

本文引用: 李喜悦, 张春瑞, 王会丹, 等. 香茅醛通过激活自噬-溶酶体途径促进 RNF4 降解以拮抗内皮细胞氧化损伤[J]. 中国动脉硬化杂志, 2026, 34(5): 412-417. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2026.05.004.

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2026)34-05-0412-06

## 香茅醛通过激活自噬-溶酶体途径促进 RNF4 降解 以拮抗内皮细胞氧化损伤

李喜悦<sup>1</sup>, 张春瑞<sup>1</sup>, 王会丹<sup>1</sup>, 李程芝<sup>1</sup>, 张红豆<sup>1</sup>, 郝蕊<sup>1</sup>, 李鹏<sup>1</sup>, 王倩倩<sup>1</sup>, 王双喜<sup>1,2</sup>

1. 河南医药大学药学院, 河南省新乡市 453003; 2. 山东大学齐鲁医院, 山东省济南市 250012

**[摘要]** **[目的]** 探讨香茅醛是否通过增强自噬-溶酶体途径, 促进环指蛋白 4 (RNF4) 降解, 进而稳定鸟苷三磷酸环化水解酶 1 (GTPCH1) 的蛋白水平, 以拮抗氧化应激诱导的人脐静脉内皮细胞损伤。**[方法]** 采用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理人脐静脉内皮细胞构建氧化损伤模型, 并用 0.48 mmol/L 香茅醛进行干预。MTT 测定细胞活力, Western blot 检测 p62、微管相关蛋白轻链 3B (LC3B)、溶酶体相关膜蛋白 1 (LAMP1)、GTPCH1 和 RNF4 蛋白表达。使用溶酶体抑制剂氯喹 (CQ) 和蛋白酶体抑制剂 MG132 处理细胞。免疫共沉淀 (CoIP) 验证在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作用下 GTPCH1 的 SUMO 化及其与 RNF4 的相互作用。**[结果]** 与对照组相比, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理可显著降低内皮细胞活力 ( $P < 0.05$ ) 及 GTPCH1 蛋白水平 ( $P < 0.01$ ), 并上调 RNF4 蛋白表达 ( $P < 0.01$ ); CoIP 实验证实, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 可诱导 GTPCH1 发生 SUMO 化修饰并与 RNF4 结合。与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组相比, 香茅醛干预可显著逆转上述变化, 同时改善自噬流功能: p62 水平显著降低 ( $P < 0.001$ ), LC3B-II/LC3B-I 比值恢复正常 ( $P < 0.001$ ), LAMP1 表达上调 ( $P < 0.05$ )。抑制剂实验显示, 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组相比, MG132 可显著阻断 GTPCH1 的降解 ( $P < 0.01$ ), CQ 可显著抑制 RNF4 的降解 ( $P < 0.05$ )。**[结论]** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 通过诱导 RNF4 介导的 GTPCH1 SUMO 化-泛素化降解引发内皮细胞损伤; 香茅醛通过增强自噬-溶酶体通路功能促进 RNF4 降解, 进而稳定 GTPCH1, 拮抗 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所致的内皮细胞损伤。

**[关键词]** 香茅醛; 内皮细胞损伤; 自噬; 溶酶体; 环指蛋白 4; 鸟苷三磷酸环化水解酶 1; 泛素化

**[中图分类号]** R5; R363

**[文献标识码]** A

### Citronellal antagonizes oxidative damage in endothelial cells by activating the autophagy-lysosome pathway to promote the degradation of RNF4

LI Xiyue<sup>1</sup>, ZHANG Chunrui<sup>1</sup>, WANG Huidan<sup>1</sup>, LI Chengzhi<sup>1</sup>, ZHANG Hongdou<sup>1</sup>, HAO Rui<sup>1</sup>, LI Peng<sup>1</sup>, WANG Qianqian<sup>1</sup>, WANG Shuangxi<sup>1,2</sup>

1. College of Pharmacy, Henan Medical University, Xinxiang, Henan 453003, China; 2. Qilu Hospital, Shandong University, Jinan, Shandong 250012, China

**[ABSTRACT]** **Aim** To investigate whether citronellal antagonizes oxidative stress-induced injury in human umbilical vein endothelial cells by enhancing the autophagy-lysosome pathway, promoting the degradation of ring finger protein 4 (RNF4) and thereby stabilizing the protein levels of guanosine triphosphate cyclohydrolase 1 (GTPCH1).

**Methods** Human umbilical vein endothelial cells were treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to establish oxidative damage models, and then treated with 0.48 mmol/L citronellal. Cell viability was determined by MTT assay; the protein expressions of p62, microtubule-associated protein light chain 3B (LC3B), lysosome-associated membrane protein 1 (LAMP1), GTPCH1 and RNF4 were detected by Western blot. The cells were treated with the autophagy inhibitor chloroquine (CQ) and the proteasome inhibitor MG132. Co-immunoprecipitation (CoIP) was used to verify the GTPCH1 SUMOylation and its interaction with RNF4 in response to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Results** Compared with the control group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment significantly decreased endothelial cell viability ( $P < 0.05$ ) and GTPCH1 protein level ( $P < 0.01$ ) and up-regulated RNF4 protein expression ( $P < 0.01$ ). CoIP assay confirmed that H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced GTPCH1 to undergo SUMOylation and bind to RNF4. Com-

[收稿日期] 2025-10-11

[修回日期] 2026-03-09

[基金项目] 河南省自然科学基金杰出青年项目(242300421025)

[作者简介] 李喜悦, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病发病机制及药物干预, E-mail: lxy\_wm217714@163.com。通信作者 王双喜, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管疾病发病机制及药物干预, E-mail: shuangxiwang@sdu.edu.cn。

pared with the  $H_2O_2$  group, citronellal treatment significantly reversed the above changes and improved the autophagic flux; p62 was significantly decreased ( $P < 0.001$ ); the LC3B-II/LC3B-I ratio was restored ( $P < 0.001$ ); and the expression of LAMP1 was up-regulated ( $P < 0.05$ ). Inhibitor experiments showed that MG132 blocked GTPCH1 degradation ( $P < 0.01$ ) and CQ inhibited RNF4 degradation ( $P < 0.05$ ) compared with the  $H_2O_2$  group. **Conclusion**  $H_2O_2$  triggers endothelial cell injury via RNF4-mediated GTPCH1 SUMOylation-ubiquitination degradation; citronellal promotes the degradation of RNF4 by enhancing the function of the autophagy-lysosome pathway, thereby stabilizing GTPCH1 and antagonizing  $H_2O_2$ -induced endothelial cell injury.

[**KEY WORDS**] citronellal; endothelial cell injury; autophagy; lysosome; ring finger protein 4; guanosine triphosphate cyclohydrolase 1; ubiquitination

动脉粥样硬化性心血管疾病是全球范围内的主要致死原因,其发病的始动环节为血管内皮功能障碍<sup>[1-2]</sup>。在各类致病因素中,氧化应激的作用至关重要,它可引发内皮细胞凋亡及功能紊乱<sup>[3-4]</sup>。 $H_2O_2$ 是诱导内皮细胞损伤的经典模型物质<sup>[5-6]</sup>。鸟苷三磷酸环化水解酶 1 (guanosine triphosphate cyclohydrolase 1, GTPCH1)是维持内皮功能的核心蛋白,其稳定性对一氧化氮生成至关重要<sup>[7-9]</sup>。天然单体化合物香茅醛 (citronellal, CT)已被报道具有心血管保护潜力<sup>[10-11]</sup>。既往研究表明,GTPCH1 的稳定性受泛素-蛋白酶体系统调控,香茅醛可通过下调 Smurf2 进而上调 GTPCH1 水平,且两者存在内源性结合<sup>[12]</sup>,但该调控机制在氧化应激条件下的作用尚未明确。蛋白质的稳定性调控往往具有条件特异性和复杂性。在氧化应激这一心血管疾病的病理条件下,是否存在其他 E3 连接酶参与 GTPCH1 的降解,仍需进一步阐明。环指蛋白 4 (ring finger protein 4, RNF4)是一种特殊的 E3 连接酶,能够特异性识别经 SUMO 化修饰的底物蛋白并介导其泛素化降解<sup>[13]</sup>。据此推测,在  $H_2O_2$  应激条件下,RNF4 可能通过识别 SUMO 化的 GTPCH1,以一种不同于 Smurf2 的全新机制介导其降解。自噬-溶酶体途径是细胞内蛋白质降解的另一重要系统<sup>[14-15]</sup>。在心血管系统中,自噬功能的改变与内皮损伤、动脉粥样硬化等病理过程密切相关<sup>[16-18]</sup>。近年来研究表明,自噬-溶酶体通路可通过降解关键调控蛋白参与多种疾病的发生发展,使其成为潜在的干预靶点<sup>[19]</sup>。基于此,本课题组提出科学假说:香茅醛可能通过增强自噬-溶酶体途径,促进 RNF4 降解,进而稳定 GTPCH1 蛋白水平,以拮抗氧化应激所致的内皮细胞损伤。本研究旨在验证这一假说,阐明香茅醛保护内皮细胞的深层机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞和主要试剂

香茅醛(纯度 $\geq 97\%$ )购自北京 Yuke 公司;人脐

静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)购自美国细胞培养库;ECM 购自 Sciencell;胰酶购自 Gibco;3% 双氧水、超敏 ECL 化学发光试剂盒、BCA 蛋白检测试剂盒购自上海碧云天;免疫共沉淀 (co-immunoprecipitation, CoIP) 试剂盒购自上海优维宁;GTPCH1 鼠单克隆抗体购自 Santacruz;RNF4 兔单克隆抗体、兔 IgG、鼠 IgG 购自武汉三鹰;MTT 购自 Sigma;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠抗体购自北京鼎国昌盛;微管相关蛋白轻链 3B (microtubule-associated protein light chain 3B, LC3B) 兔单克隆抗体、p62/SQSTM1 兔单克隆抗体购自上海 abmart;重组溶酶体相关膜蛋白 1 (lysosomal associated membrane protein 1, LAMP1) 兔单克隆抗体购自上海阿拉丁。

### 1.2 细胞培养与处理

在所有实验中,细胞均处于第 3 代至第 8 代之间。将 HUVEC 在 ECM 培养基中培养,置于  $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $5\% \text{CO}_2$  的培养箱中。为了建立血管内皮细胞损伤模型,将 HUVEC 分为 4 组:对照组、 $H_2O_2$  组、香茅醛组及香茅醛+ $H_2O_2$  组。对照组在正常生长条件下培养; $H_2O_2$  组在含  $0.6 \text{ mmol/L}$   $H_2O_2$  的培养基中培养 24 h;香茅醛组先经  $0.48 \text{ mmol/L}$  香茅醛预处理 24 h,再置于含  $0.6 \text{ mmol/L}$   $H_2O_2$  的培养基中培养 24 h。

### 1.3 MTT 测定细胞活力

使用 ECM 培养液,以  $9 \times 10^3$  个细胞/孔的密度、 $100 \mu\text{L}$ /孔的体积将细胞接种于 96 孔板;培养 24 h 后,用浓度范围为  $0 \sim 2.4 \text{ mmol/L}$  的  $H_2O_2$  处理细胞,置于  $37\text{ }^\circ\text{C}$  培养箱中孵育 24 h;随后每孔加入  $10 \mu\text{L}$  MTT 溶液(最终剂量为  $0.5 \text{ g/L}$ ),继续在  $37\text{ }^\circ\text{C}$  条件下孵育 4 h,小心弃去上清液;接着每孔加入  $100 \mu\text{L}$  二甲基亚砜以溶解细胞内形成的深紫色甲臞结晶,充分混匀 10 min;最后使用酶标仪在  $570 \text{ nm}$  波长处测定吸光度。以未处理细胞的吸光度作为细胞存活率 100% 的参照,计算细胞活力。

### 1.4 Western blot

收集各组细胞,使用 RIPA 蛋白提取试剂裂解

细胞以提取总蛋白质;随后通过 BCA 法测定蛋白浓度,依次进行电泳、转膜与封闭操作。将处理后的样本加入 p62、LC3-B、LAMP1、GTPCH1、RNF4 一抗,于 4 °C 条件下孵育过夜;孵育结束后,加入稀释后的二抗共同孵育,滴加 ECL 化学发光剂,通过成像分析系统完成显影与拍照,并采用图像分析系统进行结果分析。以  $\beta$ -actin 作为内参。

### 1.5 CoIP

收集细胞并提取蛋白后,取等量蛋白与抗 GTPCH1 抗体或正常 IgG 于 4 °C 孵育过夜。加入 Protein A/G 珠孵育 4 h 后,用洗涤缓冲液洗涤珠子,最后以 1×SDS 上样缓冲液煮沸洗脱。洗脱液经 SDS-PAGE 分离后,通过 Western blot 技术使用抗 RNF4 或抗 SUMO2/3 抗体进行检测。

### 1.6 统计学分析

使用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计分析,数据以  $\bar{x}\pm s$  表示。单因素方差分析后采用 Tukey 事

后检验,以  $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 $H_2O_2$ 诱导的内皮细胞损伤模型的建立及香茅醛对细胞活力的影响

首先通过浓度梯度筛选建立稳定的细胞氧化应激损伤模型。MTT 检测结果显示,采用 0.6 mmol/L  $H_2O_2$  处理 HUVEC 24 h 后,细胞活力降至对照组的 55.6% ( $P<0.05$ ),该处理条件被确定为后续氧化应激损伤模型的构建条件。在此损伤模型基础上,进一步探究不同浓度香茅醛的干预效应,结果表明 0.48 mmol/L 香茅醛的保护效果最为显著:经该浓度药物预处理后,细胞活力较  $H_2O_2$  组升高 59.2% ( $P<0.001$ ),可有效逆转  $H_2O_2$  诱导的细胞毒性,显著恢复内皮细胞活力,提示该浓度香茅醛对氧化应激损伤的 HUVEC 具有明确的保护作用(图 1)。

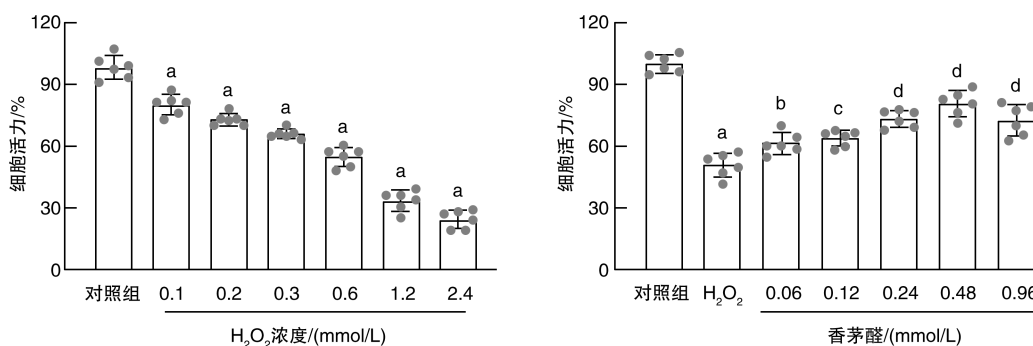


图 1.  $H_2O_2$  诱导的内皮细胞损伤模型的建立及香茅醛对细胞活力的影响 ( $n=6$ )

a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,c 为  $P<0.01$ ,d 为  $P<0.001$ ,与  $H_2O_2$  组比较。

Figure 1. Establishment of an endothelial cell injury model induced by  $H_2O_2$  and the effect of citronellal on cell viability ( $n=6$ )

### 2.2 香茅醛拮抗 $H_2O_2$ 诱导的 GTPCH1 降解及 RNF4 上调

在证实香茅醛具有细胞保护作用的基础上,本研究进一步从分子水平探究其作用机制。Western blot 分析结果显示,与对照组相比,经  $H_2O_2$  处理后,内皮功能关键蛋白 GTPCH1 的表达降低,E3 连接酶 RNF4 的表达升高(均  $P<0.01$ )。与  $H_2O_2$  组相比,香茅醛+ $H_2O_2$  组 GTPCH1 的表达回升,RNF4 的表达降低(均  $P<0.05$ )。以上结果提示,香茅醛的保护作用表现为拮抗  $H_2O_2$  诱导的 GTPCH1 蛋白降解及 RNF4 蛋白上调,其作用机制可能与调控 RNF4 介导的蛋白稳定性密切相关(图 2)。

### 2.3 香茅醛增强自噬-溶酶体通路功能

为进一步探究香茅醛对自噬的影响,检测了自噬标志蛋白。Western blot 结果显示,与对照组相比, $H_2O_2$  组自噬流功能显著受损:自噬底物 p62 的表达升高 ( $P<0.001$ ),LC3B-II/LC3B-I 比值升高 ( $P<0.01$ ),溶酶体标志蛋白 LAMP1 的表达下调 ( $P<0.001$ )。香茅醛干预可显著改善上述自噬流障碍:与  $H_2O_2$  组相比,香茅醛+ $H_2O_2$  组 p62 的表达降低 ( $P<0.001$ ),LC3B-II/LC3B-I 比值降低 ( $P<0.001$ ),LAMP1 的表达升高 ( $P<0.05$ )。上述结果表明,香茅醛可有效增强自噬-溶酶体通路功能(图 3)。

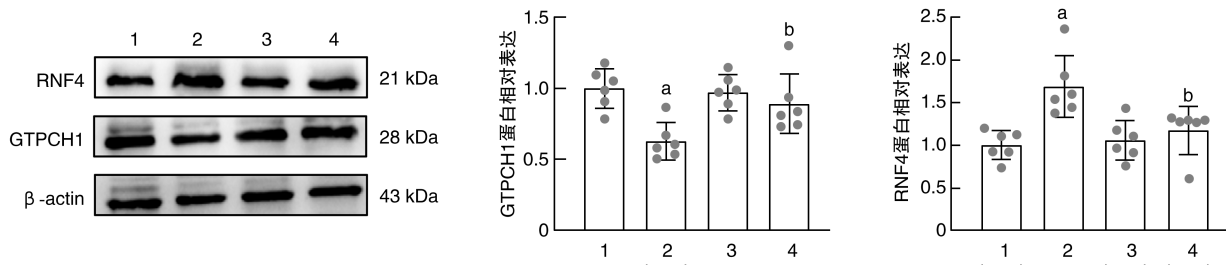


图 2. 香茅醛拮抗 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 GTPCH1 降解及 RNF4 上调 (n=6)

1 为对照组,2 为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组,3 为香茅醛组,4 为香茅醛+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组。a 为 P<0.01,与对照组比较;b 为 P<0.05,与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较。

Figure 2. Citronellal antagonistically inhibits H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced GTPCH1 degradation and RNF4 upregulation (n=6)

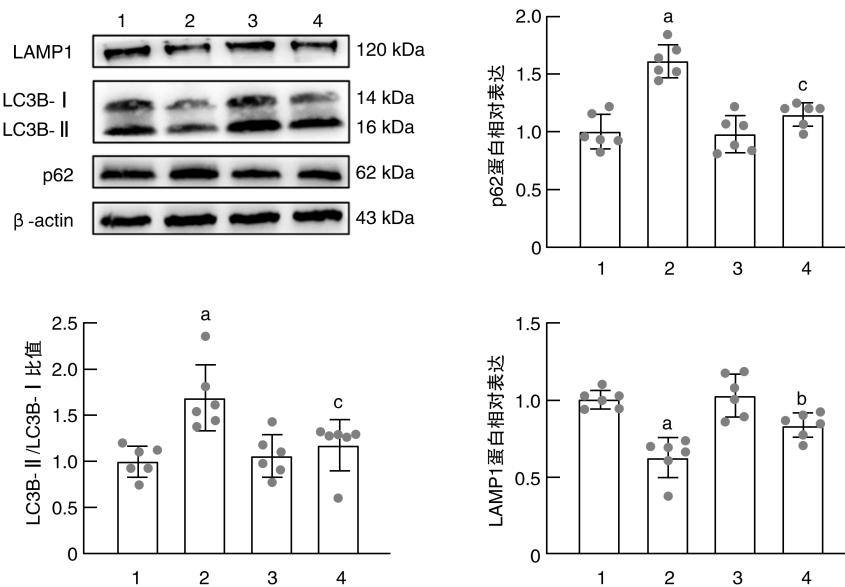


图 3. 香茅醛增加自噬-溶酶体功能 (n=6)

1 为对照组,2 为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组,3 为香茅醛组,4 为香茅醛+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组。a 为 P<0.001,与对照组比较;b 为 P<0.05,c 为 P<0.001,与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较。

Figure 3. Citronellal enhances autophagy-lysosomal function (n=6)

#### 2.4 GTPCH1 与 RNF4 经由蛋白酶体和溶酶体两条不同途径降解

为明确 GTPCH1 与 RNF4 的降解机制,本研究进一步采用蛋白酶体抑制剂 MG132 与溶酶体抑制剂 CQ 开展干预实验。Western blot 检测结果显示,与对照组相比,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理可显著下调 GTPCH1 的表达 (P<0.001);MG132 处理能显著阻断这一降解过程,使 GTPCH1 的表达升高 (P<0.01),而 CQ 处理对 GTPCH1 的表达无明显影响,与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组相比差异不显著 (P>0.05)。与之相反,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理可显著上调 RNF4 的表达 (P<0.05);与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组相比,CQ 处理能显著促进 RNF4 的表达 (P<0.05),而 MG132 预处理对 RNF4 的表达无显著影响 (P>0.05)。上述结果从正反两方面证实,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 GTPCH1 降解主要由泛素-蛋白酶体途径介导,而 RNF4 的降解

则依赖于自噬-溶酶体途径 (图 4)。

#### 2.5 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 应激下 GTPCH1 发生了 SUMO 化修饰并与 RNF4 结合

为探究 GTPCH1 降解的上游机制,本研究通过 CoIP 技术分析其翻译后修饰及蛋白互作情况。在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组中,使用 GTPCH1 抗体进行免疫沉淀后,利用 SUMO2/3 抗体开展 Western blot 检测,结果表明 GTPCH1 发生了 SUMO 化修饰。同样在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组中,对 GTPCH1 抗体免疫沉淀产物进行 RNF4 抗体检测,证实内源性 GTPCH1 与 RNF4 存在特异性结合,而同型 IgG 对照组未检测到该信号。上述结果提示,在氧化应激条件下,GTPCH1 的 SUMO 化修饰可招募 E3 连接酶 RNF4,进而可能启动其泛素化降解过程 (图 5)。

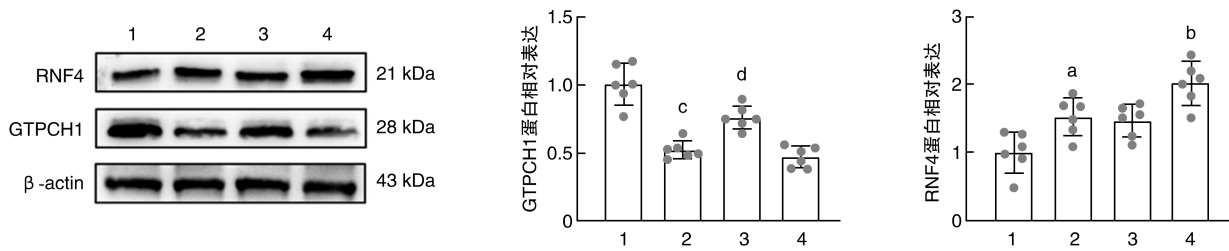


图 4. GTPCH1 与 RNF4 经由蛋白酶体与溶酶体两条不同途径降解 ( $n=6$ )

1 为对照组,2 为  $H_2O_2$  组,3 为  $H_2O_2+MG132$  组,4 为  $H_2O_2+CQ$  组。

a 为  $P<0.05$ ,c 为  $P<0.001$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,d 为  $P<0.01$ ,与  $H_2O_2$  组比较。

Figure 4. GTPCH1 and RNF4 are degraded through distinct proteasomal and lysosomal pathways ( $n=6$ )

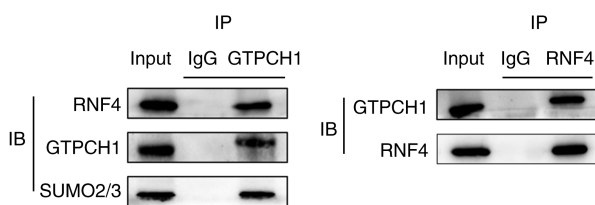


图 5.  $H_2O_2$  应激下 GTPCH1 发生了 SUMO 化修饰并与 RNF4 结合 ( $n=3$ )

Figure 5. GTPCH1 undergoes sumoylation interacts with RNF4 under  $H_2O_2$  stress ( $n=3$ )

### 3 讨论

本研究深入探讨了香茅醛在  $H_2O_2$  诱导的内皮细胞损伤中的保护作用及其分子机制。核心发现如下:在氧化应激条件下,E3 连接酶 RNF4 的表达水平上调,它通过识别经 SUMO 化修饰的 GTPCH1,介导其泛素化-蛋白酶体降解过程,最终导致内皮细胞损伤;而香茅醛能够增强自噬-溶酶体通路的功能,进而促进 RNF4 降解,解除其对 GTPCH1 的抑制作用,从而发挥内皮细胞保护效应。这一机制揭示了 RNF4 在氧化应激诱导内皮细胞损伤中的关键作用,同时证实香茅醛可通过激活自噬-溶酶体通路促进 RNF4 降解以发挥保护作用,为内皮细胞功能障碍的治疗提供了以 RNF4 为核心的新分子靶点。

内皮细胞损伤是动脉粥样硬化、糖尿病血管病变等多种心血管疾病的共同病理起点。完整的血管内膜对于维持血管张力、发挥抗炎与抗凝功能至关重要。 $H_2O_2$  作为诱导剂,是一种性质稳定的活性氧,也是体内氧化应激状态的核心介质。它能直接攻击细胞膜、蛋白质与 DNA,触发炎症反应及细胞死亡程序,因此是模拟体内血管内皮细胞损伤的理想工具<sup>[20]</sup>。本研究选用  $H_2O_2$  诱导的 HUVEC 损伤模型,旨在探究香茅醛上调 GTPCH1 的潜在机制。

结果表明, $H_2O_2$  处理会导致内皮细胞活力显著下降;而经 0.48 mmol/L 香茅醛预处理后,内皮细胞活力得到明显提升,这一结果证实香茅醛对  $H_2O_2$  诱导的 HUVEC 氧化损伤具有保护作用。

泛素化是指泛素分子在 E1 激活酶、E2 结合酶和 E3 连接酶等一系列酶的催化下,特异性共价结合到底物蛋白上的过程。被多聚泛素链标记的底物蛋白会被 26S 蛋白酶体识别并降解,这是细胞内最重要的选择性蛋白降解途径之一。本研究通过蛋白酶体抑制剂 MG132 处理,观察到 GTPCH1 蛋白表达升高,为 GTPCH1 通过泛素化-蛋白酶体途径降解提供了最直接的证据。RNF4 作为一种应激响应蛋白,其独特之处在于通过 SIM 结构域特异性识别 SUMO 化修饰的底物,进而启动泛素化过程<sup>[21-22]</sup>。RNF4 参与蛋白质降解、DNA 损伤修复及肿瘤进展,研究表明其在多种人类肿瘤类型中表达上调,是抗癌治疗的潜在靶点,尤其在表达 c-myc 的肿瘤中<sup>[23]</sup>;同时,RNF4 还与心脏病的发生相关,因为它已被证实可通过调控 PML/p53 轴调节缺血后心肌细胞凋亡<sup>[24]</sup>。然而,RNF4 在血管内皮中的作用尚未得到研究。CoIP 实验证实, $H_2O_2$  应激条件下,GTPCH1 发生 SUMO 化修饰并与 RNF4 结合。这揭示了一个全新机制: $H_2O_2$  可能通过诱导 GTPCH1 的 SUMO 化修饰,招募 RNF4 启动其泛素化降解程序,从而导致血管内皮细胞损伤。

自噬是与凋亡不同的另一种细胞程序,指细胞形成具有双层膜结构的自噬体,包裹胞内受损的细胞器或蛋白质,并将其运送到溶酶体中进行降解与回收的过程,堪称细胞内的“清道夫系统”。自噬流的顺利完成,依赖于自噬体与溶酶体的有效融合,以及溶酶体内部的酸性水解环境。本研究证实,香茅醛可有效激活自噬,具体表现为 LC3B-II/LC3B-I 比值降低,同时伴随 p62 蛋白表达下调与 LAMP1 蛋白表达上调。这些结果共同表明,香茅醛未阻断自

噬过程,而是增强了高效且完整的自噬流。结合 p62 的清除与溶酶体的活化,本课题组的数据证实香茅醛能有效激活自噬-溶酶体通路。更重要的是,溶酶体抑制剂 CQ 处理完全阻断了香茅醛对 RNF4 的降解,这强有力地证明 RNF4 通过自噬-溶酶体途径被降解。这与 GTPCH1 的蛋白酶体降解途径形成鲜明对比,揭示了细胞内不同降解系统的分工。

既往关于香茅醛的研究多集中于其抗氧化活性<sup>[25]</sup>,而本研究将其功能拓展至蛋白质稳定性调控领域。综上所述,本研究揭示了氧化应激条件下 RNF4 通过 SUMO 化依赖途径降解 GTPCH1 的新机制,同时发现香茅醛可通过增强自噬-溶酶体途径功能促进 RNF4 降解,进而稳定 GTPCH1 并发挥内皮细胞保护作用。

#### [参考文献]

- [1] 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.
- [2] 何欣,顾宁. 免疫细胞与动脉粥样硬化斑块研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(7): 629-634.  
HE X, GU N. The research progress between immune cells and atherosclerotic plaques[J]. Chin J Arterioscler, 2021, 29(7): 629-634.
- [3] WANG Q, DENG W, YANG J, et al. Association of dietary flavonoids intake with all-cause and cardiovascular disease mortality in diabetic kidney disease: a cohort study from the NHANES database [J]. J Diabetes Res, 2024, 2024(1): 8359294.
- [4] 郝阳,郭晓辰,张军平. 氧化应激和自噬在动脉粥样硬化中的作用研究新进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(4): 404-410.  
HAO Y, GUO X C, ZHANG J P. The new progress of the role of oxidative stress and autophagy in atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2017, 25(4): 404-410.
- [5] 黄紫霞,吴明月,许峰,等. 柴胡皂苷 A 通过抑制氧化应激和铁死亡减轻过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞损伤[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(1): 43-48.  
HUANG Z X, WU M Y, XU F, et al. Saikosaponin A inhibits oxidative stress and ferroptosis and reduces the injury of human umbilical vein endothelial cells induced by hydrogen peroxide[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(1): 43-48.
- [6] 吴清权,张勇,钟书辉,等. miR-152-3p 调控硫氧还蛋白结合蛋白表达对过氧化氢诱导的内皮祖细胞凋亡的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(12): 1033-1039.  
WU Q Q, ZHANG Y, ZHONG S H, et al. Effect of miR-152-3p regulating thioredoxin-interacting protein expression on the apoptosis of endothelial progenitor cells induced by hydrogen peroxide[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(12): 1033-1039.
- [7] LI J, LIU S, CAO G, et al. Nicotine induces endothelial dysfunction and promotes atherosclerosis via GTPCH1 [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(11): 5406-5417.
- [8] OU H C, LEE W J, LEE S D, et al. Ellagic acid protects endothelial cells from oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis by modulating the PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2010, 248(2): 134-143.
- [9] XUE B, WANG Y. Naringenin upregulates GTPCH1/eNOS to ameliorate high glucose-induced retinal endothelial cell injury [J]. Exp Ther Med, 2022, 23(6): 428.
- [10] VENANCIO A N, SILVA M J, PARREIRA L A, et al. Citronellal: a natural aldehyde with important properties [J]. Nat Prod Res, 2025, 39(5): 1199-1212.
- [11] QIU Y, ZHANG X, LI S S, et al. Citronellal can alleviate vascular endothelial dysfunction by reducing ectopic miR-133a expression [J]. Life Sci, 2024, 339: 122382.
- [12] GUO Y, QUE H, CHEN B, et al. Citronellal improves endothelial dysfunction by affecting the stability of the GCH1 protein [J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2024, 56(7): 963-972.
- [13] AGUILAR-MARTINEZ E, GUO B, SHARROCKS A D. RNF4 interacts with multiSUMOylated ETV4 [J]. Wellcome Open Res, 2017, 1: 3.
- [14] CHENG X T, XIE Y X, ZHOU B, et al. Revisiting LAMP1 as a marker for degradative autophagy-lysosomal organelles in the nervous system [J]. Autophagy, 2018, 14(8): 1472-1474.
- [15] NIXON R A. Autophagy-lysosomal-associated neuronal death in neurodegenerative disease [J]. Acta Neuropathol, 2024, 148(1): 42.
- [16] HU C, GAO S, LI X, et al. Crosstalk of autophagy and ferroptosis in cardiovascular diseases: from pathophysiology to novel therapy [J]. Redox Biol, 2025, 84: 103705.
- [17] FENG J, CHEN R, CHEN Y, et al. Defective autophagy in vascular smooth muscle cells promote uremic accelerated atherosclerosis [J]. Ren Fail, 2025, 47(1): 2538268.
- [18] ZHANG P, JIN M, ZHANG L, et al. Berberine alleviates atherosclerosis by modulating autophagy and inflammation through the RAGE-NF- $\kappa$ B pathway [J]. Front Pharmacol, 2025, 16: 1540835.
- [19] TANG C T, YANG J, LIU Z D, et al. Taraxasterol acetate targets RNF31 to inhibit RNF31/p53 axis-driven cell proliferation in colorectal cancer [J]. Cell Death Discov, 2021, 7(1): 66.
- [20] 王均鹏,孟丽霞,潘黎明,等. 抗衰老 Klotho 蛋白对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞氧化损伤的保护作用及其机制 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(4): 347-354.  
WANG J P, MENG L X, PAN L M, et al. Protective effect of anti-aging Klotho protein on hydrogen peroxide induced oxidative damage in human umbilical vein endothelial cells and its mechanism [J]. Chin J Arterioscler, 2017, 25(4): 347-354.
- [21] KUMAR R, SABAPATHY K. RNF4-A paradigm for SUMOylation-mediated ubiquitination [J]. Proteomics, 2019, 19(21/22): e1900185.
- [22] NISHIDA T, YAMADA Y. RNF4-mediated SUMO-targeted ubiquitination relieves Paris/ZNF746-mediated transcriptional repression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 526(1): 110-116.
- [23] HER J, ZHENG H, BUNTING S F. RNF4 sustains Myc-driven tumorigenesis by facilitating DNA replication [J]. J Clin Invest, 2024, 134(10): e167419.
- [24] QIU F, HAN Y, SHAO X, et al. Knockdown of endogenous RNF4 exacerbates ischemia-induced cardiomyocyte apoptosis in mice [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(17): 9545-9559.
- [25] YIN Y L, WANG H H, GUI Z C, et al. Citronellal attenuates oxidative stress-induced mitochondrial damage through TRPM2/NHE1 pathway and effectively inhibits endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus [J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(11): 2241.

(此文编辑 文玉珊)