

MiRNA 在动脉粥样硬化血管新生中的作用

艾丽菲热·买买提, 杨毅宁, 马依彤

(新疆医科大学第一附属医院心脏中心, 新疆乌鲁木齐市 830054)

[关键词] 血管新生; 动脉粥样硬化; miRNA 基因簇

[摘要] 在动脉粥样硬化斑块的发展过程中, 血管新生是一个重要的影响因素, 局部新生血管和斑块稳定性密切相关。随着斑块内新生血管数量的增加, 斑块内脂质和各种炎症细胞堆积, 最终导致基质降解, 纤维帽变薄, 斑块破裂, 进而引发严重的心血管事件。miRNA 的研究越发地让我们认识到, miRNA 不仅在肿瘤疾病领域, 在动脉粥样硬化领域中也发挥着极其重要的作用。近年来, 在心血管系统中发现多种可能与动脉粥样硬化相关的 miRNA, 可能为动脉粥样硬化的早期诊断和治疗选择提供了新的线索。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

MiRNA Act A Pivotal Role in Atherosclerosis-related Angiogenesis

MAI-MAI-TI Ai-Li-Fei-Re, YANG Yi-Ning, and MA Yi-Tong

(The Heart Center of the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830054, China)

[KEY WORDS] Angiogenesis; Atherosclerosis; miRNA Clusters

[ABSTRACT] Atherosclerotic lesions are always vascularized by a network of capillaries which are important regulators of plaque instability. Associated with the increased number of capillaries, the accumulation of lipids and inflammatory cells may attenuate the fibrous cap and cause plaque rupture. As a result, the probability of cardiovascular events increases. Recent researches about miRNA convinced us that miRNAs played a key role not just in tumor but also in atherosclerosis. Discoveries of atherosclerosis-related miRNAs also provoked many thoughts about the diagnosis and treatment of cardiovascular diseases.

血管新生是指新血管形成的这一生物学过程。广义的血管新生 (neovascularization) 涉及血管发生 (vasculogenesis)、血管新生 (angiogenesis) 以及动脉生成 (arteriogenesis) 这三个主要的过程^[1]。血管发生是指胚胎发育过程中血管从无到有的过程, 由内皮多能干细胞分化形成初期血管, 其他类型的成血管细胞随后趋化聚集完成血管生成, 在成人组织器官中的地位作用尚不明确; 血管新生是指微血管以出芽的方式, 从已存在的血管床长出, 并形成新的血管分支和毛细血管网的过程; 动脉生成是形成具有完整管壁的肌性小动脉, 所有与形成血管有关的细胞, 包括平滑肌细胞及肌周细胞, 都参与了这一过程。包括一些已存在的侧枝循环的生长成熟, 或者完整血管的重新形成^[1]。本文主要讨论血管新

生过程。人体正常生理情况下, 血管新生只发生于伤口愈合、感染、子宫经期和胚胎发育期, 但病理性血管新生则会在动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As)、糖尿病视网膜病变、类风湿关节炎以及肿瘤等疾病中发生。

体内促进分化的信号传递后, 血管新生通过四个阶段发展: (1) 内皮细胞活化; (2) 内皮细胞增殖; (3) 内皮细胞迁移; (4) 形成管腔。整个过程由原本静止的血管内皮细胞, 被机体或肿瘤细胞分泌的因子活化开始 (第一阶段), 随即开始增殖 (第二阶段), 随后沿着结缔组织所形成的骨架向血管新生刺激的方向移动, 形成成排的细胞群落 (第三阶段), 最后这些到位的内皮细胞群落会形成有管腔

[收稿日期] 2014-09-29

[修回日期] 2014-12-05

[基金项目] 新疆维吾尔自治区重点实验室专项资金资助项目 (2014KL011)

[作者简介] 艾丽菲热·买买提, 博士, 主治医师, 研究方向为动脉粥样硬化的基础, E-mail 为 dr.alfira@gmail.com。杨毅宁, 博士, 主任医师, 教授, 研究方向为冠心病的临床及基础, E-mail 为 yangyn5126@163.com。通讯作者马依彤, 博士, 主任医师, 教授, 研究方向为冠心病的临床及基础, E-mail 为 myt-xj@163.com。

的结构而产生血管网(第四阶段)^[2]。血管新生的过程虽然复杂,其中最重要的环节还是内皮细胞功能的变化,由内皮细胞释放的细胞因子在血管新生过程中调节内皮细胞的迁移和分化自然也起到关键作用。因此内皮功能的调节,一些关键细胞因子的表达调控越来越受到重视。

1 血管新生与动脉粥样硬化

1.1 动脉粥样硬化中存在血管新生

早在十九世纪,学者们通过尸检就已发现动脉粥样硬化斑块中可以见到新生血管存在^[3],并提出二者是有联系的。正常的血管会有细小的滋养血管局限于外中膜和外膜处供给营养;随着动脉粥样硬化的发生发展,血管壁逐渐增厚,由血管腔向中膜弥散的养分越来越少,于是滋养血管逐渐变密并长入内膜层,以供给中膜、外膜所需要的营养物质。但是随后人们发现血管新生有利有弊,Virmani等^[4]提出滋养血管由外膜长入内膜层是逐级分支进行的,长入中膜层的滋养血管尚有完整的血管结构,同时被覆有平滑肌细胞,但长入内膜层的血管结构却并不完整,内皮细胞也不连续,没有被覆的外层细胞,因此存在红细胞渗漏的现象。这就造成所谓的“斑块内出血”,同时因为红细胞膜富含磷脂和游离胆固醇,都会促使斑块脂池的迅速增大,导致斑块不稳定。另外,不稳定斑块患者较稳定斑块患者,斑块内血管新生情况增加2倍之多;而斑块破裂患者血管新生情况则达稳定斑块患者的4倍。新生血管的内皮细胞可以表达更多的黏附分子,从而趋化更多的炎细胞进入斑块的肩部,导致斑块不稳定。这进一步证实了血管新生会增加斑块不稳定性,引发心血管事件风险。

内皮细胞作为血管新生的主体发挥着至关重要的作用,O'Brien^[3]发现正常血管的内皮细胞的更新极其缓慢,增殖率 $<0.25\%$,镜下很难见到内皮细胞的有丝分裂像;而在斑块当中,内皮细胞增殖率可达 43% ,意味着内皮细胞复制和分裂非常活跃,提示血管新生主要是依赖内皮细胞进行的。随后,Moulton等^[5]试验了以内皮细胞为靶点抑制血管新生的治疗,他们对高脂喂养的 apoE^{-/-}小鼠应用内皮抑素和 TNP-470 抑制血管新生,发现两种药物在未改变血胆固醇水平的前提下,均有效地控制了动脉粥样硬化程度,并减小了斑块体积,再次证明血管新生与动脉粥样硬化关系密切。

1.2 动脉粥样硬化中血管新生的机制及意义

在动脉粥样硬化斑块的发展过程中,血管新生是一个重要的影响因素,局部新生血管和斑块稳定性密切相关。新生的微血管对动脉粥样硬化斑块既有利又有弊。新生血管管壁不完整,通透性强,可为斑块局部提供养分,是对缺氧的有益补偿;但随着斑块内新生血管的增多,斑块内脂质、红细胞和炎细胞堆积,会导致基质降解,纤维帽变薄,最终斑块破裂,引发严重的心脑血管事件^[6]。动脉粥样硬化导致斑块内血管新生发生,而新生血管又进一步促进粥样硬化病变的进展。因此,血管新生可能是动脉粥样硬化疾病中的关键点,彻底明确其发生发展机制可以成为日后治疗动脉粥样硬化疾病的新靶点。

2 miRNA 与血管新生

2.1 miRNA 的合成及作用机制

microRNA(miRNA)是一类非编码小分子单链RNA(~ 22 nt),其编码基因通常位于基因间或内含子区域。在细胞核内,miRNA 初级转录本(pri-miRNA)由其编码基因转录而来。随后,pri-miRNA 由 Drosha 和 DGCR8 组成的酶复合体剪切成长约 65 ~ 70 nt、带有茎环结构的 miRNA 前体(pre-miRNA),pre-miRNA 再通过 Exportin-5 转运至胞浆。在胞浆中,pre-miRNA 被 Dicer 酶识别并处理成长约 22 nt 的双链 RNA(miRNA: miRNA*)。其中一条链(miRNA*)很快被降解,另一条链则组成 RNA 诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)结合到靶基因 mRNA 的 3' 端非翻译区(untranslated region, UTR),诱导 mRNA 的降解或抑制其翻译,即在转录后水平下调靶基因的表达^[7]。

据目前推测,人体中约有 1000 种 miRNA,其中 700 余个已被鉴定。据保守估计,约 60% ~ 70% 的人类蛋白编码基因受到 miRNAs 的调控。越来越多的证据表明,miRNAs 参与了很多重要的生理和病理过程,例如发育、器官形成、凋亡、细胞增殖,甚至是肿瘤发生。目前发现,在动物细胞中,microRNAs 主要通过以下 4 种机制调节靶基因表达:(1)脱腺苷化(deadenylation)继而诱导靶 mRNA 降解;(2)抑制蛋白翻译过程的起始;(3)抑制蛋白翻译过程中多肽链的延长;(4)降解新生的蛋白^[7]。miRNA 能有效地抑制相关蛋白质的合成,或者以其他形式抑制靶基因的表达,产生基因沉默,是我们调节蛋白质编码 mRNA 的有力工具。

2.2 与血管新生相关的 miRNA

目前认为,miRNA 通过调节血管内皮功能、影响炎症和免疫介质及调节胆固醇的生物合成等途径来影响动脉粥样硬化的进程^[7],而血管内皮功能与血管新生二者息息相关。Yang 等^[8]发现敲除 Dicer 酶的纯合子小鼠不能够存活,因血管形成缺陷而在妊娠 14.5 天时死亡。其它的研究也证实,无论是在体内抑或体外,Dicer 介导生成的 miRNA 对于血管新生应答的建立都是至关重要的^[9]。敲除 Dicer 会导致 miRNA 整体生成受抑,不利于了解某一种 miRNA 在血管新生中的影响。因此,近年来研究者多通过上调或下调某种特定的 miRNA 来探讨其作用,其中 miR-126 相关的研究最为详尽。miR-126 位于内皮细胞特异性基因 *Egfl7* 的第 7 个内含子中,是内皮细胞中表达丰度最高的 miRNA,敲除 miR-126 的小鼠表现为血管发育缺陷及广泛出血^[10]。miR-126 通过抑制其靶基因 SPRED1 和 PIK3R2 的表达而促使血管内皮生长因子(VEGF)信号通路通过 ERK 及 AKT 途径进行,发挥促进血管新生、保持管腔结构完整的作用^[10]。但同时 Liu 等^[11]也发现在肺癌细胞中,miR-126 直接靶于 VEGFA 并下调其表达,从而限制肿瘤的生长。提示同一种 miRNA 在不同细胞不同环境下作用亦不相同。

在血管新生进程中,血管内皮生长因子(VEGF)的活化及其信号通路发挥极其重要的作用。研究显示相当多的 miRNA 通过直接或间接作用于 VEGF 及其信号通路而影响血管新生的进程。Hu 等^[12]发现在非小细胞肺癌细胞中,miR-128 可以直接抑制 VEGF-C 的表达,间接影响 VEGF-A、VEGFR-2、VEGFR-3 的表达,同时抑制 ERK、AKT 及 P38 的磷酸化,最终抑制血管新生;Sun 等^[13]证实,在人多发性骨髓瘤细胞中 miR-15a 和 miR-16 可以直接靶于 VEGF-A 并抑制血管新生;Hua 等^[14]的研究发现,在人鼻咽癌细胞中 miR-20a、miR-20b 通过抑制 VEGF 的表达抑制血管新生;Ling 等^[15]发现在高血糖环境中,miR-200b 抑制 VEGF 表达从而抑制糖尿病大鼠的血管新生及眼部血管的通透性;同样是在高血糖环境下,Long 等^[16]证实 miR-93 在足细胞中可抑制 VEGF 的表达从而抑制糖尿病微血管并发症。此外,Chan 等^[17]证实,在人表皮纤维母细胞中,miR-15b 直接抑制血管内皮生长因子受体(VEGFR)的表达,作为 VEGF 信号通路中的重要组分,受体的下调也会影响信号通路的进行,并最终抑制血管新生。

血管生成素(angiotensin, ANG)也是参与血管新

生的重要因子。它是分子量为 14 kDa 的胰酶 RNA 酶超级家族中的一员。ANG 可以激活血管内皮细胞,诱导其发生一系列细胞应答,包括:细胞增殖、迁移、侵袭、粘附及管腔结构的形成^[18]。目前与 ANG 直接相关的 miRNA 研究较少。Weng 等^[18]发现 miR-409-3p 通过结合 ANG 3' UTR 而下调其表达,从而抑制人纤维肉瘤细胞 HT1080 细胞增殖、转移及血管新生。值得一提的是,Ling^[15]在其研究中同时揭示了一个重要发现,即在缺氧环境下,若通过 RNA 干扰技术使缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)基因沉默,其它的一些重要的血管生成的因子表达均会受到影响,如 VEGFA、ANG、白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素 8(IL-8)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、肿瘤生长因子(TNF β -1),导致血管新生受抑制。原因在于不同的 mRNA 通过 miRNA 应答元件(miRNA response elements, MRE)竞争结合相同的 miRNA 来调控各自的表达水平,从而建立了不同 mRNA 之间的沟通,这就是竞争性内源 RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)的概念。这样原本并无直接关系的 mRNA 通过 miRNA 建立了一种沟通关系。然而,同一种 miRNA 可能有许多潜在的靶点,抑制这些靶基因的表达,在某些情况可能带来积极作用,但不能排除有些时候极有可能产生消极影响,最终产生的净作用我们还难以把控,因此日后我们基于 miRNA 的治疗应充分考量疾病状态及阶段而进行。除上文提到的与 VEGF 信号通路及 ANG 有关的 miRNA 之外,目前研究结果证实的通过抑制其他靶基因的表达参与促进血管新生的 miRNA 还有:miR-130a、miR-378、miR-296、miR-210、miR-23/27;参与抑制血管新生的 miRNA 有:miR-17/20、miR-21、miR-221/222、miR-503 等(表 1)。

3 血管新生相关的 miRNA 基因簇及其旁系同源序列

有相当一部分的 miRNA 基因是位于蛋白质基因的内含子当中的,这些 miRNA 大多是与宿主蛋白基因共转录的,然后再以内含子的形式被剪切出来,并最终作用于宿主蛋白基因。正因为如此,使它们的联系在进化过程中也被保守地保存下来。还有一些 miRNA 的编码基因是成簇地分布在一条染色体上,它们通过一个共同的启动子转录成为一系列多顺反子^[28],即受同一个控制区调控的一组基因,它们前后排列,并一起被转录和翻译而得到一组功能相关的蛋白质或酶。

表 1. 其他血管新生相关 miRNA 及其功能

Table 1. Other angiogenesis-related miRNAs and their functions

microRNA	血管新生相关功能	作用靶点	参考文献
促进血管新生			
miR-130a	调节内皮细胞促血管生成表型	GAX, HOXA5	[19]
miR-210	促进内皮细胞迁移和毛细血管样结构	Ephrin-A3, HIF-1 α	[20]
miR-378	促进血管新生	SuFu, Fus-1	[21]
miR-296	促进内皮细胞迁移和管腔形成	HGS	[22]
miR-23/27	促进血管出芽和黄斑血管新生	Sprouty2, Sema6A	[23]
抑制血管新生			
miR-17/20	抑制血管新生	Jak1	[24]
miR-21	抑制细胞增殖、迁移、管腔形成	RHoB	[25]
miR-221/222	抑制内皮细胞迁移, 增殖	c-kit, eNOS	[26]
miR-503	抑制血管新生	cdc25A, CCNE1	[27]

3.1 miR-17 ~ 92/106b ~ 25/106a ~ 363 基因簇简介

miR-17 ~ 92 就是一个典型的多顺反子 miRNA 基因簇, 在哺乳动物漫长的进化过程中, miRNA 的某一编码基因经历一系列的扩增突变、丢失, 导致一个 miRNA 基因簇可能存在不同的旁系同源序列。miR-17 ~ 92 在哺乳动物中的旁系同源序列分别是 miR-106b ~ 25 簇和 miR-106a ~ 363 簇。miR-17 ~ 92 和 miR-106b ~ 25 在很多组织和不同类型的细胞中都有丰富的表达, 而 miR-106a ~ 363 在已检测的样本中只有微量的表达或者不表达^[28]。

miRNA 在识别其靶基因时, 最重要的就是种子区序列 (seed region, 即 miRNA 5' 端第 2 至第 8 个核苷酸) 的识别, 具有相同种子区序列的 miRNA 可能会识别相同的靶基因。根据 miR-17 ~ 92 簇、miR-106b ~ 25 簇及 miR-106a ~ 363 簇三个基因簇种子区序列的不同, 可将其编码的所有成熟 miRNA 划分为四个家族, 分别为: miR-17 家族, 包括 miR-17, miR-20a/b, miR-106a/b 和 miR-93; miR-18 家族, 包括 miR-18a/b; miR-19 家族, 包括 miR-19a/b; 以及 miR-25 家族, 包括 miR-25, miR-92a 及 miR-363^[28]。

3.2 miR-17 ~ 92 基因簇与血管新生

miR-17 ~ 92 基因簇通过调控细胞周期促进细胞增殖、抑制抑癌基因等途径促进肿瘤的发生。除此以外, miR-17 ~ 92 簇还会参与肿瘤血管新生的形成, Dews 等^[29]发现, miR-17 ~ 92 簇下调肿瘤细胞中的血管新生相关蛋白 (Tsp1) 和结缔组织生长因子 (CTGF) 的表达, 并以旁分泌的方式作用于邻近的内皮细胞, 从而促进肿瘤血管的新生。Bonauer 等^[30]对 miRNA 表达谱分析后得出, miR-17 ~ 92 簇在人内皮细胞中有表达, 尤其以 miR-92a 为著。体

内外试验中过表达 miR-92a 均可抑制血管新生和管腔形成。荧光素酶报告基因法证实, 整合蛋白 5 (ITGA5) 是 miR-92a 的直接靶点, 因此推断 miR-92a 是通过抑制 ITGA5 而发挥其抑制血管新生的作用的。

3.3 miR-106b ~ 25 簇的生物学功能

近年来, miR-17 ~ 92 基因簇的生物学功能逐渐被人们认知, 而其旁系同源的 miR-106b ~ 25 基因簇的作用也在被陆续地揭晓。

Petrocca 等^[31]的研究发现在胃肠道肿瘤中 E2F1 被异常激活, 导致 miR-106b ~ 25 簇高表达, 而其高表达会下调 CDKN1A (p21Waf1/Cip1) 和 BCL2L11 (Bim) 两种蛋白的表达, 最终削弱 TGF β 介导的肿瘤抑制效应, 有趣的是 miR-17 ~ 92 簇也协同参与这一过程; 另外, Ventura 等^[28]则发现, 敲除 miR-17 ~ 92 簇可以导致新生儿死亡或者心脏、肺和 B 细胞的发育缺陷; 而同时敲除 miR-17 ~ 92 簇和 miR-106b ~ 25 簇则会加重心脏发育缺陷、增加凋亡并且导致妊娠中期胚胎死亡, 提示旁系同源系列有协同的生物学功能。Kim 等^[32]通过生物信息学预测及荧光素酶报告基因法证实, 在神经细胞系 Neuro2a 细胞中 miR-106b 直接靶于 Abca1 基因而下调其表达, 而 ABCA1 在胆固醇转运至脂蛋白 apoA-I 的途径中发挥重要作用, 因此 ABCA1 蛋白水平的下调会导致胆固醇在细胞间的沉积, 诱使淀粉样物质 β 的清除下降而加重 Alzheimer 病情。Wu 等^[33]发现 miR-106b、miR-93 在小鼠成熟脂肪细胞中表达显著高于脂肪前体细胞, 同时应用反义寡核苷酸敲除 miR-106b 和 miR-93 可促使脂肪前体细胞向褐色脂肪细胞分化。鉴于 miR-17 ~ 92 簇在血管新生方面所发挥的重要作用, 可以推测 miR-106b ~ 25 簇在血管新生中亦发挥举足轻重的作用,

这一设想被 Semo 等^[34]证实,他们将 miR-106b ~ 25 簇敲除的小鼠诱导后肢缺血,结果表明基因敲除组的后肢血管新生功能较对照组受损,通过注射编码 miR-106b ~ 25 簇的质粒后血流灌注较对照组明显改善;体外研究表明,miR-106b ~ 25 簇敲除后骨髓来源的间充质细胞更容易凋亡,管腔形成能力及旁分泌能力均下降,提示 miR-106b ~ 25 簇在骨髓间充质细胞

中有促进血管新生的作用。但是,我们实验组在前期的研究中发现,在内皮细胞中过表达 miR-106b,会导致管腔形成能力下降,同时 STAT3 在 mRNA 水平与蛋白水平均下降,VEGFA 水平却无变化,提示 miR-106b 在不同细胞中对血管新生可能发挥不同的作用^[35]。目前所发现 miR-106b ~ 25 簇其他生物学功能请参见表 2。

表 2. 目前已知的 miR-106b ~ 25 簇生物学功能

Table 2. Currently known biological functions of miR-106b ~ 25 cluster

microRNA	生物学功能	作用靶点	参考文献
miR-93	抑制糖尿病微血管并发症	VEGF	[16]
miR-106b ~ 25	抑制细胞周期停滞,抑制细胞凋亡	p21, Bim	[31]
miR-106b	干扰胆固醇代谢,促进淀粉样物质沉积	ABCA1	[32]
miR-106b, 93	抑制褐色脂肪细胞分化		[33]
miR-106b ~ 25	促进管腔形成,抑制细胞凋亡	PTEN	[34]
miR-25	抑制细胞周期停滞,促进细胞增殖	p57Kip2	[36]
miR-106b	抑制细胞周期停止,抑制细胞凋亡	E2F1, E2F3	[37]
miR-106b	促进 p73 表达上调,诱导 CLL 细胞凋亡	ITCH	[38]
miR-106b	保持肺泡上皮细胞在发育中的结构稳定	MAPK14, STAT3	[39]
miR-93	促进胚胎干细胞的分化	STAT3	[40]

miR-17 ~ 92 簇和 miR-106b ~ 25 簇序列极相似,组织分布及表达水平也相似,同时 miR-17 ~ 92 簇与 miR-106b ~ 25 簇在肿瘤中共享相当一部分靶点。目前的众多研究已证实 miR-17 ~ 92 无论在肿瘤相关血管新生,还是在动脉粥样硬化相关血管新生领域中,都占据重要的位置。作为其旁系同源序列,miR-106b ~ 25 簇的生物学功能也在陆续被挖掘,我们相信同样会有越来越多的文献验证 miR-106b ~ 25 簇在血管新生中的作用。

4 小结

早在十九世纪,就有学者发现动脉粥样硬化中存在血管新生,并且提出二者是相关的。新生血管通过脂质及炎症细胞的渗漏而促进斑块脂池的增大,最终可能引发斑块破裂。近年来,miRNA 的研究越发地让我们认识到,miRNA 不仅在肿瘤疾病领域,在动脉粥样硬化领域中也发挥着极其重要的作用。体内及体外研究充分说明 miR-17 ~ 92 基因簇与动脉粥样硬化相关的血管新生关系密切,并有越来越多的证据表明其旁系同源序列 miR-106b ~ 25 基因簇在动脉粥样硬化疾病也发挥着重要作用,目前我们对 miRNA 世界的了解还只是冰山一角,相信在不远的将来会有更多 miRNA 的功能及其作用模式会被验证,这会为我们在临床上治疗动脉粥样硬

化疾病提供新的线索和靶点。

[参考文献]

- [1] 吴平生, 刘城, 陶宇. 促血管新生治疗的现状与展望[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2010, 2(3): 9-11.
- [2] Cockerill GW, Gamble JR, Vadas MA. Angiogenesis: models and modulators[J]. Int Rev Cytol, 1995, 159: 113-160.
- [3] O'Brien ER, Garvin MR, Dev R, et al. Angiogenesis in Human Coronary Atherosclerotic Plaques[J]. Am J Pathol, 1994, 145(4): 883-894.
- [4] Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Atherosclerotic Plaque Progression and Vulnerability to Rupture[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(10): 2054-061.
- [5] Moulton KS, Heller E, Konerding MA, et al. Angiogenesis Inhibitors Endostatin or TNP-470 Reduce Intimal Neovascularization and Plaque Growth in Apolipoprotein E - Deficient Mice[J]. Circulation, 1999, 99(13): 1726-732.
- [6] 张军平, 许颖智, 李明, 等. 血管新生在实验性动脉粥样硬化斑块中的地位与评价[J]. 实验动物科学, 2009, 26(5): 21-25.
- [7] 任景怡, 许宁, 韩冠平, 等. microRNAs 参与动脉粥样硬化疾病的发生[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2011, 27(6): 511-515.
- [8] Yang, WJ, Yang, DD, Na, S, et al. Dicer is required for embryonic angiogenesis during mouse development [J]. J BIOL CHEM, 2005, 280(10): 9330-335.
- [9] Suarez Y, Fernandez-Hernando C, Yu J, et al. Dicer-dependent endothelial microRNAs are necessary for postnatal angiogenesis[J]. P NATL ACAD SCI USA, 2008, 105(37): 14082-087.
- [10] Fish JE, Santoro MM, Morton SU, et al. miR-126 regulates angio-

- genic signaling and vascular integrity [J]. *Dev Cell*, 2008, 15 (2): 272-284.
- [11] Liu B, Peng XC, Zheng XL, et al. MiR-126 restoration down-regulate VEGF and inhibit the growth of lung cancer cell lines in vitro and in vivo[J]. *Lung Cancer*, 2009, 66(2): 169-175.
- [12] Hu J, Cheng YX, Li YZ, et al. microRNA-128 plays a critical role in human non-small cell lung cancer tumorigenesis, angiogenesis and lymphangiogenesis by directly targeting vascular endothelial growth factor-C [J]. *EUR J CANCER*, 2014, 50 (13): 2 336-350.
- [13] Sun CY, She XM, Qin Y, et al. miR-15a and miR-16 affect the angiogenesis of multiple myeloma by targeting VEGF[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(2): 426-435.
- [14] Hua Z, Lv Q, Ye W, et al. MiRNA-Directed Regulation of VEGF and Other Angiogenic Factors under Hypoxia [J]. *PLoS One*, 2006, 1(1): e116.
- [15] Ling S, Birnbaum Y, Nanhwan MK, et al. MicroRNA-dependent cross-talk between VEGF and HIF1 α in the diabetic retina[J]. *Cell Signal*, 2013, 25(12): 2 840-807.
- [16] Long J, Wang Y, Wang W, et al. Identification of microRNA-93 as a novel regulator of vascular endothelial growth factor in hyperglycemic conditions[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(30): 23 457-465.
- [17] Chan LS, Yue PY, Wong YY, et al. MicroRNA-15b contributes to ginsenoside-Rg1 -induced angiogenesis through increased expression of VEGFR-2. *Biochem Pharmacol* [J]. 2013, 86 (3): 392-400.
- [18] Weng C, Dong H, Chen G, et al. miR-409-3p inhibits HT1080 cell proliferation, vascularization and metastasis by targeting angiogenin[J]. *Cancer Lett*, 2012, 323 (2): 171-179.
- [19] Chen Y, Gorski DH. Regulation of angiogenesis through a microRNA(miR-130a) that downregulates antiangiogenic homeobox genes GAX and HOXA5[J]. *Blood*, 2008, 111(3): 1 217-226.
- [20] Hu S, Huang M, Li Z, et al. MicroRNA-210 as a novel therapy for treatment of ischemic heart disease[J]. *Circulation*, 2010, 122(11 Suppl): 124-131.
- [21] Lee DY, Deng Z, Wang CH, et al. MicroRNA-378 promotes cell survival, tumor growth, and angiogenesis by targeting SuFu and Fus-1 expression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(51): 20 350-355.
- [22] Wurdinger T, Tannous BA, Saydam O, et al. miR-296 regulates growth factor receptor overexpression in angiogenic endothelial cells [J]. *Cancer Cell*, 2008, 14(5): 382-393.
- [23] Zhou Q, Gallagher R, Ufret-Vincenty R, et al. Regulation of angiogenesis and choroidal neovascularization by members of microRNA-23? 27? 24 clusters[J]. *Proc NATL ACAD SCI USA*, 2011, 108(20): 8 287-292.
- [24] Doebele C, Bonauer A, Fischer A, et al. Members of the microRNA-17-92 cluster exhibit a cell-intrinsic, antiangiogenic function in endothelial cells[J]. *Blood*, 2010, 115(23): 4 944-950.
- [25] Sabatel C, Malvaux L, Bovy N, et al. MicroRNA-21 exhibits anti-angiogenic function by targeting RhoB expression in endothelial cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16 979.
- [26] Dentelli P, Rosso A, Orso F, et al. microRNA-222 controls neovascularization by regulating signal transducer and activator of transcription 5A expression[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(8): 1 562-568.
- [27] Caporali A, Meloni M, V? llenkle C, et al. Deregulation of microRNA-503 contributes to diabetes mellitus-induced impairment of endothelial function and reparative angiogenesis after limb ischemia [J]. *Circulation*, 2011, 123(3): 282-291.
- [28] Ventura A, Young AG, Winslow MM, et al. Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17-92 family of miRNA clusters[J]. *Cell*, 2008, 132 (5): 875-886.
- [29] Dews M, Homayouni A, Yu D, et al. Augmentation of tumor angiogenesis by a Myc-activated microRNA cluster [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(9): 1 060-065.
- [30] Bonauer A, Carmona G, Iwasaki M, et al. MicroRNA-92a controls angiogenesis and functional recovery of ischemic tissues in mice [J]. *Science*, 2009, 324(5 935): 1 710-713.
- [31] Petrocca F, Visone R, Onelli MR, et al. E2F1-regulated microRNAs impair TGF β -dependent cell-cycle arrest and apoptosis in gastric cancer[J]. *Cancer Cell*, 2008, 13(3): 272-286.
- [32] Kim J, Yoon H, Ramirez C. m, et al. miR-106b impairs cholesterol efflux and increases A β levels by repressing ABCA1 expression [J]. *Exp Neurol*, 2012, 235(2): 476-483.
- [33] Wu Y, Zuo J, Zhang Y, et al. Identification of miR-106b-93 as a negative regulator of brown adipocyte differentiation[J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2013, 438(4): 575-580.
- [34] Semo J, Sharif R, Afek A, et al. The 106b? 25 microRNA cluster is essential for neovascularization after hindlimb ischaemia in mice [J]. *Eur Heart J*, 2014, 35(45): 3 212-223.
- [35] 艾丽菲热·买买提, 陈红, 任景怡. 微小 RNA-106b 参与内皮细胞介导的血管新生工作机制研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2014, 16(6): 633-636.
- [36] Kim YK, Yu J, Han TS, et al. Functional links between clustered microRNAs: suppression of cell-cycle inhibitors by microRNA clusters in gastric cancer [J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(5): 1 672-681.
- [37] Trompeter HI, Abbad H, Iwaniuk KM, et al. MicroRNAs miR-17, miR-20a, and miR-106b act in concert to modulate E2F activity on cell cycle arrest during neuronal lineage differentiation of USSC [J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e16 138.
- [38] Sampath D, Calin GA, Puduvali VK, et al. Specific activation of microRNA106b enables the p73 apoptotic response in chronic lymphocytic leukemia by targeting the ubiquitin ligase Itch for degradation[J]. *Blood*, 2009, 113(16): 3 744-753.
- [39] Carraro G, El-Hashash A, Guidolin D, et al. MiR-17 family of microRNAs controls FGF10-mediated embryonic lung epithelial branching morphogenesis through MAPK14 and STAT3 regulation of E-Cadherin distribution[J]. *Dev Biol*, 2009, 333(2): 238-250.
- [40] Foshay KM, Gallicano GI. miR-17 family miRNAs are expressed during early mammalian development and regulate stem cell differentiation[J]. *Dev Biol*, 2009, 326(2): 431-443.