响细胞外基质蛋白如胶原蛋白、弹性蛋白和纤维蛋白的凝聚和沉积,进而影响斑块稳

定性和血管重构<sup>[46]</sup>。异常的 LLPS 可能导致细胞外基质成分的异常沉积,如胶原蛋白和弹性蛋白,这些异常沉积的细胞外基质成分可能导致斑块结构不稳定,增加斑块破裂的风险。此外,氧化应激在 As 的发展中起重要作用,LLPS 可能通过影响抗氧化酶如超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶的功能,调控氧化应激水平<sup>[47]</sup>。LLPS 可能导致抗氧化酶的活性降低,减少细胞对氧化应激的抵抗能力,促进 As 的发展(表 1)。

表 1. 与 LLPS 相关的关键分子及其在相关疾病中的作用

Table 1. Key molecules associated with LLPS and their roles in related diseases

作用类别	相关蛋白/酶/分子	功能与影响
脂质代谢调控	ApoB100、LDL、CETP	LLPS 影响脂质转运蛋白的凝聚,调控脂质的摄取、转运和沉积,促进脂质在血管壁的积累
炎症反应调控	NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 、IL-18	LLPS 促进炎症小体组分的凝聚,激活 Caspase-1,促进炎症因子的成熟和释放,加剧炎症反应
内皮细胞功能障碍	eNOS	LLPS 导致 eNOS 活性降低,影响血管舒缩功能和血管通透性,促进脂质和炎症细胞的渗透
平滑肌细胞增殖与迁移	hnRNPA1、miR-124	LLPS 影响细胞周期调控蛋白和细胞迁移相关蛋白的凝聚,促进平滑肌细胞的增殖和迁移
细胞外基质重塑	胶原蛋白、弹性蛋白、纤维蛋白	LLPS 影响细胞外基质蛋白的凝聚和沉积,影响斑块稳定性和血管重构
氧化应激调控	超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶	LLPS 影响抗氧化酶的活性,减少细胞对氧化应激的抵抗能力,促进 As 的发展

## 2.2 液-液相分离在动脉粥样硬化中的研究进展

2.2.1 分子机制解析 通过分子生物学手段,研究者深入解析了 LLPS 调控特定蛋白功能的分子机制,以及这些蛋白在 As 病理过程中的作用。其一,研究者利用免疫共沉淀、质谱分析等技术,识别了在 LLPS 过程中发生相分离的蛋白网络<sup>[48]</sup>。这些蛋白通常包含富含无序区域的结构特征,使得它们能够在特定的生理条件下形成动态的液滴状凝聚体。在这些凝聚体中,研究者发现了一些关键的信号蛋白,它们在细胞信号传导中扮演着重要角色,如调控炎症反应、细胞增殖与凋亡、血管生成等过程,这些都是 As 发生发展的重要环节<sup>[49]</sup>。其二,研究者通过基因敲除、基因过表达或基因突变等手段,研究了 LLPS 对特定蛋白功能的调控。通过基因敲除技术特异性地去除内皮细胞中的 Kindlin-2 基因,实验模型中出现了明显的血管屏障功能破坏和血管渗漏,证明 Kindlin-2 在内皮细胞屏障维持中的关键作用,还进一步发现扰流剪切力可以通过蛋白质精氨酸甲基转移酶 5 (protein arginine methyltransferase

5, PRMT5) 对 Kindlin-2 进行精氨酸甲基化修饰,影响其相分离能力,从而损伤内皮屏障功能,促进 As 的发展<sup>[50]</sup>。其三,研究者还探讨了 LLPS 如何影响蛋白的活性、稳定性和相互作用。研究发现,在 As 病变中,一些酶如组织蛋白酶 S 在 LLPS 形成的凝聚体内部由于局部浓度增加而活性增强,这加速了细胞外基质的降解,从而影响了斑块的稳定性。同时,这些酶通过 LLPS 被隔离在特定的细胞区域,如内质网或溶酶体,从而在局部发挥作用,加剧了斑块的不稳定性<sup>[51]</sup>。另外,LLPS 可以通过形成凝聚体来保护某些蛋白质免受蛋白酶的降解,在 As 病变中,LDLR 相关蛋白 1 (LDLR-related protein 1, LRP1) 在 LLPS 凝聚体中稳定存在,这有助于维持细胞对低密度脂蛋白的摄取和处理,防止低密度脂蛋白在血管壁中的积累<sup>[52]</sup>; LLPS 能够促进蛋白质之间的多价相互作用,形成稳定的网络。此外,研究者还关注了 LLPS 对蛋白降解途径的影响。在 LLPS 形成的凝聚体中,一些蛋白可能逃逸于泛素-蛋白酶体系统或自噬途径的降解,导致这些蛋白在细胞内积

累,从而影响细胞功能<sup>[53]</sup>。例如,LLPS 可能保护某些促炎蛋白免受降解,加剧炎症反应。研究者还通过细胞模型和小动物模型验证了 LLPS 调控的蛋白在 As 中的作用。研究发现,自噬相关蛋白 5 (autophagy-related protein 5, ATG5) 基因在人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 中被敲除或在载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 敲除小鼠中沉默时,As 病变加重,表明 ATG5 在血管调节和 As 的发展中起着关键作用<sup>[54]</sup>。进一步的研究表明,ATG5 和其他 ATG 家族基因可能通过 LLPS 机制调节蛋白质自噬,从而推测自噬体是通过相分离形成的,并且这一过程能将异常蛋白质募集到自噬体中进行降解,影响 As 的进程<sup>[55]</sup>。

**2.2.2 细胞水平研究** As 的细胞水平研究中,LLPS 现象在内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞中的具体表现及其对脂质代谢、炎症反应和细胞命运的深远影响已被逐步揭示。在一项针对 HUVEC 研究中发现,1,6-己二醇通过干扰 LLPS 的形成,影响内皮细胞内细胞周期蛋白 A1 (cyclin A1, CycA1) 的表达和功能,导致细胞周期停滞,减少内皮细胞的增殖和迁移能力,从而在新血管形成过程中起到调节作用<sup>[56]</sup>。这些液滴不仅阻碍细胞内脂质的正常代谢,导致脂质积累和泡沫细胞的形成,还促进氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 的摄取,激活炎症信号通路,如核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 通路,从而释放炎症因子如肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6),加剧血管壁的炎症反应。此外,内皮细胞中的力学感受器盘状结构域受体 1 (discoidin domain receptor 1, DDR1) 可以感知血流扰动,并通过单分子磁镊技术解析 DDR1 在力学刺激后发生构象改变的关键结构域。这些力学感受器作为对胞外力学信号的第一响应者,负责将复杂流场所传递的力学信号转化为细胞内的生物化学信号,影响内皮细胞的功能和表型<sup>[57]</sup>。在平滑肌细胞中,LLPS 现象同样显著,在 As 病变区域,这些细胞内出现了富含脂质的液滴,与细胞内胆固醇的积累密切相关。这一现象不仅促进了脂质积累,还激活了细胞内的炎症反应,导致细胞表型改变,从收缩型转变为合成型,增加细胞外基质的产生,进而促进斑块的生长和纤维化。在巨噬细胞中,LLPS 现象与泡沫细胞的形成紧密相关,巨噬细胞在吞噬 ox-LDL 后,细胞内形成了脂质液滴,这些液滴的形成不仅与胆固醇的积累有关,还激活了炎症反应,如促进炎症因子 IL-1 $\beta$  的释放,同时影响巨

噬细胞的存活和凋亡,导致斑块内坏死核心的形成,增加斑块破裂的风险<sup>[58]</sup>。这些研究结果共同表明,LLPS 在 As 的病理过程中起着关键作用,通过影响脂质代谢、炎症反应和细胞命运,促进 As 的发展。

**2.2.3 实验模型研究** LLPS 在 As 研究中的应用是一个新兴且快速发展的领域,研究者通过体外细胞培养模型和体内动物实验系统来探索 LLPS 与 As 之间的关系。尽管目前关于 LLPS 在 As 实验模型中的研究数量相对有限,这一领域的进展逐渐揭示出相分离现象在 As 病理过程中的潜在作用。在体外实验中,细胞培养模型被用来观察氧化应激或脂质过载条件下内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞内特定蛋白质的相分离现象,以及这种现象如何影响细胞功能和行为<sup>[59]</sup>。研究显示,在高脂环境下,某些关键蛋白如 ApoE、Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 等可能会发生异常的相分离,促进炎症反应和泡沫细胞形成,加速 As 的进程。此外,通过重组与 As 相关的蛋白质,研究者可以研究这些蛋白质在特定条件下的相分离行为及其对斑块形成的影响<sup>[41]</sup>。在体内实验中,研究者利用遗传或药理手段操纵动物模型中特定蛋白质的相分离能力,以观察对 As 发展的影响,并分析 As 患者的动脉壁样本,寻找相分离现象的迹象及其与疾病进展的相关性<sup>[50]</sup>。有研究通过纳米酶调控无膜细胞结构在 As 治疗中的应用,这项研究通过 As 动物模型证实了这些工具在不同微环境下发挥多层次抗衰老效果,病灶区域减少并稳定斑块,显示出良好的治疗效果<sup>[60]</sup>。这种策略不仅为理解 As 的分子机制提供了新的视角,也为开发新型治疗方法开辟了道路。

结合组织学和免疫组织化学分析,研究人员可以详细观察斑块的大小、组成和稳定性,并通过免疫组织化学技术检测 LLPS 相关蛋白在斑块中的定位和表达水平。一项研究利用免疫组织化学成功观察到了细胞内凝聚物的形成,并探讨了这些凝聚物在不同条件下的变化。这种方法不仅提供了可视化证据,还帮助理解相分离在细胞内的时空调控<sup>[61]</sup>。分子生物学技术的应用,如反转录聚合酶链反应、蛋白质印迹法、质谱分析等,进一步允许研究人员定量分析 LLPS 相关蛋白和 mRNA 的表达及其在斑块形成过程中的动态变化。有研究利用反转录聚合酶链反应来检测花生四烯酸 5-脂氧合酶 (arachidonate 5-lipoxygenase, ALOX5) 基因的表达,该基因是介导巨噬细胞氧化应激促进 As 的重要基因。Ye 等<sup>[62]</sup>使用蛋白质印迹法来研究 As 斑块的分子机制。细胞培养和体外实验则提供了一个更

为可控的环境,用于研究 LLPS 对血管壁细胞行为的影响,如脂质摄取、炎症反应、细胞增殖和迁移等<sup>[63]</sup>。活体成像技术的使用,使得研究人员能够在小鼠体内实时观察 As 斑块的发展过程以及 LLPS 相关蛋白的动态变化。通过这些多维度的实验模型研究,研究人员不仅能够更好地理解 LLPS 在 As 病理过程中的作用,而且为开发新的治疗策略提供了坚实的理论基础。

### 3 液-液相分离在动脉粥样硬化中的应用前景

#### 3.1 液-液相分离在早期诊断和病情监测中的潜力

LLPS 在 As 的临床诊断领域具有显著的应用潜力,特别是在早期诊断和病情监测方面。LLPS 通过识别细胞内特定生物分子相态的变化,为捕捉 As 早期阶段的生物学信号提供了可能。在斑块形成之前,通过检测血液或组织样本中的这些变化,可以提前发现疾病迹象,从而实现早期干预和治疗<sup>[64]</sup>。随着 As 病情的进展,细胞内 LLPS 现象可能会发生相应的变化,监测这些变化对于评估治疗效果和疾病进展至关重要。根据 LLPS 的变化情况,及时调整治疗方案,可以提高治疗的有效性。此外,LLPS 的应用还有助于减少不必要的治疗措施,降低医疗成本。在无创检测方面,LLPS 有望与现有的影像学技术相结合,开发出新的无创检测方法<sup>[65]</sup>。这种结合将提高 As 诊断的准确性和患者的便利性,减少侵入性检查带来的风险和不适。通过无创检测,可以更加方便地监测患者病情,为患者提供更为精准的诊疗方案<sup>[66]</sup>。

#### 3.2 利用液-液相分离开发新的治疗途径或药物

利用 LLPS 开发新的治疗途径或药物,为 As 的治疗提供创新思路<sup>[67]</sup>。LLPS 现象中涉及的蛋白质和分子,如应激颗粒成分和脂质代谢相关蛋白,可能成为极具潜力的药物治疗靶点<sup>[68]</sup>。通过小分子药物或其他治疗手段干扰这些蛋白质的 LLPS 过程,可以有效地减缓或逆转 As 的病理进程<sup>[69]</sup>。在

药物递送方面,LLPS 为提高药物靶向性提供了新策略。通过设计能够响应细胞内环境变化的药物载体,可以实现药物在病变部位的特异性聚集,从而提高局部药物浓度,减少全身性不良反应<sup>[70]</sup>。这种智能药物递送系统有望提高治疗效率,降低患者对药物的耐受性和不良反应<sup>[71]</sup>。此外,治疗性蛋白质的设计也受益于 LLPS 原理。通过改造蛋白质序列,使其在特定的细胞内环境中发生 LLPS,可以增强蛋白质在靶细胞中的作用效果<sup>[72-73]</sup>。例如,设计能够在 As 斑块处聚集的蛋白质,可以直接作用于病变区域,发挥抗炎、抗凝或促进斑块稳定性的治疗作用。未来的研究需要进一步探索 LLPS 现象在 As 中的作用机制,验证新的药物靶点的有效性,并优化药物递送系统和治疗性蛋白质的设计。随着这些研究的深入,LLPS 有望为 As 患者带来更加安全、有效的治疗方案。

#### 3.3 根据液-液相分离相关生物标志物进行个性化诊疗

个性化医疗的推进,得益于 LLPS 相关生物标志物的研究和应用。这些生物标志物能够提供关于个体患者疾病风险和治疗反应的详细信息,从而为个性化诊疗提供科学依据。通过检测患者血液或组织中的 LLPS 特征,能够更准确地评估患者的病情,并据此制定出更加精准的治疗方案。个体化治疗的优势在于其能够针对每位患者的特定 LLPS 特征进行调整,这不仅提高了治疗的针对性和效果,还减少了不必要的不良反应和治疗成本。对于那些 LLPS 现象较为活跃的患者,可能需要更加积极的药物治疗或生活方式干预<sup>[74]</sup>。此外,LLPS 相关生物标志物在疾病预防方面也扮演着重要角色。通过监测这些标志物,可以提前识别出 As 的高风险个体,以提供早期干预措施,如改变生活习惯、药物治疗或定期监测,从而预防疾病的发生和发展<sup>[75]</sup>。这种基于生物标志物的预防策略,有助于实现疾病的早期控制和健康管理,最终提高整体公共卫生水平(表 2)。

表 2. LLPS 标志物及其在 As 诊断中的潜在应用价值

Table 2. LLPS markers and their potential diagnostic value in As

类别	标志物名称	与 As 的关联	潜在应用场景/诊断价值
载脂蛋白	ApoE	参与胆固醇运输; ApoE 缺陷或变异与早发 As 相关	血浆中 ApoE 水平和相分离能力的检测可以作为 As 的早期风险评估工具 <sup>[76]</sup>
	ApoB	ApoB 是低密度脂蛋白的主要结构蛋白;高水平 ApoB 与心血管疾病风险增加有关	检测 ApoB 浓度及相分离特性变化,有助于识别高风险个体并监测疾病进展 <sup>[77]</sup>

续表

类别	标志物名称	与 As 的关联	潜在应用场景/诊断价值
炎症相关蛋白	NF- $\kappa$ B	作为主要的炎症调节因子, NF- $\kappa$ B 激活可促进动脉壁炎症反应, 加速斑块形成	测量细胞内 NF- $\kappa$ B 聚集情况, 可用于评估炎症活动度, 预测 As 发展速度 <sup>[78]</sup>
	TNF- $\alpha$	炎症介质, 参与 As 中的慢性炎症过程	血清 TNF- $\alpha$ 水平升高可能是 As 的一个预警信号, 结合其他指标可提高诊断准确性 <sup>[79]</sup>
	IL-6	促炎性细胞因子, 与 As 患者的急性冠状动脉事件发生率增高有关	IL-6 水平的变化可以帮助识别处于急性期的患者, 为个性化治疗提供指导 <sup>[77]</sup>
氧化应激标志物	8-异前列腺素	由非酶促途径产生的类前列腺素物质, 反映体内氧化应激状态	8-异前列腺素水平升高提示存在高水平氧化应激, 这可能加剧 As 进程 <sup>[80]</sup>
	丙二醛	脂质过氧化产物, 是氧化损伤的标志之一	丙二醛浓度增加表明细胞膜受损严重, 可能预示着 As 的发展 <sup>[77]</sup>
RNA 结合蛋白	TIA-1/TIAR	在细胞应激条件下形成应激颗粒, 这些颗粒的数量和组成变化反映了细胞对损伤的响应程度	应激颗粒数量和组成的改变可以作为细胞压力反应的指标, 间接反映 As 的病理环境 <sup>[81]</sup>
细胞骨架成分	肌动蛋白	细胞骨架蛋白, 其动态重组影响细胞形态和功能, 可能影响 LLPS 现象	肌动蛋白纤维网络的改变可能影响细胞内的物理化学环境, 从而影响 LLPS 的发生, 这可以作为 As 细胞学特征的一部分 <sup>[82]</sup>
	微管蛋白	参与维持细胞结构和运输过程, 微管的稳定性对于防止血管平滑肌细胞迁移和增殖至关重要	微管系统的异常可能导致血管重构, 这是 As 的一个重要方面 <sup>[83]</sup>

#### 4 结论与展望

LLPS 作为一种细胞内生物分子凝聚的动态现象, 在 As 研究领域展现了其独特的价值。LLPS 不仅揭示了细胞内生物分子凝聚在 As 发病机制中的关键角色, 还明确了 LLPS 相关蛋白和分子在疾病各阶段的作用机制, 为探索新的治疗靶点提供了坚实的理论基础。这些蛋白和分子有望成为治疗 As 的新靶点, 通过精确靶向, 有望开发出创新药物和治疗方法, 从而提升治疗效果。同时, LLPS 相关的生物标志物有望用于评估患者的疾病风险和治疗反应, 推动精准医疗的实现, 进而提高疗效, 降低成本, 并显著提升患者的生活品质。尽管 LLPS 在 As 研究中展现出广阔的应用前景, 但在实际操作和临床转化过程中, 仍面临诸多挑战和限制。首先, LLPS 的生物学机制复杂, 且其在 As 中的具体作用路径尚不清楚, 确定关键分子颇具挑战。其次, 观察和量化 LLPS 的技术要求高, 其动态过程难以在体内实时监测, 限制了对疾病进展的理解。此外, LLPS 相关生物标志物的稳定性和敏感性验证、药物靶点的筛选与验证、药物递送系统的优化等问题, 都是需要克服的技术难题。临床转化、伦理法律、资金资源以及跨学科合作等挑战也亟待解决。

展望未来, LLPS 在 As 研究中的重要性不言而喻, 它将成为该领域的研究热点。基于 LLPS 原理

的新型治疗药物和策略将不断涌现, 相关生物标志物将在疾病的诊断和治疗中发挥关键作用, 推动 As 精准医疗的发展。为此, 科研人员需持续进行技术创新, 加强跨学科协作。同时, 政策制定者和资助机构也应提供必要的支持, 共同促进这一领域的繁荣与发展, 从而为心血管疾病患者的健康福祉作出更大贡献。

#### [参考文献]

- [1] FAN J, WATANABE T. Atherosclerosis: known and unknown[J]. *Pathol Int*, 2022, 72(3): 151-160.
- [2] FALK E. Pathogenesis of atherosclerosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47(8 Suppl): C7-C12.
- [3] FROSTEGÅRD J. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease[J]. *BMC Med*, 2013, 11: 117.
- [4] YVAN-CHARVET L, CARIOU B. Poststatin era in atherosclerosis management: lessons from epidemiologic and genetic studies[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2018, 29(3): 246-258.
- [5] SU C, MENON N V, XU X, et al. A novel human arterial wall-on-a-chip to study endothelial inflammation and vascular smooth muscle cell migration in early atherosclerosis[J]. *Lab Chip*, 2021, 21(12): 2359-2371.
- [6] LEE Y T, LIN H Y, CHAN Y W, et al. Mouse models of atherosclerosis: a historical perspective and recent advances[J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16(1): 12.
- [7] PERROTTA I. Atherosclerosis: from molecular biology to therapeutic perspective 2.0[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 15158.
- [8] CHEN W, SCHILPEROORT M, CAO Y, et al. Macrophage-targeted

- nanomedicine for the diagnosis and treatment of atherosclerosis[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2022, 19(4): 228-249.
- [9] MO Y, FENG Y, HUANG W, et al. Liquid-liquid phase separation in cardiovascular diseases[J]. *Cells*, 2022, 11(19): 3040.
- [10] SHIN Y, BRANGWYNNE C P. Liquid phase condensation in cell physiology and disease[J]. *Science*, 2017, 357(6357): eaaf4382.
- [11] BANJADE S, ROSEN M K. Phase transitions of multivalent proteins can promote clustering of membrane receptors[J]. *Elife*, 2014, 3: e04123.
- [12] GANSER L R, DJAJA N A, MYONG S. Chapter 4-biochemical and structural biology aspects of liquid-liquid phase separation: an interplay between proteins and RNA[M]. Massachusetts: Academic Press, 2023: 133-155.
- [13] BANANI S F, LEE H O, HYMAN A A, et al. Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(5): 285-298.
- [14] WANG J, CHANG H, QUAN X, et al. A model for identification of potential phase-separated proteins based on protein sequence, structure and cellular distribution[J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 243: 125196.
- [15] VALDES-GARCIA G, GAMAGE K, SMITH C, et al. The effect of polymer length in liquid-liquid phase separation[J]. *Cell Rep Phys Sci*, 2023, 4(5): 101415.
- [16] FRANZMANN T M, JAHNEL M, POZNIAKOVSKY A, et al. Phase separation of a yeast prion protein promotes cellular fitness[J]. *Science*, 2018, 359(6371): eaao5654.
- [17] DU M, CHEN Z J. DNA-induced liquid phase condensation of cGAS activates innate immune signaling[J]. *Science*, 2018, 361(6403): 704-709.
- [18] CINAR H, FETAHAJ Z, CINAR S, et al. Temperature, hydrostatic pressure, and osmolyte effects on liquid-liquid phase separation in protein condensates: physical chemistry and biological implications[J]. *Chemistry*, 2019, 25(57): 13049-13069.
- [19] ZHANG W, LI Z, WANG X, et al. Phase separation is regulated by post-translational modifications and participates in the developments of human diseases[J]. *Heliyon*, 2024, 10(13): e34035.
- [20] MURAI T. Transmembrane signaling through single-spanning receptors modulated by phase separation at the cell surface[J]. *Eur J Cell Biol*, 2024, 103(2): 151413.
- [21] LEI L, WU Z, WINKLHOFFER K F. Protein quality control by the proteasome and autophagy: a regulatory role of ubiquitin and liquid-liquid phase separation[J]. *Matrix Biol*, 2021, 100/101: 9-22.
- [22] ZHANG J Z, MEHTA S, ZHANG J. Liquid-liquid phase separation: a principal organizer of the cell's biochemical activity architecture[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2021, 42(10): 845-856.
- [23] ZASLAVSKY B Y, FERREIRA L A, UVERSKY V N. Chapter 1-biophysical principles of liquid-liquid phase separation[M]. Massachusetts: Academic Press, 2023: 3-82.
- [24] BRANGWYNNE C P, ECKMANN C R, COURSON D S, et al. Germline P granules are liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation[J]. *Science*, 2009, 324(5935): 1729-1732.
- [25] FORESSI N N, RODRÍGUEZ L C, CELEJ M S. Heterotypic liquid-liquid phase separation of tau and  $\alpha$ -synuclein; implications for overlapping neuropathologies[J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2023, 1871(6): 140950.
- [26] MUKHERJEE S, SAKUNTHALA A, GADHE L, et al. Liquid-liquid phase separation of  $\alpha$ -synuclein; a new mechanistic insight for  $\alpha$ -synuclein aggregation associated with Parkinson's disease pathogenesis[J]. *J Mol Biol*, 2023, 435(1): 167713.
- [27] FANG J, HUANG Y, WU J, et al. Fluorogenic methodology for visualization of phase separation in chemical biology[J]. *Org Biomol Chem*, 2023, 21(25): 5140-5149.
- [28] ZENG M, SHANG Y, ARAKI Y, et al. Phase transition in postsynaptic densities underlies formation of synaptic complexes and synaptic plasticity[J]. *Cell*, 2016, 166(5): 1163-1175.
- [29] BEUTEL O, MARASPINI R, POMBO-GARCÍA K, et al. Phase separation of zonula occludens proteins drives formation of tight junctions[J]. *Cell*, 2019, 179(4): 923-936.
- [30] TIAN Z, XU L, ZHANG N, et al. First-order nucleation and subsequent growth promote liquid-liquid phase separation of a model IgG1 mAb[J]. *Int J Pharm*, 2020, 588: 119681.
- [31] BRAMHAM J E, GOLOVANOV A P. Temporal and spatial characterisation of protein liquid-liquid phase separation using NMR spectroscopy[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1767.
- [32] FORD R R, GILBERT P H, GILLILAN R, et al. Micelle formation and phase separation of poloxamer 188 and preservative molecules in aqueous solutions studied by small angle X-ray scattering[J]. *J Pharm Sci*, 2023, 112(3): 731-739.
- [33] CHEN S, LU K, HOU Y, et al. YY1 complex in M2 macrophage promotes prostate cancer progression by upregulating IL-6[J]. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(4): e006020.
- [34] RUOTSALAINEN A K, MÄKINEN P, YLÄ-HERTTUALA S. Novel RNAi-based therapies for atherosclerosis[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2021, 23(8): 45.
- [35] SCHIESSEL H. Computer simulations of chromatin phase separation[J]. *Biophys J*, 2022, 121(22): 4244-4246.
- [36] 郭小瑜, 薛雨晨, 何斌, 等. 动脉粥样硬化的抗炎靶点 ApoB-100 的研究进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2018, 38(9): 1104-1108.
- GUO X Y, XUE Y C, HE B, et al. Advances of anti-inflammation therapy targeting ApoB-100 against atherosclerosis[J]. *J Shanghai Jiaotong Univ (Med Sci)*, 2018, 38(9): 1104-1108.
- [37] GALIMBERTI F, CASULA M, OLMASTRONI E. Apolipoprotein B compared with low-density lipoprotein cholesterol in the atherosclerotic cardiovascular diseases risk assessment[J]. *Pharmacol Res*, 2023, 195: 106873.
- [38] DE GROOTH G J, KLERKX A H, STROES E S, et al. A review of CETP and its relation to atherosclerosis[J]. *J Lipid Res*, 2004, 45(11): 1967-1974.
- [39] LA CHICA LHOËST M T, MARTÍNEZ A, GARCIA E, et al. ApoB100 remodeling and stiffened cholesteryl ester core raise LDL aggregation in familial hypercholesterolemia patients[J]. *J Lipid Res*, 2024, 66(1): 100703.
- [40] WANG X, HUANG R, WANG Y, et al. Manganese regulation of COPII condensation controls circulating lipid homeostasis[J]. *Nat*

- Cell Biol, 2023, 25(11): 1650-1663.
- [41] WANG Y, FENG X, ZHOU W, et al. Manganese therapy for dyslipidemia and plaque reversal in murine models[J]. Life Metab, 2023, 2(6): load040.
- [42] 孟庆雯, 刘华江, 易泓汝, 等. NLRP3 炎症小体在动脉粥样硬化中的作用机制和靶向炎症治疗的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(1): 79-86.
- MENG Q W, LIU H J, YI H R, et al. Mechanisms of NLRP3 inflammasome in atherosclerosis and advances in targeted in-inflammatory therapy[J]. Chin J Arterioscler, 2024, 32(1): 79-86.
- [43] SHEN C, LI R, NEGRO R, et al. Phase separation drives RNA virus-induced activation of the NLRP6 inflammasome[J]. Cell, 2021, 184(23): 5759-5774.
- [44] 陈一龙, 凌晓茹, 于浩澎, 等. 液-液相分离在细胞命运转变和疾病中的作用[J]. 四川大学学报(医学版), 2023, 54(5): 857-862.
- CHEN Y L, LING X R, YU H P, et al. Role of liquid-liquid phase separation in cell fate transition and diseases[J]. J Sichuan Univ (Med Sci), 2023, 54(5): 857-862.
- [45] ZHANG L, CHEN Q, AN W, et al. Novel pathological role of hnRNPA1 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1) in vascular smooth muscle cell function and neointima hyperplasia[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2017, 37: 2182-2194.
- [46] MUIZNIEKS L D, SHARPE S, POMÈS R, et al. Role of liquid-liquid phase separation in assembly of elastin and other extracellular matrix proteins[J]. J Mol Biol, 2018, 430(23): 4741-4753.
- [47] 乔莞宁, 陈虹印, 张 扬. 氧化应激与动脉粥样硬化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(4): 312-321.
- QIAO G N, CHEN H Y, ZHANG Y. Oxidative stress and atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(4): 312-321.
- [48] SAHIN C, LEPPERT A, LANDREH M. Advances in mass spectrometry to unravel the structure and function of protein condensates[J]. Nat Protoc, 2023, 18(12): 3653-3661.
- [49] ZHANG P C, FANG W Y, BAO L, et al. Theoretical and computational methods of protein liquid-liquid phase separation[J]. Acta Phys Sin, 2020, 69(13): 138701.
- [50] MA N, WU F, LIU J, et al. Kindlin-2 phase separation in response to flow controls vascular stability[J]. Circ Res, 2024, 135(12): 1141-1160.
- [51] 窦志慧, 王玉佩, 张 红. 液-液相分离在细胞信号调控过程中的作用机制[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2020, 36(9): 1013-1023.
- DOU Z H, WANG Y P, ZHANG H. Mechanisms of liquid-liquid phase separation in cell signaling[J]. Chin J Biochem Mol Biol, 2020, 36(9): 1013-1023.
- [52] CHEN J, SU Y, PI S, et al. The dual role of low-density lipoprotein receptor-related protein 1 in atherosclerosis[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 682389.
- [53] 张长胜, 来鲁华. 生物分子液-液相分离的物理化学机制[J]. 物理化学学报, 2020, 36(1): 40-54.
- ZHANG C S, LAI L H. Physicochemical mechanisms of biomolecular liquid-liquid phase separation[J]. Acta Phys Chim Sin, 2020, 36(1): 40-54.
- [54] LIAO X, SLUIMER J C, WANG Y, et al. Macrophage autophagy plays a protective role in advanced atherosclerosis[J]. Cell Metab, 2012, 15(4): 545-553.
- [55] FUJIOKA Y, ALAM J M, NOSHIRO D, et al. Phase separation organizes the site of autophagosome formation[J]. Nature, 2020, 578(7794): 301-305.
- [56] JIANG Y, LEI G, LIN T, et al. 1,6-Hexanediol regulates angiogenesis via suppression of cyclin A1-mediated endothelial function[J]. BMC Biol, 2023, 21(1): 75.
- [57] LIU J, ZHAO C, XIAO X, et al. Endothelial discoidin domain receptor 1 senses flow to modulate YAP activation[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 6457.
- [58] LIN H P, SINGLA B, AHN W, et al. Receptor-independent fluid-phase macropinocytosis promotes arterial foam cell formation and atherosclerosis[J]. Sci Transl Med, 2022, 14(663): eadd2376.
- [59] 王 丽, 王拥军, 万 兵, 等. 液-液相分离: 细胞内的调控机制和疾病发展[J]. 激光生物学报, 2024, 33(2): 97-107.
- WANG L, WANG Y J, WAN B, et al. Liquid-liquid phase separation: intracellular regulatory mechanisms and disease development[J]. Acta Laser Biol Sin, 2024, 33(2): 97-107.
- [60] DING C, MIN J, TAN Y, et al. Combating atherosclerosis with chirality/phase dual-engineered nanozyme featuring microenvironment-programmed senolytic and senomorphic actions[J]. Adv Mater, 2024, 36(29): e2401361.
- [61] LIU Q, LI J, ZHANG W, et al. Glycogen accumulation and phase separation drives liver tumor initiation[J]. Cell, 2021, 184(22): 5559-5576.
- [62] YE Z, JI M, WU K, et al. In-sequence high-specificity dual-reporter unlocking of fluorescent probe enables the precise identification of atherosclerotic plaques[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2022, 61(29): e202204518.
- [63] NOONAN J, GRASSIA G, MACRITCHIE N, et al. A novel triple-cell two-dimensional model to study immune-vascular interplay in atherosclerosis[J]. Front Immunol, 2019, 10: 849.
- [64] SARDAR S W, NAM J, KIM T E, et al. Identification of novel biomarkers for early diagnosis of atherosclerosis using high-resolution metabolomics[J]. Metabolites, 2023, 13(11): 1160.
- [65] HENEIN M Y, VANCHERI S, BAJRAKTARI G, et al. Coronary atherosclerosis imaging[J]. Diagnostics (Basel), 2020, 10(2): 65.
- [66] CASOLO G, DEL MEGLIO J, TESSA C. Epidemiology and pathophysiologic insights of coronary atherosclerosis relevant for contemporary non-invasive imaging[J]. Cardiovasc Diagn Ther, 2020, 10(6): 1906-1917.
- [67] CONTI B A, OPPIKOFER M. Biomolecular condensates: new opportunities for drug discovery and RNA therapeutics[J]. Trends Pharmacol Sci, 2022, 43(10): 820-837.
- [68] LADBURY J E, LIN C C, SUEN K M. Phase separation enhances probability of receptor signalling and drug targeting[J]. Trends Biochem Sci, 2023, 48(5): 428-436.
- [69] SHI Y, LIAO Y, LIU Q, et al. BRD4-targeting PROTAC as a unique tool to study biomolecular condensates[J]. Cell Discov, 2023, 9(1): 47.

- raphy and ethnicities[J]. ISME J, 2015, 9(9): 1979-1990.
- [42] TUOMAINEN M, LINDSTRÖM J, LEHTONEN M, et al. Associations of serum indolepropionic acid, a gut microbiota metabolite, with type 2 diabetes and low-grade inflammation in high-risk individuals[J]. Nutr Diabetes, 2018, 8(1): 35.
- [43] MISHRA S P, WANG B, JAIN S, et al. A mechanism by which gut microbiota elevates permeability and inflammation in obese/diabetic mice and human gut[J]. Gut, 2023, 72(10): 1848-1865.
- [44] CHEN C, LIANG Z F, HE Y Q, et al. Pravastatin promotes type 2 diabetes vascular calcification through activating intestinal *Bacteroides fragilis* to induce macrophage M1 polarization[J]. J Diabetes, 2024, 16(6): e13514.
- [45] CHEN Y, WANG Y, TANG R, et al. Dendritic cells-derived interferon- $\lambda$ 1 ameliorated inflammatory bone destruction through inhibiting osteoclastogenesis[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(6): 414.
- [46] AKERS E J, NICHOLLS S J, DI BARTOLO B A. Plaque calcification: do lipoproteins have a role? [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2019, 39(10): 1902-1910.
- [47] OZAKI D, KUBOTA R, MAENO T, et al. Association between gut microbiota, bone metabolism, and fracture risk in postmenopausal Japanese women[J]. Osteoporos Int, 2021, 32(1): 145-156.
- [48] CHEN Y, YANG C, DAI Q, et al. Gold-nanosphere mitigates osteoporosis through regulating TMAO metabolism in a gut microbiota-dependent manner[J]. J Nanobiotechnology, 2023, 21(1): 125.
- [49] LIU S, LI G, XU H, et al. "Cross-talk" between gut microbiome dysbiosis and osteoarthritis progression: a systematic review[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1150572.
- [50] PARK J H, LEE J, LEE G R, et al. Cholesterol sulfate inhibits osteoclast differentiation and survival by regulating the AMPK-Sirt1-NF- $\kappa$ B pathway [J]. J Cell Physiol, 2023, 238(9): 2063-2075.
- [51] CHOU R H, CHEN C Y, CHEN I C, et al. Trimethylamine N-Oxide, circulating endothelial progenitor cells, and endothelial function in patients with stable angina [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 4249.
- [52] WANG N, HAO Y, FU L. Trimethylamine-N-oxide promotes osteoclast differentiation and bone loss via activating ROS-dependent NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. Nutrients, 2022, 14(19): 3955.
- [53] DENG Y, ZHOU M, WANG J, et al. Involvement of the microbiota-gut-brain axis in chronic restraint stress: disturbances of the kynurenine metabolic pathway in both the gut and brain[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1-16.
- [54] DOHNALOVÁ L, LUNDGREN P, CARTY J R E, et al. A microbiome-dependent gut-brain pathway regulates motivation for exercise[J]. Nature, 2022, 612(7941): 739-747.
- [55] IBRAHIM I, SYAMALA S, AYARIGA J A, et al. Modulatory effect of gut microbiota on the gut-brain, gut-bone axes, and the impact of cannabinoids[J]. Metabolites, 2022, 12(12): 1247.
- (此文编辑 许雪梅)

(上接第 193 页)

- [70] ZHANG Y, JIN C, XU X, et al. The role of liquid-liquid phase separation in the disease pathogenesis and drug development[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 180: 117448.
- [71] SONG S, IVANOV T, YUAN D, et al. Peptide-based biomimetic condensates via liquid-liquid phase separation as biomedical delivery vehicles[J]. Biomacromolecules, 2024, 25(9): 5468-5488.
- [72] CHEN Z, HOU C, WANG L, et al. Screening membraneless organelle participants with machine-learning models that integrate multimodal features[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(24): e2115369119.
- [73] GUO G, WANG X, ZHANG Y, et al. Sequence variations of phase-separating proteins and resources for studying biomolecular condensates[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2023, 55(7): 1119-1132.
- [74] SUN Y, LAU S Y, LIM Z W, et al. Phase-separating peptides for direct cytosolic delivery and redox-activated release of macromolecular therapeutics[J]. Nat Chem, 2022, 14(3): 274-283.
- [75] MAO S, LIU Z Y, LIU Z Y, et al. Phase separation of epigenetic landscape in cardiovascular diseases [J]. Biomed Pharmacother, 2024, 181: 117654.
- [76] ZHANG H, JI X, LI P, et al. Liquid-liquid phase separation in biology: mechanisms, physiological functions and human diseases [J]. Sci China Life Sci, 2020, 63(7): 953-985.
- [77] 杨娟, 许佼. 浅谈动脉粥样硬化相关生物标志物研究进展 [J]. 实验与检验医学, 2020, 38(1): 46-49, 155.
- YANG J, XU J. Discussion on the research progress of atherosclerosis-related biomarkers [J]. Exp Lab Med, 2020, 38(1): 46-49, 155.
- [78] LIN A, HU Q, LI C, et al. The LINK-A lncRNA interacts with PtdIns (3,4,5) P3 to hyperactivate AKT and confer resistance to AKT inhibitors [J]. Nat Cell Biol, 2017, 19(3): 238-251.
- [79] WANG C, DUAN Y, DUAN G, et al. Stress induces dynamic, cytotoxicity-antagonizing TDP-43 nuclear bodies via paraspeckle lncRNA NEAT1-mediated liquid-liquid phase separation [J]. Mol Cell, 2020, 79(3): 443-458.
- [80] ALBERTI S, GLADFELTER A, MITTAG T. Considerations and challenges in studying liquid-liquid phase separation and biomolecular condensates [J]. Cell, 2019, 176(3): 419-434.
- [81] GASSET-ROSA F, LU S, YU H, et al. Cytoplasmic TDP-43 Demixing independent of stress granules drives inhibition of nuclear import, loss of nuclear TDP-43, and cell death [J]. Neuron, 2019, 102(2): 339-357.
- [82] POLLARD T D, COOPER J A. Actin, a central player in cell shape and movement [J]. Science, 2009, 326(5957): 1208-1212.
- [83] ZHENG X, HAN H, LIU G P, et al. lncRNA wires up hippo and hedgehog signaling to reprogramme glucose metabolism [J]. EMBO J, 2017, 36(22): 3325-3335.
- (此文编辑 文玉珊)