

肉毒碱棕榈酰转移酶1A对牙龈卟啉单胞菌脂多糖刺激的泡沫细胞增殖和凋亡的影响

高莹¹ 周芷晴² 张伯阳³ 齐诗妤² 耿涛⁴ 王慧² 彭诚¹ 梁雪²

¹天津医科大学第二医院口腔科,天津 300211; ²天津市心血管病离子与分子机能重点实验室,天津医科大学第二医院心脏科,天津心脏病学研究所,天津 300211; ³天津医科大学第二医院急诊医学科,天津 300211; ⁴沧州市中心医院心内科,沧州 061000

通信作者:梁雪,Email:liangxue19841219@tmu.edu.cn

【摘要】 目的 探讨牙龈卟啉单胞菌脂多糖(*P. gingivalis*-LPS)如何通过调控肉毒碱棕榈酰转移酶1A(*CPT1A*)影响泡沫细胞代谢重编程与凋亡的分子机制,研究牙周病原体感染与动脉粥样硬化进展的潜在关联。**方法** 通过转录组测序技术分析*P. gingivalis*-LPS刺激泡沫细胞后的全基因组表达谱,筛选差异表达基因(DEG),并利用生物信息学方法进行功能富集分析;进一步通过基因过表达和凋亡实验验证*CPT1A*在脂质代谢与细胞凋亡中的核心调控作用。**结果** 转录组分析在 $|\log_2FC|>1$ 且 $FDR<0.05$ 的阈值下共鉴定427个DEG(上调318个、下调109个),基于该DEG集的基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析显示,这些基因主要富集于脂质及固醇代谢相关生物学过程,以及PPAR信号通路、脂肪酸代谢和类固醇生物合成等通路。基因集富集分析(GSEA)结果显示,胆固醇/固醇生物合成相关通路负向富集,脂肪酸转运及适应性脂质代谢相关过程正向富集,p53信号通路等凋亡相关通路正向富集。其中,*CPT1A*表达显著升高并被确认为关键调控因子,功能研究表明*CPT1A*过表达增强细胞活力并抑制凋亡($P<0.05$)。**结论** *CPT1A*可能通过协调脂质代谢重编程与凋亡抵抗机制,介导牙周病原体感染对动脉粥样硬化泡沫细胞病理进程的促进作用。

【关键词】 肉毒碱棕榈酰转移酶1A; 牙龈卟啉单胞菌; 泡沫细胞; 细胞凋亡; 细胞增殖; 动脉粥样硬化

基金项目:天津市教委科研计划重点项目(2025ZD029);天津市卫生健康科技项目(TJWJ2023MS007);天津市自然科学基金(24JCQNJC01240);天津市医学重点学科建设项目(TJYXZDXK-006B);河北省自然科学基金(H2025110034)

引用著录格式:高莹,周芷晴,张伯阳,等.肉毒碱棕榈酰转移酶1A对牙龈卟啉单胞菌脂多糖刺激的泡沫细胞增殖和凋亡的影响[J/OL].中华口腔医学研究杂志(电子版),2026,20(4):327-336.

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2026.04.010

The impact of *CPT1A* on proliferation and apoptosis of foam cells stimulated by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide

Gao Ying¹, Zhou Zhiqing², Zhang Boyang³, Qi Shiyu², Geng Tao⁴, Wang Hui², Peng Cheng¹, Liang Xue²

¹Department of Stomatology, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China;

²Tianjin Key Laboratory of Ionic-Molecular Function of Cardiovascular Disease, Department of Cardiology, Tianjin Institute of Cardiology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China;

³Department of Emergency Medicine, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; ⁴Department of Cardiology, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061000, China

Corresponding author: Liang Xue, Email: liangxue19841219@tmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To systematically elucidate the molecular mechanism by which *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide (*P. gingivalis*-LPS) modulates carnitine palmitoyltransferase 1A (*CPT1A*) to influence metabolic reprogramming and apoptosis in foam cells, and to explore the potential link between periodontal pathogen infection and the progression of atherosclerosis. **Methods** Transcriptome sequencing was employed to analyze the whole-genome expression profiles of foam cells

stimulated by *P. gingivalis*-LPS. Differentially expressed genes (DEGs) were screened, and functional enrichment analysis was conducted using bioinformatics methods. Further validation of the core regulatory role of *CPT1A* in lipid metabolism and apoptosis was performed through gene overexpression and apoptosis assays. **Results** Transcriptomic analysis identified 427 DEGs (318 upregulated and 109 downregulated) under the thresholds of $|\log_2FC| > 1$ and $FDR < 0.05$. GO and KEGG enrichment analyses based on these DEGs indicated significant enrichment in lipid- and sterol-related biological processes, as well as the PPAR signaling pathway, fatty acid metabolism, and steroid biosynthesis. GSEA results showed that cholesterol/sterol biosynthesis-related pathways were negatively enriched, whereas fatty acid transport and adaptive lipid metabolic processes were positively enriched. In addition, apoptosis-related pathways, including the p53 pathway, were also positively enriched. Among these, *CPT1A* expression was markedly elevated and confirmed as a key regulator. Functional studies demonstrated that *CPT1A* overexpression enhanced cell viability and suppressed apoptosis ($P < 0.05$). **Conclusions** *CPT1A* may mediate the promotion of atherosclerotic foam cell pathogenesis by periodontal pathogen infection via coordinating lipid metabolic reprogramming and apoptosis resistance.

【Key words】 Carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A); *Porphyromonas gingivalis*; Foam cells; Apoptosis; Cell proliferation; Atherosclerosis

Fund programs: Research Foundation of Tianjin Municipal Education Commission Grants (2025ZD029); Health Research Project of Tianjin (TJWJ2023MS007); Tianjin Natural Science Foundation (24JCQNJC01240); Key Medical Discipline Construction Project of Tianjin (TJYXZDXK-3-006B); Natural Science Foundation of Hebei (H2025110034)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2026.04.010

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)作为一种慢性炎症性血管病变,是全球心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)发病与死亡的首要病理基础^[1]。该疾病以动脉壁内脂质异常沉积、内皮功能障碍及进行性斑块形成为核心特征,其病理进程始于低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)在内膜下的滞留与修饰^[2-5];在致动脉粥样硬化微环境下,LDL经氧化等修饰形成弱氧化修饰低密度脂蛋白(minimally modified low-density lipoprotein, mm-LDL),通过诱导内皮细胞损伤、促进凋亡及募集循环白细胞,进而驱动早期病变发展^[6-8]。持续的炎症反应贯穿疾病全程,表现为血管平滑肌细胞表型调节异常及免疫细胞在动脉壁的浸润,最终导致管腔狭窄、斑块失稳或破裂,引发血栓性事件及终末器官缺血^[9-10]。此外,巨噬细胞作为病变区核心免疫效应细胞,通过吞噬氧化低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)转化为脂质富集的泡沫细胞,构成动脉粥样硬化标志性病理改变,并协同促进炎症级联反应与斑块进展^[11-12]。

牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, *P. gingivalis*)作为牙周病的关键病原体,已被证实通过多重机制参与动脉粥样硬化的病理进程,其核心作用集中于促进巨噬细胞向泡沫细胞转化及加剧

血管炎症反应^[13-14]。该细菌通过其毒力因子激活巨噬细胞表面模式识别受体,进而触发核转录因子 κ B(nuclear transcription factor-kappa B, NF- κ B)信号通路的活化,导致促炎因子表达上调及单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)分泌增加,由此加速单核细胞募集并推动脂质代谢失衡^[15]。在低密度脂蛋白氧化修饰的微环境中,牙龈卟啉单胞菌脂多糖(*Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide, *P. gingivalis*-LPS)可协同增强巨噬细胞对ox-LDL的内吞作用,其机制涉及关键膜受体的调控:一方面通过上调清道夫受体CD36表达以促进脂质摄取,另一方面则借助溶酶体整合膜蛋白2的过表达破坏胆固醇转运稳态,抑制胆固醇外排^[13,16];同时,机械敏感离子通道TRPV4在*P. gingivalis*-LPS刺激下介导钙离子内流,通过增强巨噬细胞对ox-LDL的摄取效率,进一步推动脂滴积累与泡沫细胞形成^[17]。

肉毒碱棕榈酰转移酶1A(carnitine palmitoyltransferase 1A, CPT1A)作为线粒体脂肪酸 β -氧化(mitochondrial fatty acid β -oxidation, FAO)途径的限速酶,通过介导长链脂肪酸进入线粒体参与能量代谢调控,其功能异常与多种代谢性疾病密切相关。在心血管领域,研究发现巨噬细胞特异性CPT1A缺失会损害FAO能力,导致清道夫受体

CD36表达上调,加速氧化低密度脂蛋白摄取并促进泡沫细胞形成,表明巨噬细胞中CPT1A介导的FAO具有显著的抗动脉粥样硬化保护作用^[18]。另外,microRNA-26通过靶向抑制CPT1A表达延缓动脉粥样硬化进展,又凸显出CPT1A作为治疗靶点的重要性^[19]。在口腔疾病中,牙周炎患者牙龈组织尤其内皮细胞中CPT1A表达显著上调,且其水平与探诊深度、临床附着丧失等严重程度指标正相关^[20]。这一现象提示,在慢性炎症微环境下,CPT1A的表达模式可能发生适应性改变。

鉴于牙周炎与AS的密切关联,核心牙周病原体*P. gingivalis*在驱动AS中的作用尤为关键。*P. gingivalis*-LPS通过多维度机制显著促进AS进展。一方面,其可逃逸宿主免疫清除,经循环系统入侵动脉壁定植,直接诱导血管内皮局部炎症反应并激活固有免疫通路^[21-22];另一方面,其通过降低血清HDL水平、抑制肝脏脂质转运蛋白表达加剧全身性脂质代谢紊乱,并改变肠道菌群组成诱导代谢失调,共同加速动脉粥样斑块的形成与发展^[23]。因此,本研究聚焦于在*P. gingivalis*-LPS刺激的微环境下,CPT1A对泡沫细胞增殖与凋亡的动态影响,旨在揭示代谢-免疫交叉对话在牙周病相关动脉粥样硬化中的新机制,为理解AS的病理基础提供新视角。

材料与方法

一、细胞的培养与构建

小鼠巨噬细胞系RAW264.7购自武汉普诺赛生命科技有限公司(货号:M3-0101;批号:220526A51)。RAW264.7细胞于37℃恒温培养箱中,在含10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)的1640培养基及5% CO₂环境下进行常规培养。随后,建立巨噬细胞源性泡沫细胞模型,采用50 μg/mL浓度的ox-LDL对RAW264.7细胞进行定向诱导。在后续病原体刺激实验中,*P. gingivalis*-LPS以10 μg/mL^[17]的浓度作用于上述泡沫细胞模型,持续24 h以模拟牙周炎病原体微环境。

二、RNA提取与高通量测序

本研究对正常对照组(Con组)及经*P. gingivalis*-LPS刺激的泡沫细胞组(Tre组)进行TRIzol法总RNA提取。随后利用Nanodrop测定RNA浓度并通过吸光度(A)值比值(A_{260}/A_{280})评估其纯度。经严格质量验证后,取符合标准的总RNA构建cDNA文库。最终通过Illumina NovaSeq 6000测序平台进行双端

150 000测序,共纳入6个样本进行分析,其中对照组3个生物学重复,处理组3个生物学重复,以此获取高质量转录组数据。

三、差异性表达基因的识别与功能富集分析

在RNA测序数据分析中,为探究2个数据集中的基因表达差异,本文采用系统性的计算流程进行优化:首先,运用FASTX-Toolkit移除低质量读数,以提升后续处理质量;接着对转录组数据进行差异表达分析,并设定 $|\log_2FC| > 1$ 且FDR < 0.05为差异表达基因(differentially expressed genes, DEG)筛选的标准。后续为深入解析DEG的生物学功能,基于基因本体(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库对筛选得到的DEG集进行功能富集分析,其中富集显著性采用多重校正后的P值(adjusted P-value, adj. P)进行评估。

四、基因集富集分析

采用GSEA 4.3.2软件对转录组测序数据进行基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)。依据Con组与Tre组基因表达变化趋势对全部基因进行排序,基于预定义基因集计算富集得分(enrichment score, ES)及标准化富集得分(normalized enrichment score, NES),并结合原始P值(nominal P-value)及假发现率(false discovery rate, FDR)对富集结果进行统计学判定,重点分析脂质代谢及细胞凋亡相关通路的整体富集变化。

五、肉毒碱棕榈酰转移酶1A敲低及过表达模型的构建

为实现在泡沫细胞中的基因沉默效应,本研究采用Lipofectamine 3000转染试剂介导siRNA及质粒的转染。将 1×10^6 个RAW264.7细胞接种于培养板中,经ox-LDL处理成泡沫细胞后,分别转染小干扰RNA及过表达质粒,转染作用时长达48 h,完成转染操作后收集细胞样本,用于后续实验分析。CPT1A的siRNA(si-CPT1A)和非靶向对照siRNA(si-NC)购自苏州吉玛基因股份有限公司。si-NC和si-CPT1A的序列见表1。

表1 肉毒碱棕榈酰转移酶1A(CPT1A)的siRNA及对照序列

siRNA	引物序列
si-NC	正向:UUCUCCGACGUGUCACGUTT
	反向:ACGUGACACGUUCGGAGAATT
si-CPT1A	正向:CAUGGUAGAUGUUUCGACATT
	反向:UGUCGAAACAUCUACCAUGTT

六、实时荧光定量反转录聚合酶链反应与蛋白免疫印迹实验

采用实时荧光定量反转录聚合酶链反应(reverse transcription quantitative real-time polymerase chain reaction, RT-qPCR)技术检测 *CPT1A* mRNA 的表达水平。总 RNA 经提取后,使用 qPCR SYBR Green Master Mix 在 Bio-Rad S1000 上,严格遵循标准操作流程进行逆转录合成 cDNA 及后续的 qPCR 扩增反应。目标基因的 mRNA 相对表达量通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法进行计算,并以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, *GAPDH*)作为内参进行标准化。引物序列详见表 2。

表 2 实时荧光定量反转录聚合酶链反应的引物序列

基因	引物序列
<i>GAPDH</i>	正向:TGTGTCCGTCGTGGATCTGA
	反向:TTGCTGTTGAAGTCGCA-GGAG
<i>CPT1A</i>	正向:GTAAAGGAGACAAGAAGCC-CAAC
	反向:TGCTTAGGGATGCTCTATGACC

采用蛋白免疫印迹(Western blot)检测 *CPT1A* 及凋亡相关蛋白 *Bax*、*Caspase3*、*Bcl-2* 的表达。简言之,细胞裂解物经 SDS-PAGE 电泳分离后,转移至 PVDF 膜上。随后,加入相应一抗(表 3),于 4℃ 条件下孵育过夜。过夜后,室温下与相应的辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记二抗孵育,包括 HRP 标记山羊抗兔 IgG(1:5 000)或 HRP 标记山羊抗小鼠 IgG(1:5 000)。目标蛋白信号最终采用增强化学发光试剂进行显影检测。

表 3 蛋白免疫印迹实验的一抗和二抗

抗体名称	稀释比例	稀释液
一抗		
Rabbit anti-CPT1A(ab128568)	1:1 000	TBST
Rabbit anti-Bax(ab32503)	1:1 000	TBST
Rabbit anti-Caspase 3(9662S)	1:1 000	TBST
Rabbit anti-Bcl-2(15071S)	1:1 000	TBST
Mouse anti-β-actin(ab8226)	1:5 000	TBST
二抗		
Goat anti-rabbit IgG-HRP(ab7090)	1:5 000	TBST
Goat anti-mouse IgG-HRP(ab97040)	1:5 000	TBST

七、细胞计数法实验评估细胞增殖活性

采用细胞计数法(cell counting Kit-8, CCK-8)检测体系。具体操作流程为将细胞以每孔 10^4 个的密度接种于 96 孔板(每组设 6 个复孔),于 37℃ 培养箱中培

养 24 h 后,每孔精密加入 10 μL CCK-8 溶液,继续避光孵育 3 h;采用酶标仪于 450 nm 波长处测定各孔,最终以 A_{450} 值作为细胞增殖能力的量化评价指标。

八、流式细胞术检测泡沫细胞凋亡

采用 Annexin V-PI 双染色法,通过流式细胞术定量评估泡沫细胞凋亡率。检测前对细胞进行适当处理,将细胞样本与 5 μL Annexin V-PI 染色液于室温避光孵育 5 min,继以染色液二次孵育 5 min;最终应用流式细胞仪进行双通道荧光信号采集,使用 FlowJo 软件进行定量分析。

九、统计学处理方法

本研究定量数据均经 Shapiro-Wilk 检验符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较使用 Student's *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。高通量测序数据通过 R 语言(v4.3.0)进行生物信息学分析,统计图表使用 GraphPad Prism 软件(v9.5.0)生成。

结 果

一、牙龈卟啉单胞菌脂多糖刺激泡沫细胞的转录组测序分析

本研究通过 RNA 测序与生物信息学分析鉴定出正常对照(Con 组)与经 *P. gingivalis*-LPS 刺激的泡沫细胞(Tre 组)之间的差异表达情况,实验结果显示了两组之间的热图和火山图(图 1A~1B),DEG 筛选结果显示,在设定 $|\log_2FC| > 1$ 及 $FDR < 0.05$ 的严格条件下,最终鉴定出 427 个显著 DEG,其中 318 个基因呈现上调表达特征,109 个基因则表现下调趋势(图 1C~1E)。

二、差异表达基因的基因本体和京都基因与基因组百科全书富集分析

为深入解析在 *P. gingivalis*-LPS 的刺激下,DEG 驱动泡沫细胞促动脉粥样硬化效应的分子机制,本研究进一步通过 GO 功能注释与 KEGG 通路富集分析展开研究。GO 富集分析结果表明,DEG 显著富集于多个关键生物学过程,包括脂质生物合成过程、类固醇代谢过程、固醇代谢过程、类固醇生物合成过程以及胆固醇代谢相关过程(图 2A)。KEGG 通路分析进一步揭示,这些基因主要参与类固醇生物合成、PPAR 信号通路和脂肪酸代谢等与脂质代谢密切相关的信号转导途径(图 2B)。这些富集结果提示, *P. gingivalis*-LPS 刺激后泡沫细胞发生了以固醇/胆固醇代谢及脂肪酸代谢异常为特征的转录组重塑。

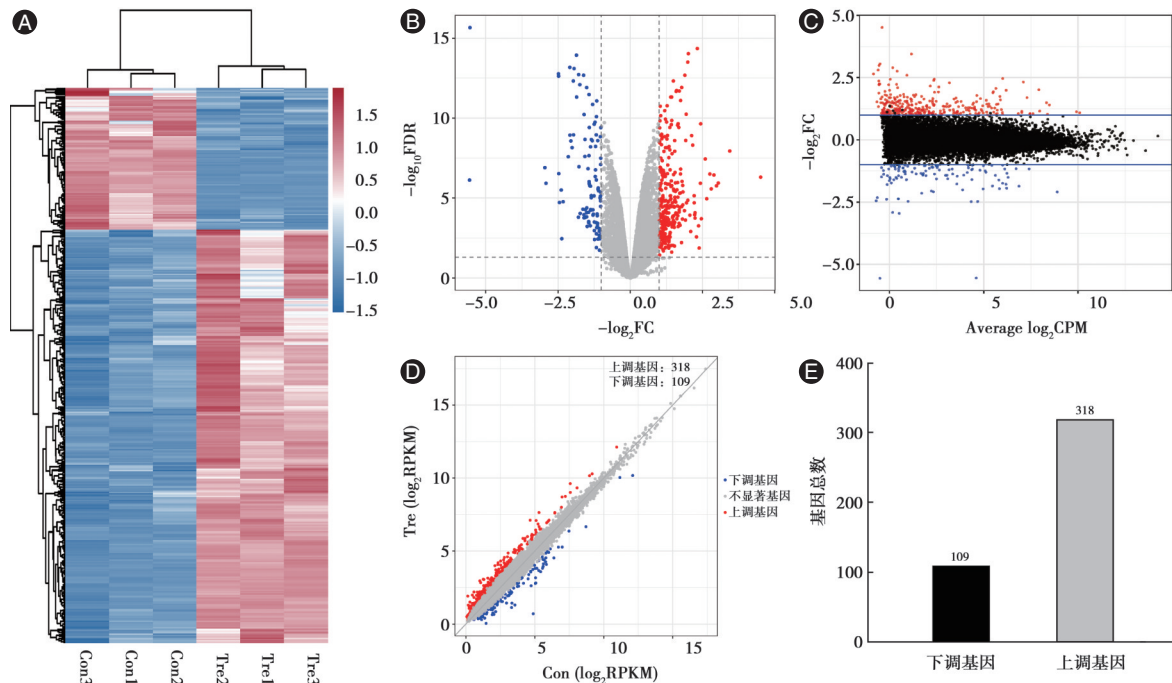


图1 牙龈卟啉单胞菌脂多糖(*P. gingivalis*-LPS)刺激泡沫细胞的转录组测序分析 A~B:热图和火山图分别代表了Con组与Tre组之间的基因表达差异,红色表示上调基因,蓝色表示下调基因,灰色表示差异不显著基因;C:MA图,横坐标为基因在两组样本中的平均表达量(Average $\log_2$ CPM),纵坐标为基因表达的倍数变化($\log_2$ FC);D:差异基因散点图,横坐标为Con组基因的平均表达量,纵坐标为Tre组基因的平均表达量;E:差异表达基因数目柱状统计图,以 $|\log_2FC| > 1$ 且 $FDR < 0.05$ 为筛选标准,黑色柱代表下调基因数目,灰色柱代表上调基因数目。

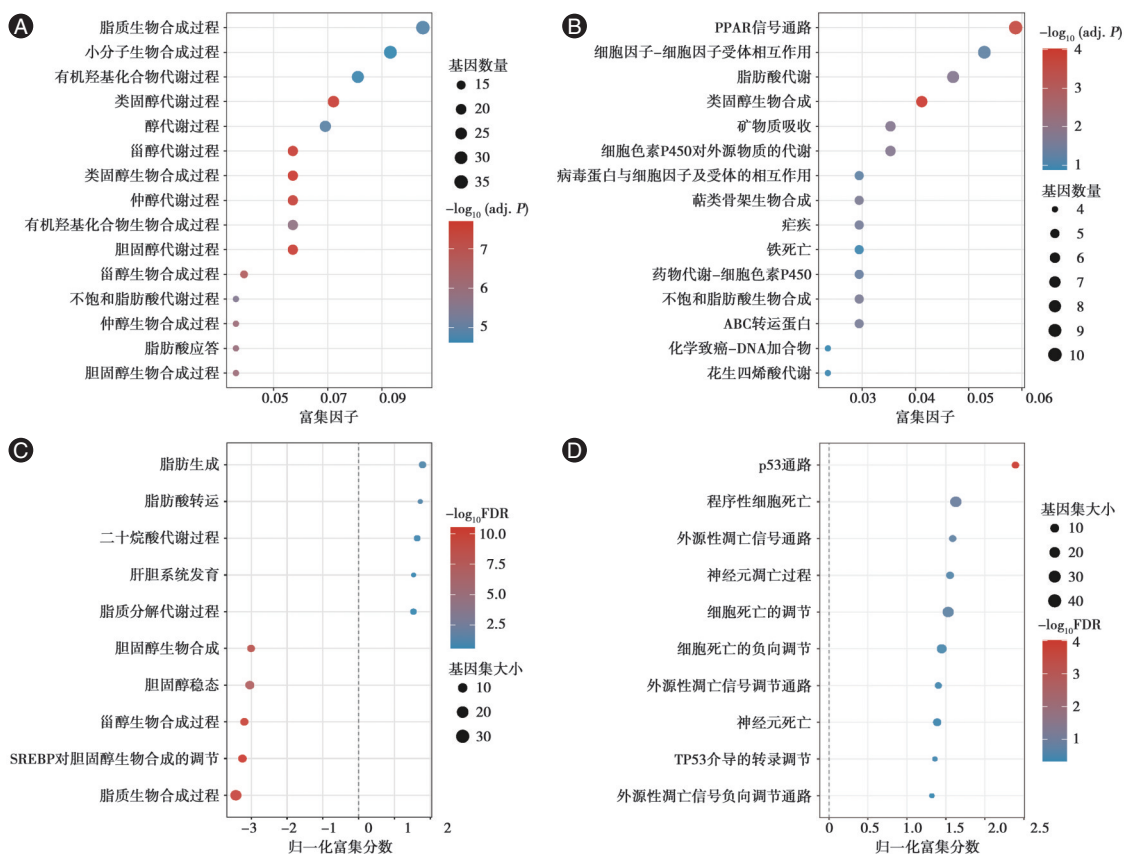


图2 牙龈卟啉单胞菌脂多糖(*P. gingivalis*-LPS)刺激泡沫细胞差异表达基因(DEG)的基因本体(GO)、京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集及基因集富集分析(GSEA) A:DEG的GO功能富集分析;B:DEG的KEGG通路富集分析;C:脂质代谢相关通路GSEA分析;D:细胞凋亡相关通路GSEA分析。A~B图中散点的大小代表该条目中富集的差异基因数目,横坐标为Rich factor,颜色表示 $-\log_{10}(\text{adj. } P)$;C~D图中散点大小代表基因集大小,横坐标为标准化富集分数(NES),颜色表示 $-\log_{10}FDR$ 。

本研究在GO和KEGG功能富集分析基础上,进一步进行了基于排序基因集的GSEA分析。结果显示,*P. gingivalis*-LPS刺激后泡沫细胞脂质代谢相关通路发生了明显重塑。其中,胆固醇/固醇生物合成及部分脂质生物合成相关通路整体呈负向富集(图2C),提示*P. gingivalis*-LPS刺激后泡沫细胞的胆固醇/固醇合成程序受到抑制。与此同时,部分脂肪酸转运及适应性脂质代谢相关过程则呈正向富集趋势,提示细胞在病原体刺激下并非发生单一方向的脂质代谢改变,而是出现了以胆固醇/固醇生物合成受抑、脂肪酸转运及代谢适应增强为特征的脂质代谢重编程。进一步地,凋亡/细胞死亡相关GSEA结果显示(图2D),p53信号通路等呈正向富集,提示*P. gingivalis*-LPS刺激可同步激活与细胞应激及凋亡调控相关的转录程序。结合脂质代谢相关通路的广泛变化,这些结果表明,*P. gingivalis*-LPS刺激后的泡沫细胞并非仅表现为个别差异基因的改变,而是伴随脂代谢网络与细胞命运调控程序的协同重塑,为后续聚焦*CPT1A*这一连接脂肪酸氧化与细胞存活的关键分子提供了整体转录组学依据。

三、肉毒碱棕榈酰转移酶1A的功能分析

本研究通过对DEG的筛选,发现*CPT1A*在暴露于*P. gingivalis*-LPS后的泡沫细胞中呈现显著高表达(表4)。为阐明其病理学功能,本研究进行了系统的功能富集分析。GO分析显示,*CPT1A*主要富集于甘油三酯代谢过程、脂肪酸代谢过程和脂质代谢过程等生物学过程(表5)。KEGG通路分析进一步表明,该基因显著富集于PPAR信号通路和脂肪酸代谢通路等关键代谢调控网络(表6)。这些发现提示,*CPT1A*可能通过调控脂质代谢重编程、能量稳态平衡等相关通路,重塑泡沫细胞的致动脉粥样硬化表型,进而介导牙周炎相关动脉粥样硬化的病理进程。

表4 对差异表达基因(DEG)肉毒碱棕榈酰转移酶1A(*CPT1A*)的筛选($n=3$)

样本	<i>CPT1A</i>	$\log_2FC$	$\log CPM$	P 值	假发现率
Con1	2.35				
Con2	2.68				
Con3	2.35	1.89	5.49	1.49E-16	2.08E-13
Tre1	8.99				
Tre2	9.56				
Tre3	9.56				

四、牙龈卟啉单胞菌脂多糖通过调控肉毒碱棕榈酰转移酶1A表达介导泡沫细胞活力变化

在明确牙周炎关键病原体来源的LPS对泡沫细

表5 肉毒碱棕榈酰转移酶1A(*CPT1A*)的基因本体(GO)分析

GO编号	条目	类别	假发现率
0006641	甘油三酯代谢过程	生物过程	0.008 896 0
0006631	脂肪酸代谢过程	生物过程	0.024 451 2
0006629	脂质代谢过程	生物过程	0.024 451 2

表6 肉毒碱棕榈酰转移酶1A(*CPT1A*)的京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析

KEGG编号	条目	假发现率
mmu03320	PPAR信号通路	0.002 248 9
mmu01212	脂肪酸代谢	0.004 380 8

胞的刺激效应后,本研究进而通过Western blot与qRT-PCR检测发现,经10 $\mu\text{g/mL}$ *P. gingivalis*-LPS处理24 h后的泡沫细胞中,*CPT1A*的mRNA表达水平显著上调,蛋白水平同步升高,表明该基因在病原体刺激下呈现转录-翻译协同激活的特征(图3A~3B)。为了进一步验证*CPT1A*对泡沫细胞的调控作用,本研究分别构建了*CPT1A*的沉默和过表达载体,并通过qRT-PCR对转染效率进行验证。结果显示,与阴性对照组(NC)相比,沉默组(siRNA)中*CPT1A*的表达水平显著降低,而过表达组(pcDNA3.1⁺)中*CPT1A*的表达水平显著升高(图3C)。

本研究采用CCK-8法检测各组泡沫细胞活力,结果显示,*CPT1A*敲低组细胞活力较对照组显著下降,而过表达组细胞活力则显著恢复(图3D)。此双向调控实验证实*CPT1A*作为*P. gingivalis*-LPS应答的关键效应分子,其表达水平与泡沫细胞存活能力呈显著正相关,提示该基因可能通过维持感染状态下泡沫细胞的异常存活,促进动脉粥样硬化斑块内脂质蓄积及炎症持续恶化。

五、肉毒碱棕榈酰转移酶1A对泡沫细胞凋亡的调控作用

先前的研究结果已明确*P. gingivalis*-LPS上调*CPT1A*促进泡沫细胞的存活,本研究进一步通过检测细胞凋亡率,以解析*CPT1A*在病原体刺激下调控泡沫细胞命运的具体机制。实验结果显示,*CPT1A*基因敲低组的泡沫细胞凋亡率较对照组显著升高,而*CPT1A*过表达组则呈现凋亡率明显下降的趋势,表明*CPT1A*表达水平与泡沫细胞凋亡程度呈显著负相关(图4A~4B)。该发现与前期细胞活力检测结果形成机制性呼应,提示*CPT1A*可能作为牙周炎病原体LPS应答的核心效应分子。

为了进一步探究*CPT1A*对凋亡相关分子的调控作用,本研究通过Western blot检测各组泡沫细胞中

凋亡因子 *Bax*、*Bcl-2*、*Caspase-3* 的表达水平。实验结果显示:与对照组相比,*CPT1A* 敲低组泡沫细胞中 *Bax*、*Caspase-3* 的表达水平明显上调,*Bcl-2* 的表达水平则明显下调(图 4C)。而 *CPT1A* 过表达组泡沫细胞中

Bax、*Caspase-3* 及 *Bcl-2* 的表达则呈现相反趋势(图 4D)。上述结果提示,*CPT1A* 可能通过调控凋亡相关蛋白的表达,抑制泡沫细胞的凋亡,从而参与 *P. gingivalis*-LPS 诱导的动脉粥样硬化相关病理过程。

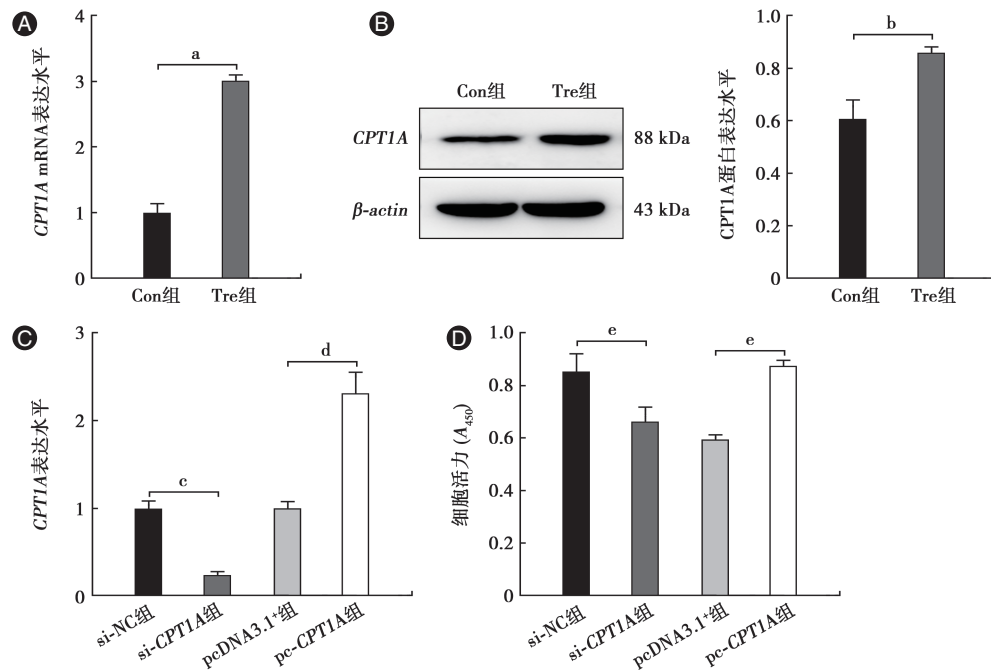


图3 肉毒碱棕榈酰转移酶1A(*CPT1A*)在牙龈卟啉单胞菌脂多糖(*P. gingivalis*-LPS)刺激下的表达变化及其对泡沫细胞活力的影响 A~B: *P. gingivalis*-LPS 诱导下 *CPT1A* 的转录及蛋白水平变化;C:定量反转录聚合酶链反应(qRT-PCR)验证 *CPT1A* 沉默及过表达载体的转染效率;D:细胞计数(CCK-8)法检测沉默或过表达 *CPT1A* 后泡沫细胞的活力。Con组:对照组;Tre组:*P. gingivalis*-LPS 刺激的泡沫细胞组;si-NC组:阴性对照组;si-*CPT1A*组:敲低组;pc-DNA3.1组:空载质粒组;pc-*CPT1A*组:过表达组。^a*P*=0.002 2, ^b*P*=0.004 4, ^c*P*=0.000 3, ^d*P*=0.004 2, ^e*P*<0.001。

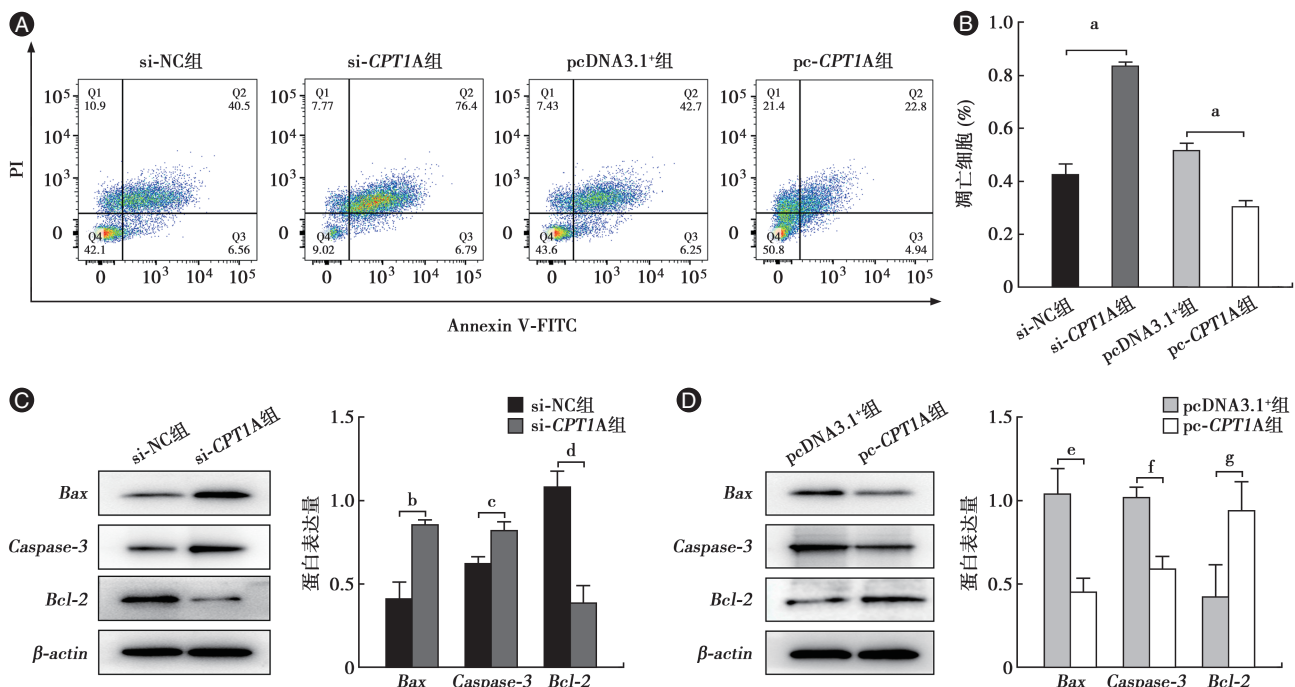


图4 肉毒碱棕榈酰转移酶1A(*CPT1A*)对泡沫细胞凋亡的影响 A:流式细胞术检测泡沫细胞凋亡的代表性散点图;B:泡沫细胞凋亡率的量化分析;C:蛋白免疫印迹(Western blot)验证转染 *CPT1A* 的 siRNA 后泡沫细胞中凋亡因子的表达情况;D:Western blot 验证转染 *CPT1A* 的过表达质粒后泡沫细胞中凋亡因子的表达情况。si-NC组:阴性对照组;si-*CPT1A*组:敲低组;pc-DNA3.1组:空载质粒组;pc-*CPT1A*组:过表达组。^a*P*<0.001, ^b*P*=0.000 1, ^c*P*=0.000 4, ^d*P*=0.009 1, ^e*P*=0.019 1, ^f*P*=0.018 0, ^g*P*=0.014 8。

讨 论

一、牙龈卟啉单胞菌脂多糖诱导泡沫细胞转录组与脂质代谢重编程

本研究发现,*P. gingivalis*-LPS对泡沫细胞的调控涉及复杂的转录组重塑,其中*CPT1A*作为关键分子在一定程度上参与泡沫细胞的病理生理进展。转录组测序分析揭示,在*P. gingivalis*-LPS刺激下,泡沫细胞在 $\log_2FC|>1$ 且 $FDR<0.05$ 的阈值下共鉴定出427个显著DEG,其中318个上调、109个下调。基于该DEG集的GO和KEGG富集分析提示,这些差异基因主要聚焦于脂质及固醇代谢相关生物学过程,以及PPAR信号通路、脂肪酸代谢和类固醇生物合成等信号网络。这一结果说明,*P. gingivalis*-LPS并非仅仅诱导局部炎症反应,而更可能通过重塑泡沫细胞脂质代谢程序,促进其形成和功能异常。这一发现与*P. gingivalis*-LPS在动脉粥样硬化病理进程中的已知作用高度吻合——既往研究已证实,*P. gingivalis*-LPS通过激活NF- κ B通路、抑制胆固醇外流酶活性及诱导内质网脂质沉积,驱动巨噬细胞向泡沫细胞转化并加剧斑块不稳定性^[15,17,24]。

GSEA分析结果进一步揭示了*P. gingivalis*-LPS刺激后泡沫细胞在整体转录层面的程序性变化。结果显示,胆固醇/固醇生物合成相关通路总体呈负向富集,而脂肪酸转运及适应性脂质代谢相关过程呈正向富集趋势,同时p53信号通路等细胞应激与凋亡相关通路也呈正向富集。提示*P. gingivalis*-LPS刺激后,泡沫细胞并未表现为单一方向的脂代谢增强,而是出现了以胆固醇/固醇生物合成受抑、脂肪酸代谢适应增强及凋亡调控激活为特征的代谢重编程状态。上述变化说明,在病原体刺激背景下,泡沫细胞可能通过调整脂质利用方式与能量代谢模式来适应外界应激,同时启动与细胞损伤和命运决定相关的转录程序。GSEA结果不仅补充了GO/KEGG分析对脂质代谢异常的解释,也为后续聚焦*CPT1A*这一脂肪酸氧化关键分子提供了更坚实的整体组学依据。

二、肉毒碱棕榈酰转移酶1A调控功能

*CPT1A*在差异基因筛选中呈现显著高表达,其GO注释进一步指向甘油三酯代谢、脂肪酸氧化及同源蛋白结合等过程,而KEGG通路富集则明确关联PPAR及脂肪酸代谢,提示*CPT1A*可能作为病原体刺激与代谢-凋亡网络的重要因子,从分子层面进

一步阐释了牙周感染与心血管疾病关联的新机制。

实验验证数据强化了*CPT1A*的功能重要性:Western blot与RT-qPCR证实*P. gingivalis*-LPS可显著上调泡沫细胞中*CPT1A*的mRNA及蛋白表达。在功能实验中,本研究进一步证实,*P. gingivalis*-LPS刺激可上调泡沫细胞中*CPT1A*的mRNA及蛋白表达;同时,*CPT1A*敲低可显著降低细胞活力,而*CPT1A*过表达则可提高细胞活力。进一步的流式细胞术结果显示,*CPT1A*敲低后泡沫细胞凋亡率明显升高,而过表达后凋亡率显著下降。Western blot结果进一步表明,*CPT1A*敲低可上调Bax和Caspase-3蛋白表达、下调Bcl-2蛋白表达,而*CPT1A*过表达则呈现相反变化趋势。上述结果表明,*CPT1A*在*P. gingivalis*-LPS刺激的泡沫细胞中具有促进细胞存活、抑制细胞凋亡的作用。这一结果从机制层面拓展了*CPT1A*的生物学内涵——传统上,*CPT1A*被视为脂肪酸 β 氧化的限速酶,其抑制剂TMZ通过抑制脂肪酸氧化改善心肌能量代谢^[25-27];然而,本研究在*P. gingivalis*-LPS刺激的泡沫细胞模型中揭示其抗凋亡功能,探究了其更广泛的分子功能。这一发现与近期关于*CPT1A*非代谢功能的研究相呼应:在结直肠癌细胞中,*CPT1A*通过与VDAC1互作调控线粒体外膜通透性^[28];而在肺泡巨噬细胞中,其以酶活性依赖方式结合Bcl-2并稳定线粒体膜完整性,从而抑制Bax/Bak介导的凋亡级联^[29]。

三、肉毒碱棕榈酰转移酶1A的双重病理作用

本研究发现*CPT1A*表达变化与泡沫细胞活力及凋亡水平相关,但并未直接证明其通过调控脂肪酸 β 氧化或线粒体功能发挥上述效应。尽管已有文献报道*CPT1A*在其他细胞类型中可与Bcl-2家族蛋白互作或调节线粒体膜完整性,但本研究未直接验证这些通路。*CPT1A*在动脉粥样硬化不同阶段的调控作用,以及其促存活效应在体内对斑块稳定性的净影响,尚需借助动物模型(如髓系特异性*CPT1A*敲除小鼠)进一步阐明。值得深入探讨的是,*CPT1A*介导的代谢-凋亡耦合效应在AS背景下具有双重病理意义。一方面,*CPT1A*作为脂肪酸氧化关键分子,可能通过参与泡沫细胞的脂质代谢重编程影响*P. gingivalis*-LPS诱导的脂质蓄积,这与差异基因富集分析提示固醇/胆固醇代谢及脂肪酸代谢相关过程显著差异的结果一致;另一方面,其抗凋亡作用则可能阻碍凋亡泡沫细胞的清除,导致坏死核心扩大,而干预机械敏感性通道Piezo1或TRPV4已被证

明可促进凋亡细胞清除并缩小斑块^[17,30-31]。这种矛盾性暗示 *CPT1A* 在 AS 不同阶段的动态角色:早期可能通过维持细胞存活促进脂质积累,晚期则因抑制凋亡削弱斑块稳定性。这种动态平衡的打破,可能是 *P. gingivalis*-LPS 加剧 AS 斑块不稳定的深层原因。

综上所述,本研究阐明了 *CPT1A* 在 *P. gingivalis*-LPS 刺激的泡沫细胞中通过协调脂质代谢重编程与凋亡抵抗,充当疾病进展的“分子开关”,推测其机制可能涉及与细胞凋亡的互作网络,本研究进一步丰富了 *CPT1A* 的分子角色。未来研究需深入解析 *CPT1A* 在泡沫细胞中互作蛋白组的时空动态,并探索靶向其酶活性或蛋白互作界面的精准干预策略,为 AS 的防治提供新思路。

四、研究局限与展望

本研究存在一定局限性。实验采用 RAW264.7 小鼠巨噬细胞系经 ox-LDL 诱导的泡沫细胞体外模型,该模型虽为动脉粥样硬化研究中的常用工具,但无法完全模拟体内动脉粥样硬化斑块中复杂的细胞类型、细胞因子水平变化及血流剪切力等微环境因素。*CPT1A* 调控泡沫细胞凋亡的上游信号及下游效应分子均未直接鉴定。因此,文中有关代谢-凋亡交叉对话的讨论应视为基于现有文献的工作假说,有待后续实验检验。本研究未采用原代巨噬细胞或动物体内模型对 *CPT1A* 的功能进行验证,因此当前结论的生理相关性及向临床转化的推论能力尚有限。

P. gingivalis-LPS 在体内可能通过多种细胞类型(如血管平滑肌细胞、内皮细胞)及免疫细胞间的相互作用间接影响泡沫细胞行为,而这些复杂的调控网络难以在体外模型中体现。后续研究有必要在原代细胞及动脉粥样硬化动物模型(如 *ApoE*^{-/-} 小鼠联合牙周炎感染模型)中进一步验证 *CPT1A* 的作用,并结合组织特异性敲除或过表达策略深入解析其体内功能。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 高莹:实验设计、数据收集、统计分析;周芷晴:统计分析、作图;张伯阳、齐诗妤:论文撰写;耿涛、王慧、彭诚、梁雪:研究指导、论文审阅、经费支持

参 考 文 献

[1] Bergström G, Persson M, Adiels M, et al. Prevalence of subclinical coronary artery atherosclerosis in the general population [J]. *Circulation*, 2021, 144 (12): 916-929. DOI: 10.

1161/CIRCULATIONAHA.121.055340.

- [2] Su C, Lu Y, Wang Z, et al. Atherosclerosis: The involvement of immunity, cytokines and cells in pathogenesis, and potential novel therapeutics [J]. *Aging Dis*, 2023, 14 (4): 1214-1242. DOI: 10.14336/AD.2022.1208.
- [3] Doran A C. Inflammation resolution: Implications for atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2022, 130 (1): 130-148. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319822.
- [4] Medina-Leyte D J, Zepeda-García O, Domínguez-Pérez M, et al. Endothelial dysfunction, inflammation and coronary artery disease: Potential biomarkers and promising therapeutical approaches [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (8): 3850. DOI: 10.3390/ijms22083850.
- [5] Malekmohammad K, Bezsonov E E, Rafieian-Kopaei M. Role of lipid accumulation and inflammation in atherosclerosis: Focus on molecular and cellular mechanisms [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021 (8): 707529. DOI: 10.3389/fcvm.2021.707529.
- [6] Mezentsev A, Bezsonov E, Kashirskikh D, et al. Proatherogenic sialidases and desialylated lipoproteins: 35 years of research and current state from bench to bedside [J]. *Biomedicines*, 2021, 9 (6): 600. DOI: 10.3390/biomedicines9060600.
- [7] Maguire E M, Pearce S W A, Xiao Q. Foam cell formation: A new target for fighting atherosclerosis and cardiovascular disease [J]. *Vascul Pharmacol*, 2019 (112): 54-71. DOI: 10.1016/j.vph.2018.08.002.
- [8] Poznyak A V, Nikiforov N G, Markin A M, et al. Overview of OxLDL and its impact on cardiovascular health: Focus on atherosclerosis [J]. *Front Pharmacol*, 2020 (11): 613780. DOI: 10.3389/fphar.2020.613780.
- [9] Jebari-Benslaiman S, Galicia-García U, Larrea-Sebal A, et al. Pathophysiology of atherosclerosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (6): 3346. DOI: 10.3390/ijms23063346.
- [10] Checkouri E, Blanchard V, Meilhac O. Macrophages in atherosclerosis, first or second row players? [J]. *Biomedicines*, 2021, 9 (9): 1214. DOI: 10.3390/biomedicines9091214.
- [11] Wilson H M. The intracellular signaling pathways governing macrophage activation and function in human atherosclerosis [J]. *Biochem Soc Trans*, 2022, 50 (6): 1673-1682. DOI: 10.1042/BST20220441.
- [12] Chistiakov D A, Melnichenko A A, Myasoedova V A, et al. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2017, 95 (11): 1153-1165. DOI: 10.1007/s00109-017-1575-8.
- [13] Afzoon S, Amiri M A, Mohebbi M, et al. A systematic review of the impact of *Porphyromonas gingivalis* on foam cell formation: Implications for the role of periodontitis in atherosclerosis [J]. *BMC Oral Health*, 2023, 23 (1): 481. DOI: 10.1186/s12903-023-03183-9.
- [14] Zhang J, Xie M, Huang X, et al. The effects of *Porphyromonas gingivalis* on atherosclerosis-related cells [J]. *Front Immunol*, 2021 (12): 766560. DOI: 10.3389/fimmu.2021.766560.

- [15] Lei L, Li H, Yan F, et al. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide alters atherosclerotic-related gene expression in oxidized low-density-lipoprotein-induced macrophages and foam cells[J]. J Periodontol Res, 2011, 46(4):427-437. DOI:10.1111/j.1600-0765.2011.01356.x.
- [16] Yang Y, He X, Xia S, et al. *Porphyromonas gingivalis* facilitated the foam cell formation via lysosomal integral membrane protein 2 (LIMP2)[J]. J Periodontol Res, 2021, 56(2):265-274. DOI:10.1111/jre.12812.
- [17] Gupta N, Goswami R, Alharbi M O, et al. TRPV4 is a regulator in *P. gingivalis* lipopolysaccharide - induced exacerbation of macrophage foam cell formation[J]. Physiol Rep, 2019, 7(7):e14069. DOI:10.14814/phy2.14069.
- [18] Nomura M, Liu J, Yu Z X, et al. Macrophage fatty acid oxidation inhibits atherosclerosis progression[J]. J Mol Cell Cardiol, 2019(127):270-276. DOI:10.1016/j.yjmcc.2019.01.003.
- [19] Chen W, Wu X, Hu J, et al. The translational potential of miR-26 in atherosclerosis and development of agents for its target genes ACC1/2, COL1A1, CPT1A, FBP1, DGAT2, and SMAD7[J]. Cardiovasc Diabetol, 2024, 23(1):21. DOI:10.1186/s12933-024-02119-z.
- [20] Shen Y, Lin L, Yu W, et al. Expression of carnitine palmitoyltransferase I isotypes in gingival tissues of human periodontitis[J]. Int Dent J, 2025, 75(4):100837. DOI:10.1016/j.identj.2025.100837.
- [21] Ruan Q, Guan P, Qi W, et al. *Porphyromonas gingivalis* regulates atherosclerosis through an immune pathway[J]. Front Immunol, 2023(14):1103592. DOI:10.3389/fimmu.2023.1103592.
- [22] Xie M, Tang Q, Nie J, et al. BMAL1-downregulation aggravates porphyromonas gingivalis-induced atherosclerosis by encouraging oxidative stress[J]. Circ Res, 2020, 126(6):e15-e29. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.119.315502.
- [23] Park S, Kim I, Han S J, et al. Oral *Porphyromonas gingivalis* infection affects intestinal microbiota and promotes atherosclerosis [J]. J Clin Periodontol, 2023, 50(11):1553-1567. DOI:10.1111/jcpe.13864.
- [24] Rho J H, Kim H J, Joo J Y, et al. Periodontal pathogens promote foam cell formation by blocking lipid efflux [J]. J Dent Res, 2021, 100(12):1367-1377. DOI:10.1177/00220345211008811.
- [25] Palm C L, Nijholt K T, Bakker B M, et al. Short-chain fatty acids in the metabolism of heart failure: Rethinking the fat stigma [J]. Front Cardiovasc Med, 2022(9):915102. DOI:10.3389/fcvm.2022.915102.
- [26] Shu H, Hang W, Peng Y, et al. Trimetazidine attenuates heart failure by improving myocardial metabolism via AMPK[J]. Front Pharmacol, 2021(12):707399. DOI:10.3389/fphar.2021.707399.
- [27] Shu H, Peng Y, Hang W, et al. Trimetazidine in heart failure [J]. Fron Pharmacol, 2020(11):569132. DOI:10.3389/fphar.2020.569132.
- [28] Hu A, Wang H, Xu Q, et al. A novel CPT1A covalent inhibitor modulates fatty acid oxidation and CPT1A - VDAC1 axis with therapeutic potential for colorectal cancer[J]. Redox Biol, 2023(68):102959. DOI:10.1016/j.redox.2023.102959.
- [29] Gu L, Surolia R, Larson-Casey J L, et al. Targeting Cpt1a-Bcl-2 interaction modulates apoptosis resistance and fibrotic remodeling [J]. Cell Death Differ, 2022, 29(1):118-132. DOI:10.1038/s41418-021-00840-w.
- [30] Pourteymour S, Fan J, Majhi R K, et al. PIEZO1 targeting in macrophages boosts phagocytic activity and foam cell apoptosis in atherosclerosis [J]. Cell Mol Life Sci, 2024, 81(1):331. DOI:10.1007/s00018-024-05372-3.
- [31] Pan X, Xu H, Ding Z, et al. Guizhitongluo Tablet inhibits atherosclerosis and foam cell formation through regulating Piezo1/NLRP3 mediated macrophage pyroptosis [J]. Phytomedicine, 2024(132):155827. DOI:10.1016/j.phymed.2024.155827.

(收稿日期:2025-12-30)

(本文编辑:王嫚)