

本文引用: 牛佳龙, 王福荣, 王可馨, 等. 睡眠剥夺抑制大鼠血管生物钟因子 CRY1 表达促进血管衰老的实验研究[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(5): 395-401. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.05.004.

[文章编号] 1007-3949(2025)33-05-0395-07

· 实验研究 ·

睡眠剥夺抑制大鼠血管生物钟因子 CRY1 表达促进血管衰老的实验研究

牛佳龙¹, 王福荣², 王可馨¹, 王文杰¹, 刘艺轩¹, 马晓毅², 王忠可¹, 葛海龙¹

1. 首都医科大学附属北京安贞医院心内科北京市心肺血管疾病研究所, 北京市 100000;
2. 内蒙古达拉特旗人民医院心内科, 内蒙古鄂尔多斯市 017000

[摘要] [目的] 探讨睡眠剥夺与血管衰老之间的关系及可能存在的机制。[方法] 雄性 SD 大鼠分为对照组、衰老模型组、睡眠剥夺组及睡眠剥夺+衰老组, 每组各 6 只。改良水平台法剥夺大鼠睡眠时长。衰老相关 β 半乳糖苷酶(SA- β -Gal)染色检测大鼠血管衰老状况。实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)、Western blot 及免疫组织化学法测定各组大鼠血管组织中肿瘤抑制蛋白 p53、沉默信息调节因子 1(SIRT1)及生物钟因子隐花色素 1(CRY1)的表达水平。[结果] 与对照组相比, 衰老模型组大鼠血管组织中 SA- β -Gal 染色加深, p53 水平升高, SIRT1 水平降低。与对照组相比, 睡眠剥夺组、睡眠剥夺+衰老组大鼠血管组织存在与衰老模型组相似的改变, 包括 SA- β -Gal 染色加深, p53 水平升高, SIRT1 水平降低。此外, 相较于对照组, 睡眠剥夺组大鼠血管组织中 CRY1 水平降低, 睡眠剥夺+衰老组大鼠血管组织中仅 CRY1 mRNA 水平降低。与衰老模型组相比, 睡眠剥夺+衰老组大鼠血管组织中的 SA- β -Gal 染色加深, p53 水平升高, SIRT1 水平降低, CRY1 mRNA 水平降低。[结论] 睡眠剥夺可促进血管衰老相关因子表达, 其机制可能与抑制血管组织中 CRY1 的表达有关。

[关键词] 睡眠剥夺; 血管衰老; 隐花色素 1; 生物钟因子; 大鼠

[中图分类号] R5; R363

[文献标识码] A

Experimental study on sleep deprivation inhibiting clock gene CRY1 expression in vascular tissue and promoting vascular senescence

NIU Jialong¹, WANG Furong², WANG Kexin¹, WANG Wenjie¹, LIU Yixuan¹, MA Xiaoyi², WANG Zhongke¹, GE Hailong¹

1. Department of Cardiology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University & Beijing Institute of Cardiopulmonary Vascular Diseases, Beijing 100000, China; 2. Department of Cardiology, Inner Mongolia Ordos City Dalate Banner People's Hospital, Ordos, Inner Mongolia 017000, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between sleep deprivation and vascular aging, as well as the underlying mechanisms. **Methods** Male Sprague-Dawley rats were divided into control group, senescence group, sleep deprivation group, and sleep deprivation+senescence group, with 6 rats in each group. The modified level table method deprived rats of sleep duration. Senescence-associated β -galactosidase (SA- β -Gal) staining was used to detect the senescence status of rat vascular tissue. The mRNA and protein expression of tumor suppressor protein p53, silent information regulator 1 (SIRT1) and clock gene cryptochrome 1 (CRY1) was detected by real-time fluorescence quantification PCR (RT-qPCR), Western blot and immunohistochemistry. **Results** Compared with the control group, the intensity of SA- β -Gal staining was increased in the vascular tissues of the senescence group rats, the expression level of p53 was elevated, the expression level of SIRT1 was decreased. Similar changes were observed in the sleep deprivation group and the sleep deprivation+senescence group, including intensified SA- β -Gal staining, elevated p53 levels, and reduced SIRT1 levels in vascular tissues. Additionally, compared with the control group, the sleep deprivation group showed reduced CRY1

[收稿日期] 2024-06-30

[修回日期] 2024-09-06

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81973841 和 81573744)

[作者简介] 牛佳龙, 硕士, 主要研究方向为睡眠对血管衰老的影响。通信作者葛海龙, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为血管钙化及衰老的机制, E-mail: azccmu@163.com。

levels in vascular tissues, while only CRY1 mRNA levels were reduced in the sleep deprivation+senescence group. Furthermore, compared with the senescence group, the sleep deprivation+senescence group exhibited intensified SA- β -Gal staining, increased p53 level, decreased SIRT1 level, and reduced CRY1 mRNA level in vascular tissues. **Conclusion**

Sleep deprivation may promote the expression of vascular aging-related factors, potentially through the inhibition of CRY1 expression in vascular tissues.

[**KEY WORDS**] sleep deprivation; vascular senescence; cryptochrome 1; clock gene; rat

动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病,发病率随人群年龄的增长而升高。细胞衰老是一种细胞周期停滞状态,机体组织中衰老细胞的比例升高可导致组织功能障碍。在动脉粥样硬化斑块中,衰老的内皮细胞比例升高^[1]。因此有学者推测血管衰老是动脉粥样硬化发生的机制之一^[2]。近年来有研究表明睡眠时间不足和睡眠碎片化程度增加是动脉粥样硬化形成的独立危险因素。Domínguez等^[3]发现每日睡眠不足6 h的人血管动脉粥样硬化的斑块负荷更大,且睡眠碎片化程度高的人动脉粥样硬化斑块发生率更高。但睡眠不足是否会加重血管衰老尚不明确。有研究表明,睡眠剥夺会影响生物钟因子隐花色素1(cryptochrome 1,CRY1)的表达并诱发代谢异常、血管炎症等异常状态^[4-5]。且CRY1可抑制细胞衰老,研究发现CRY1可以通过促进p53降解和调控铁自噬改善细胞衰老^[6-7]。且CRY1可抑制血管炎症并改善动脉粥样硬化,动脉粥样硬化患者的CRY1表达较低,过表达CRY1小鼠的血管炎症及动脉粥样硬化的程度得到了明显改善^[5,8]。但CRY1是否参与睡眠不足加重动脉粥样硬化的过程尚不清楚。因此本研究拟观察睡眠剥夺抑制血管组织中CRY1基因的表达,以及对血管衰老的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

6~8周龄雄性SPF级SD大鼠24只,体质量(233±15)g。大鼠均购自斯贝福生物技术有限公司[动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0010;动物质量合格证号:110324231104941182]。本实验经康泰医学检验服务北京有限公司实验动物伦理委员会审批(批文号:MDL2023-09-10-01)。

1.2 主要药物及试剂

TRizol总RNA提取试剂(天根生化科技有限公司);NovoScript® Plus All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix (gDNA Purge)(Novoprotein公司);BlazeTaq™ SYBR® Green qPCR Mix 2.0(GeneCopoeia

公司);DL 2 000 DNA Marker(擎科生物公司);PCR引物(生工生物公司)。蛋白抽提试剂、BCA蛋白定量试剂盒、BSA标准品、山羊抗兔IgG、山羊抗大鼠IgG、GAPDH鼠单抗(天德瑞生物科技有限公司);蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂(Roche公司)。 β 半乳糖苷酶(β -galactosidase, β -Gal)染色试剂盒、D半乳糖(D-Galactose,D-Gal)溶液(碧云天生物技术公司)。DAB浓缩型试剂盒(上海长岛生物技术有限公司)。

1.3 主要仪器

涡旋振荡仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);离心机(Eppendorf公司);分光光度计(Thermo scientific公司);荧光定量PCR仪(Applied Biosystems公司)。Fresco低温冷冻离心机、MultiSkan3酶标仪(Thermo公司);电泳仪(Bio-Rad公司);组织破碎仪(Monad公司)。正置显微镜[OLYMPUS(CX41)公司];恒温烘箱(上海恒一科学仪器有限公司);石蜡切片机、摊片机(徕克公司);数码相机(NIKON公司)。改良多平台水环境法睡眠剥夺系统,水箱中放置12个平台,每个平台直径5.5 cm,高6 cm,大鼠可在平台之间自由移动,水和食物置于水箱上,大鼠可自由获取,水箱中水面距平台2 cm,当大鼠困倦肌张力降低时会掉入水中惊醒并爬回到平台上^[9]。

1.4 分组及给药

适应性喂养1周后,将24只SD大鼠随机分为对照组、衰老模型组、睡眠剥夺组和睡眠剥夺+衰老组,每组6只。对照组颈背部皮下注射生理盐水[0.125 g/(kg·d),5周]。衰老模型组颈背部皮下注射5% D-Gal溶液[0.125 g/(kg·d),5周]诱导衰老,衰老模型组大鼠血管组织衰老相关 β 半乳糖苷酶(senescence associated β -Gal,SA- β -Gal)染色程度升高,p53表达水平升高及沉默信息调节因子1(silent information regulator 1,SIRT1)表达水平降低为血管衰老造模成功。睡眠剥夺组大鼠置于改良水平台内进行睡眠剥夺18 h/d,持续5周^[9],同时颈背部皮下注射生理盐水[0.125 g/(kg·d),5周]。睡眠剥夺+衰老组在使用改良水平台法进行睡眠剥夺的同时于大鼠颈背部皮下注射5% D-Gal诱导衰老。过量麻醉法(2%~2.5%异氟烷)处死大鼠,取

每组中 3 只大鼠主动脉弓部分血管浸于 4% 多聚甲醛溶液中固定保存,余 3 只大鼠主动脉制作冰冻样本。固定样本进行 IHC,冰冻样本进行 PCR 和 Western blot。

1.5 SA- β -Gal 染色检测各组大鼠主动脉血管衰老状况

将冰冻组织加入 OCT 包埋剂中,室温浸泡 2 h;将标本置于托物台,用恒冷箱切片机切片后进行染色;冰冻切片先进行复温,用 PBS 浸泡洗涤组织 3 次,加入适当体积的 β -Gal 染色固定液,室温固定后用 PBS 浸泡洗涤组织 3 次,吸除 PBS,加入适量的染色工作液。37 °C 孵育过夜后普通光学显微镜下观察。

1.6 RT-qPCR 法检测各组大鼠主动脉中 p53、SIRT1 及 CRY1 表达水平

取各组大鼠主动脉组织,按产品说明书采用 TRizol 总 RNA 提取试剂进行样本 RNA 提取。采用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 进行 cDNA 反转录后进行 RT-qPCR 样本检测。各样品的目的基因和内参分别进行实时性 PCR,每个样本检测 3 个复孔。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算 RNA 相对表达量,采用 GAPDH 作为内参。实验所用引物见表 1。

表 1. 基因引物序列表

Table 1. Sequences of gene primers

基因名称	引物序列
p53	正向:5'-TACATGTGCAACAGCTCCT-3'
	负向:5'-AGAAGATTCCTCACTGGAGTC-3'
SIRT1	正向:5'-GTCGGTGAATTATGCAGCA-3'
	负向:5'-TCTGGTGGGTGCAATATCTC-3'
CRY1	正向:5'-ACTGCTCTCAAGGAAGTGG-3'
	负向:5'-AGCTTCTTCCTTGCCTTTAGTG-3'
GAPDH	正向:5'-AACTCCCATTCTTCCACCT-3'
	负向:5'-TTGTCATACCAGGAAATGAGC-3'

1.7 Western blot 检测各组大鼠主动脉中 p53、SIRT1 及 CRY1 蛋白表达水平

取各组大鼠主动脉组织,加入含有 PMSF 的

RIPA 裂解液提取总蛋白,采用 BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度。加上样缓冲液及 RIPA 裂解液调整蛋白浓度,上样量为 20 μ g 蛋白;经 SDS-PAGE 电泳、转膜后,用封闭液封闭 1 h;加入对应一抗 4 °C 孵育过夜;加入二抗(1:10 000)室温孵育 1 h;采用超敏 ECL 显色液显影并扫描。以 GAPDH 为内参,采用 Image J 软件分析条带灰度值,并对目的蛋白进行半定量分析。

1.8 免疫组织化学法检测各组大鼠主动脉中 p53、SIRT1 及 CRY1 蛋白表达水平

取大鼠胸主动脉固定标本,脱蜡、水化,置于 0.01 mol/L 柠檬酸钠缓冲溶液中高压修复后加 3% H_2O_2 ,阻断内源性过氧化物酶,湿盒孵育。加非免疫、正常羊血清封闭非特异性抗原,湿盒孵育;PBS 洗后滴加一抗;4 °C 孵育过夜。加 HRP 标记二抗(兔抗)孵育后 DAB 染色,自来水冲洗,苏木精复染。脱水、透明、封片后通过显微镜拍照,使用 Image Pro Plus 分析样本图像。

1.9 统计学处理方法

采用 SPSS 26.0 统计学软件进行数据分析;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;正态分布计量资料多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),两两比较采用 LSD 检验,非正态分布计量资料组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 睡眠剥夺对大鼠主动脉中 SA- β -Gal 染色及 p53、SIRT1 表达的影响

与对照组相比,衰老模型组与睡眠剥夺组大鼠血管组织 SA- β -Gal 染色程度升高,但差异无显著性($P > 0.05$),睡眠剥夺+衰老组升高 22 倍($P < 0.01$);与衰老模型组相比,睡眠剥夺+衰老组大鼠血管组织 SA- β -Gal 染色程度升高 2.9 倍($P < 0.05$;图 1)。

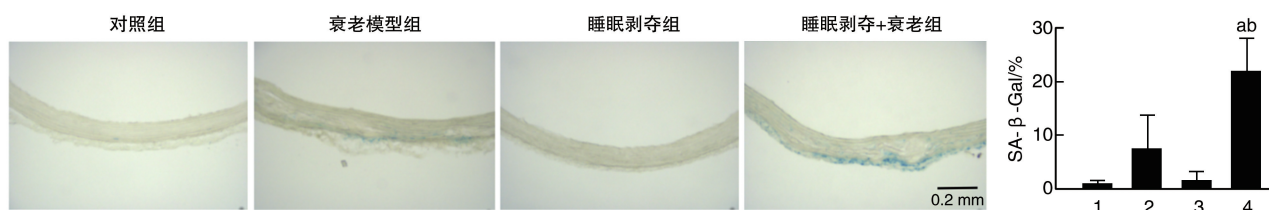


图 1. 睡眠剥夺对大鼠主动脉组织 SA- β -Gal 染色的影响($n=3$)

1 为对照组,2 为衰老模型组,3 为睡眠剥夺组,4 为睡眠剥夺+衰老组。a 为 $P < 0.01$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与衰老模型组相比。

Figure 1. Effect of sleep deprivation on SA- β -Gal staining in rat aortic($n=3$)

与对照组相比,衰老模型组大鼠血管组织 p53 mRNA 表达升高 1.7 倍($P<0.01$),蛋白表达水平升高 4.8 倍($P<0.01$),免疫组织化学检测结果显示衰老模型组 p53 表达较对照组升高 2.8 倍($P<0.05$)。与对照组相比,睡眠剥夺组大鼠血管组织中 p53 mRNA 表达升高 2.3 倍($P<0.01$),蛋白表达水平升高 4 倍($P<0.05$),免疫组织化学检测结果显示睡眠剥夺组大鼠 p53 表达与对照组相比差异无显著性($P>0.05$)。与对照组相比,睡眠剥夺+衰老组大鼠

血管组织中 p53 mRNA 表达升高 2.8 倍($P<0.01$),蛋白表达水平升高 7 倍($P<0.01$),免疫组织化学检测结果显示睡眠剥夺+衰老组 p53 表达较对照组升高 5.6 倍($P<0.01$)。与衰老模型组相比,睡眠剥夺+衰老组大鼠血管组织 p53 mRNA 表达水平升高 1.6 倍($P<0.01$),免疫组织化学检测结果显示 p53 表达升高 2 倍($P<0.01$),蛋白表达较衰老模型组差异无显著性($P>0.05$;图 2)。

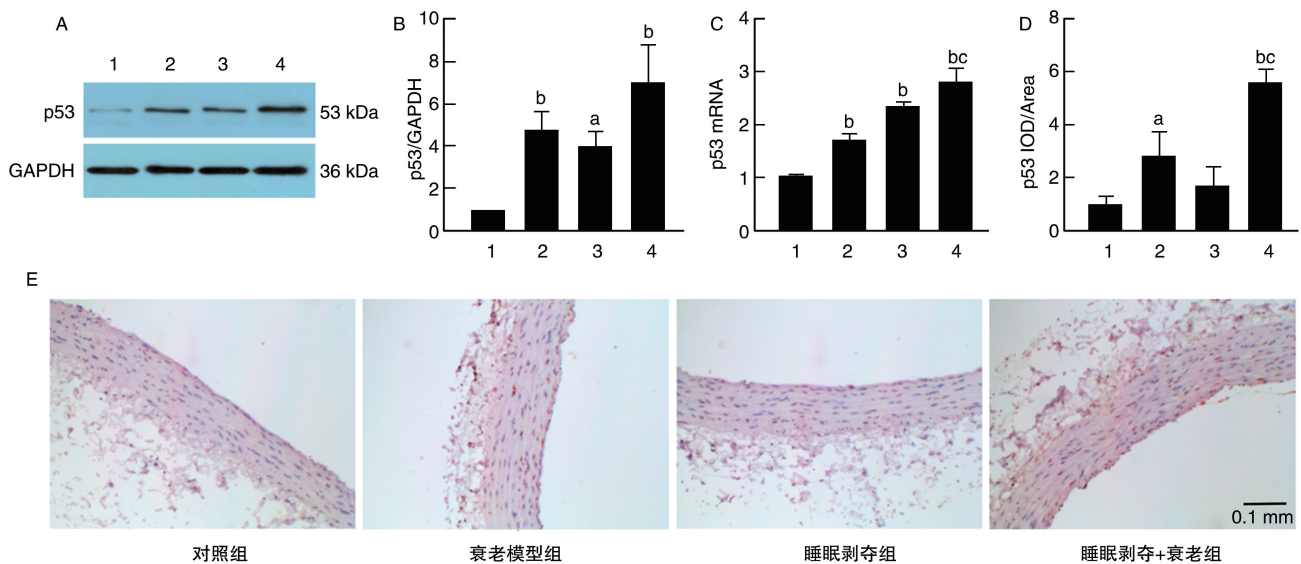


图 2. 睡眠剥夺对大鼠主动脉组织 p53 表达的影响($n=3$)

A 和 B 为 Western blot 检测 p53 蛋白表达;C 为 RT-qPCR 检测 p53 mRNA 表达;D 为 Image Pro Plus 分析免疫组织化学结果;

E 为免疫组织化学结果。1 为对照组,2 为衰老模型组,3 为睡眠剥夺组,4 为睡眠剥夺+衰老组。

a 为 $P<0.05$,b 为 $P<0.01$,与对照组比较;c 为 $P<0.01$,与衰老模型组比较。

Figure 2. Effect of sleep deprivation on p53 expression in rat aortic($n=3$)

与对照组相比,衰老模型组大鼠血管组织 SIRT1 mRNA 表达降低 78% ($P<0.01$),蛋白表达水平降低 36% ($P<0.05$),免疫组织化学检测结果显示衰老模型组 SIRT1 表达较对照组降低 79% ($P<0.05$)。与对照组相比,睡眠剥夺组大鼠血管组织中 SIRT1 mRNA 表达水平降低 69% ($P<0.01$),蛋白表达与免疫组织化学检测方面差异无显著性($P>0.05$)。与对照组相比,睡眠剥夺+衰老组大鼠血管组织中 SIRT1 mRNA 表达降低 90% ($P<0.01$),蛋白表达水平降低 43% ($P<0.05$),免疫组织化学检测结果显示睡眠+衰老模型组 SIRT1 表达较对照组降低 66% ($P<0.05$)。与衰老模型组相比,睡眠剥夺+衰老组大鼠血管组织 SIRT1 mRNA 表达水平降低 59% ($P<0.01$),蛋白表达与免疫组织化学检测方面差异无显著性($P>0.05$;图 3)。

2.2 睡眠剥夺对各组大鼠主动脉中 CRY1 表达的影响

与对照组相比,衰老模型组大鼠血管组织 CRY1 mRNA 表达降低 17% ($P<0.01$),蛋白表达水平及免疫组织化学检测结果差异均无显著性($P>0.05$)。与对照组相比,睡眠剥夺组大鼠血管组织中 CRY1 mRNA 表达降低 88% ($P<0.01$),蛋白表达水平降低 37% ($P<0.05$),免疫组织化学检测结果显示睡眠剥夺组与对照组差异无显著性($P>0.05$)。与对照组相比,睡眠剥夺+衰老组大鼠血管组织中 CRY1 mRNA 表达水平降低 42% ($P<0.01$),蛋白表达及免疫组织化学检测结果差异无显著性($P>0.05$)。与衰老模型组相比,睡眠剥夺+衰老组大鼠血管组织 CRY1 mRNA 表达水平降低 30% ($P<0.01$),蛋白表达及免疫组织化学检测结果差异无显著性($P>0.05$;图 4)。

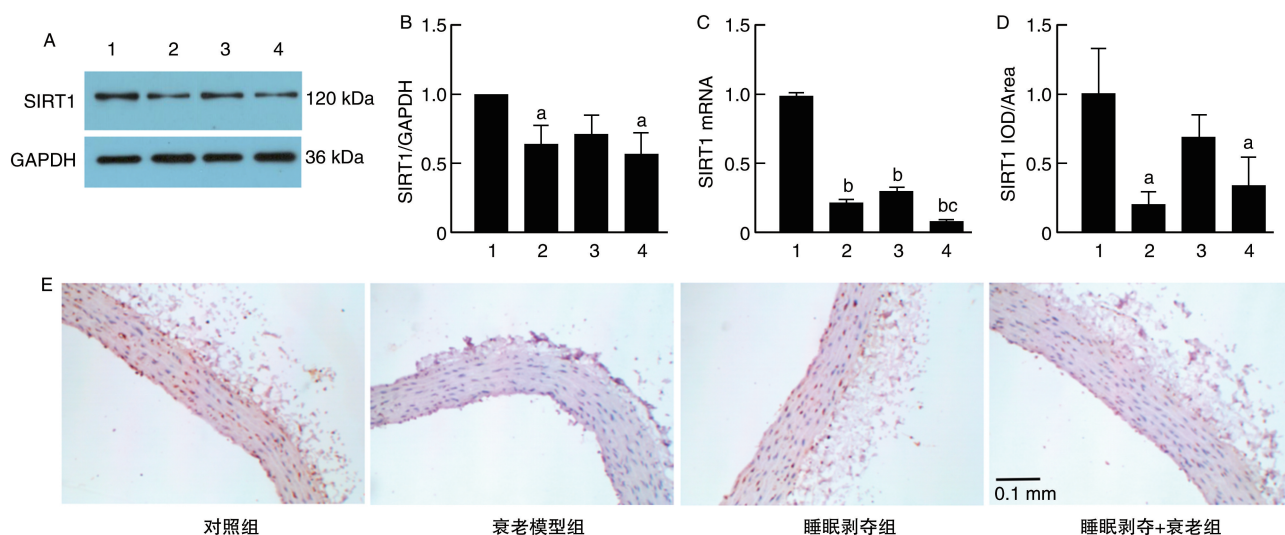


图 3. 睡眠剥夺对大鼠主动脉组织 SIRT1 表达的影响 ($n=3$)

A 和 B 为 Western blot 检测 SIRT1 蛋白表达; C 为 RT-qPCR 检测 SIRT1 mRNA 表达; D 为 Image Pro Plus 分析免疫组织化学结果;

E 为免疫组织化学结果。1 为对照组, 2 为衰老模型组, 3 为睡眠剥夺组, 4 为睡眠剥夺+衰老组。

a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与对照组比较; c 为 $P<0.01$, 与衰老模型组相比。

Figure 3. Effect of sleep deprivation on SIRT1 expression in rat aortic ($n=3$)

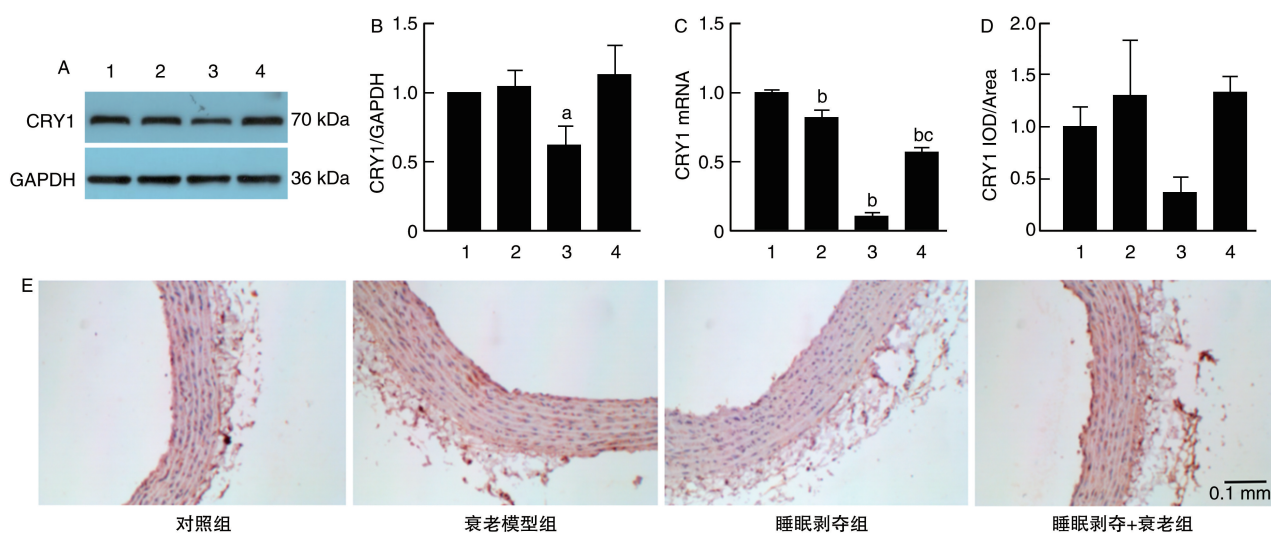


图 4. 睡眠剥夺对大鼠主动脉组织 CRY1 表达的影响 ($n=3$)

A 和 B 为 Western blot 检测 CRY1 蛋白表达; C 为 RT-qPCR 检测 CRY1 mRNA 表达; D 为 Image Pro Plus 分析免疫组织化学结果;

E 为免疫组织化学结果。1 为对照组, 2 为衰老模型组, 3 为睡眠剥夺组, 4 为睡眠剥夺+衰老组。

a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与对照组比较; c 为 $P<0.01$, 与衰老模型组相比。

Figure 4. Effect of sleep deprivation on CRY1 expression in rat aortic ($n=3$)

3 讨论

动脉粥样硬化是血管组织中脂质异常积聚和炎症细胞浸润引发的一种慢性炎症代谢性疾病, 随人群年龄的增长, 动脉粥样硬化的发生率升高^[10]。细胞衰老是一种细胞周期停滞状态, 在机体自然衰老进程中, 组织中衰老细胞的比例会逐渐升高, 导

致组织的功能障碍, 引发疾病^[11-12]。在动脉粥样硬化斑块中, 衰老的内皮细胞比例升高, 提示血管衰老可能参与动脉粥样硬化的发生^[1]。睡眠是机体重要的生理活动之一, 睡眠时间可以影响神经系统、炎症因子、血脂等因素, 睡眠不足会引发肥胖、糖尿病及高血压等疾病, 充足的睡眠时间是机体健康的保障^[13]。而现代社会许多人有不同程度的睡

眠问题,2015年的一项关于我国成年居民睡眠状况的研究表明,约25%的成年人睡眠不足或睡眠过久^[14]。睡眠与冠心病之间存在密切的联系,于龙等^[15]研究发现,失眠是心肌梗死的危险因素。睡眠时间短和睡眠碎片化增加是动脉粥样硬化形成的独立危险因素,一项前瞻性队列研究表明每日睡眠不足6h的人血管动脉粥样硬化斑块负荷更大,睡眠碎片化程度高的人动脉粥样硬化斑块发生率更高^[3]。Li等^[16]对睡眠剥夺与动脉粥样硬化之间的关系研究发现,睡眠剥夺可以加剧血管炎症和动脉粥样硬化,3个月的睡眠剥夺会加重小鼠血管的炎症反应和动脉粥样硬化程度。睡眠剥夺可以加重血管的动脉粥样硬化,且血管衰老参与了动脉粥样硬化的形成,但睡眠剥夺与血管衰老之间的关系尚不清楚,本文研究了睡眠剥夺对血管衰老的影响。p53、SIRT1和SA-β-Gal是细胞衰老的标志物,细胞衰老时p53表达升高,SIRT1表达降低,SA-β-Gal活性升高^[17]。D-Gal试剂可以使细胞内晚期糖基化终末产物(advanced glycation end-product, AGE)和细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)积聚,常用于动物的衰老造模^[18]。本研究中,与对照组相比,D-Gal试剂造模的衰老模型组大鼠血管组织中p53表达上调,SIRT1下调,SA-β-Gal染色加深,证明衰老模型组大鼠血管衰老状况较对照组加重,而在睡眠剥夺组大鼠中可见类似的表现,证明睡眠剥夺会加剧血管衰老。与衰老模型组大鼠相比,睡眠剥夺+衰老组大鼠p53表达升高,SA-β-Gal染色加深,SIRT1表达有降低趋势,证明睡眠剥夺可加重衰老大鼠的血管衰老状况。

生物钟维持着哺乳动物24h的昼夜节律,影响着哺乳动物体内的激素、细胞因子和代谢物一天中的波动,使之与外界环境的昼夜变化同步。昼夜节律源于细胞中生物钟因子的表达、积聚和降解。人类体内的主要生物钟因子可分为两组,抑制因子PER(period)、隐花色素(cryptochrome, CRY)和激活因子CLOCK、脑和肌肉芳香烃受体核转运蛋白1(brain and muscle ARNT-like 1, BMAL1)。它们以异源二聚体的形式工作,白天CLOCK/BMAL1上调并连接到抑制基因的启动子区域,上调PER和CRY蛋白的表达,睡前PER与CRY的浓度达到峰值,随后PER和CRY蛋白形成二聚体迁移至细胞核抑制CLOCK与BMAL1的表达,形成负反馈环,最后PER与CRY开始降解并启动新的周期^[19]。生物钟因子CRY1作为分子钟负反馈回路中的主要转录抑制成分,是调控昼夜节律长短的关键因子,CRY1的表

达程度与昼夜节律长短呈正相关^[20]。有研究表明,睡眠剥夺会影响生物钟因子的表达,使组织中CRY1的表达降低^[4,21]。且CRY1有一定的抗衰老作用,可以通过降解p53来改善细胞衰老^[6-7]。动脉粥样硬化患者的CRY1表达较正常人群低,且在大鼠中过表达CRY1可抑制血管炎症、改善血脂水平并抑制动脉粥样硬化进展,提示CRY1可能参与了动脉粥样硬化的形成^[5,8]。那么睡眠剥夺是否会影响血管组织内CRY1的表达,加重血管衰老和动脉粥样硬化?本研究结果显示,睡眠剥夺组大鼠血管组织中CRY1表达较对照组大鼠降低,但睡眠剥夺+衰老组大鼠血管组织中CRY1仅在mRNA表达上略低于衰老模型组,可能是睡眠剥夺对年轻机体的影响大于衰老机体,这与Sengupta的研究结果类似^[22]。而衰老模型组大鼠与对照组大鼠相比并未表现出血管组织中CRY1表达的明显变化,甚至与睡眠剥夺组对比,睡眠剥夺+衰老组CRY1水平反而升高,可能是衰老造模减轻了睡眠剥夺对CRY1表达的抑制作用。

本研究主要关注了睡眠剥夺对血管组织中生物钟因子CRY1的抑制,以及对血管衰老的影响,为寻找潜在的抗血管衰老治疗方法提供了理论基础和治疗思路。但本研究并未进一步深入分析睡眠剥夺是否会通过影响血管组织的CRY1表达来影响血管衰老状况并加重动脉粥样硬化,过表达CRY1可否改善睡眠剥夺造成的血管衰老尚有待研究。

综上所述,本研究中睡眠剥夺会加重血管衰老,抑制血管组织中生物钟因子CRY1的表达。睡眠不足可能会通过抑制CRY1的表达加重血管衰老,进而参与动脉粥样硬化进程。

[参考文献]

- [1] 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): 1541-1544.
- [2] WANG J C, BENNETT M. Aging and atherosclerosis: mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence[J]. *Circ Res*, 2012, 111(2): 245-259.
- [3] DOMÍNGUEZ F, FUSTER V, FERNÁNDEZ-ALVIRA J M, et al. Association of sleep duration and quality with subclinical atherosclerosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(2): 134-144.
- [4] CEDERNAES J, OSLER M E, VOISIN S, et al. Acute sleep loss induces tissue-specific epigenetic and transcriptional alterations to circadian clock genes in men[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(9): E1255-E1261.

- [5] QIN B, DENG Y. Overexpression of circadian clock protein cryptochrome (CRY) 1 alleviates sleep deprivation-induced vascular inflammation in a mouse model [J]. *Immunol Lett*, 2015, 163(1): 76-83.
- [6] JIA M, SU B, MO L, et al. Circadian clock protein CRY1 prevents paclitaxel-induced senescence of bladder cancer cells by promoting p53 degradation[J]. *Oncol Rep*, 2021, 45(3): 1033-1043.
- [7] MA J, CHEN S, LIU J, et al. Cryptochrome 1 regulates ovarian granulosa cell senescence through NCOA4-mediated ferritinophagy [J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 217: 1-14.
- [8] YANG L, CHU Y, WANG L, et al. Overexpression of CRY1 protects against the development of atherosclerosis via the TLR/NF- κ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1): 525-530.
- [9] KONAKANCHI S, RAAVI V, ML H K, et al. Impact of chronic sleep deprivation and sleep recovery on hippocampal oligodendrocytes, anxiety-like behavior, spatial learning and memory of rats[J]. *Brain Res Bull*, 2023, 193: 59-71.
- [10] LIBBY P. The changing landscape of atherosclerosis[J]. *Nature*, 2021, 592(7855): 524-533.
- [11] TCHKONIA T, KIRKLAND J L. Aging, cell senescence, and chronic disease: emerging therapeutic strategies[J]. *JAMA*, 2018, 320(13): 1319-1320.
- [12] 刘晨, 成姣, 刘焯, 等. 内皮细胞衰老与血管功能障碍[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2024, 32(10): 916-920.
LIU C, CHENG J, LIU Y, et al. Endothelial cell senescence and vascular dysfunction[J]. *Chin J Arterioscler*, 2024, 32(10): 916-920.
- [13] CHUNG J, GOODMAN M O, HUANG T, et al. Objectively regular sleep patterns and mortality in a prospective cohort: the multi-ethnic study of atherosclerosis [J]. *J Sleep Res*, 2024, 33(1): e14048.
- [14] 苏畅, 王惠君, 张兵. 2015 年中国十五省(自治区、直辖市)18~64 岁成年居民睡眠状况[J]. *卫生研究*, 2020, 49(3): 498-501.
- SU C, WANG H J, ZHANG B. Sleep status of adults aged 18~64 in fifteen provinces(autonomous regions and municipalities) of China in 2015 [J]. *J Hyg Res*, 2020, 49(3): 498-501.
- [15] 于龙, 李英伟. 双向两样本孟德尔随机化分析失眠与心肌梗死的因果关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2024, 32(9): 783-789.
YU L, LI Y W. Bidirectional two-sample Mendelian randomization study of insomnia and myocardial infarction [J]. *Chin J Arterioscler*, 2024, 32(9): 783-789.
- [16] LI X, CAO Y, XU X, et al. Sleep deprivation promotes endothelial inflammation and atherogenesis by reducing exosomal miR-182-5p [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2023, 43(6): 995-1014.
- [17] LI D, SI J, GUO Y, et al. Danggui-buxue decoction alleviated vascular senescence in mice exposed to chronic intermittent hypoxia through activating the Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Pharm Biol*, 2023, 61(1): 1041-1053.
- [18] LI X, LI X, DENG L. Chrysin reduces inflammation and oxidative stress and improves ovarian function in D-gal-induced premature ovarian failure[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(4): 8291-8301.
- [19] MALICKI M, KARUGA F F, SZMYD B, et al. Obstructive sleep apnea, circadian clock disruption, and metabolic consequences[J]. *Metabolites*, 2022, 13(1): 60.
- [20] PATKE A, MURPHY P J, ONAT O E, et al. Mutation of the human circadian clock gene CRY1 in familial delayed sleep phase disorder[J]. *Cell*, 2017, 169(2): 203-215.
- [21] YANG D F, HUANG W C, WU C W, et al. Acute sleep deprivation exacerbates systemic inflammation and psychiatry disorders through gut microbiota dysbiosis and disruption of circadian rhythms [J]. *Microbiol Res*, 2023, 268: 127292.
- [22] SENGUPTA A, TUDOR J C, CUSMANO D, et al. Sleep deprivation and aging are metabolically linked across tissues[J]. *Sleep*, 2023, 46(11): zsad246.

(此文编辑 许雪梅)