

microRNA-124-2 在 CD137-CD137L 信号通路调控小鼠血管平滑肌细胞活化 T 细胞核因子 C1 表达中的作用

刘阳, 严金川, 仲威, 徐良洁, 梁潇, 王中群

(江苏大学附属医院心内科, 江苏省镇江市 212001)

[关键词] 微小 RNA; CD137-CD137L; 血管平滑肌细胞; 活化 T 细胞核因子 C1

[摘要] 目的 探讨 microRNA-124-2 在 CD137-CD137L 信号通路调控小鼠血管平滑肌细胞(VSMC)活化 T 细胞核因子 C1(NFATc1)表达中的作用。方法 小鼠血管平滑肌细胞采用组织贴块法原代培养,细胞中 microRNA-124-2 表达采用 RT-PCR 法检测;应用脂质体转染技术将 microRNA-124-2 的模拟物(mimic)和抑制物(inhibitor)转染至小鼠 VSMC 内,细胞中 NFATc1 mRNA 及蛋白表达采用实时荧光定量 PCR 及 Western blot 方法检测;应用双荧光素酶报告检测 microRNA-124-2 对 NFATc1-3'UTR 的作用。结果 anti-CD137 特异性刺激 CD137-CD137L 轴后,平滑肌细胞 microRNA-124-2 表达较对照组降低(0.29 ± 0.13 比 1.00 ± 0.00 , $P < 0.05$),而 anti-CD137L 特异性阻断 CD137-CD137L 轴后,细胞中 microRNA-124-2 表达较对照组增加(3.42 ± 0.17 比 1.00 ± 0.00 , $P < 0.05$);与阴性对照组相比,升高或下调 microRNA-124-2 的表达均可逆转 CD137-CD137L 轴对 NFATc1 的作用;双荧光素酶报告系统显示 microRNA-124-2 对 NFATc1-3'UTR 有抑制作用(0.283 ± 0.011 比 1.294 ± 0.143 , $P < 0.001$)。结论 CD137-CD137L 受体-配体轴可以通过调控 microRNA-124-2 进而影响 NFATc1 的表达。

[中图分类号] R392

[文献标识码] A

The Function of microRNA-124-2 on CD137-CD137L Interaction Regulating Nuclear Factor of Activated T Cells C1 in Mouse Vascular Smooth Muscle Cells

LIU Yang, YAN Jin-Chuan, ZHONG Wei, XU Liang-Jie, LIANG Xiao, and WANG Zhong-Qun

(Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

[KEY WORDS] microRNA; CD137-CD137L; Vascular Smooth Muscle Cell; NFATc1

[ABSTRACT] **Aim** To study the function of microRNA-124-2 in the process of which CD137-CD137L interaction regulates the NFATc1 in mouse vascular smooth muscle cells. **Methods** With the stimulation/inhibition of CD137-CD137L axis by anti-CD137/anti-CD137L, RT-PCR technique was used to detect the expression of microRNA-124-2 in mouse vessel smooth muscle cells(VSMC). Liposomal transfection was used to transfect microRNA-124-2 mimic and inhibitor into mouse VSMC, then the change of NFATc1 mRNA and protein expressions was analyzed by qRT-PCR and Western blot after stimulated with anti-CD137/anti-CD137L in the corresponding group. Luciferase Reporter Assay system was used to validate the role of microRNA-124-2 for NFATc1-3'UTR. **Results** Compared with the control group, the expression of microRNA-124-2 had reduced after stimulated by anti-CD137 (0.29 ± 0.13 vs 1.00 ± 0.00 , $P < 0.05$), and increased by anti-CD137L (3.42 ± 0.17 vs 1.00 ± 0.00 , $P < 0.05$). The regulation of CD137-CD137L axis to NFATc1 could be reversed by transfected with mimic or inhibitor. Dual-Luciferase activity assay showed that microRNA-124-2 had an inhibition on NFATc1-3'UTR (0.283 ± 0.011 vs 1.294 ± 0.143 , $P < 0.001$). **Conclusions** microRNA-124-2 could be regulated by CD137-CD137L interaction and thus affect NFATc1's expression.

[收稿日期] 2015-02-02

[修回日期] 2015-04-14

[基金项目] 国家自然科学基金(81170279、81370409),江苏省六大人才高峰项目(W5-074),江苏省 333 高层次人才项目(BRA2014162),江苏省科教兴卫工程(LJ201116),镇江市心血管病重点实验室项目(SS2012002)

[作者简介] 刘阳,硕士研究生,主要从事动脉粥样硬化研究。通讯作者严金川,博士,教授,博士研究生导师,主要从事急性冠状动脉综合征基础与临床研究,E-mail 为 yanjinchuan@hotmail.com。王中群,博士,讲师,硕士研究生导师,主要从事动脉粥样硬化研究。

微小 RNA (microRNA, miRNA, miR) 是在真核生物中发现的一类具有调控功能的内源性非编码 RNA, 大小长约 18 ~ 25 个核苷酸, 通过形成沉默复合体以碱基互补配对的方式识别并降解靶 mRNA 或是阻断其翻译, 从而参与各种调控途径, 在细胞增殖、凋亡、炎症反应等方面发挥重要作用^[14]。我们前期研究显示活化 T 细胞核因子 C1 (NFATc1) 是 CD137-CD137L 的下游分子^[5], 但 CD137 分子信号如何调控 NFATc1 尚不清楚, 是否存在中间环节有待进一步阐明。生物信息学分析显示 NFATc1 与 miR-124-2 之间存在重要的信息关联, NFATc1 可能是 miR-124-2 的下游靶点, 在诱导性关节炎的小鼠体内发现 miR-124 能明显抑制 NFATc1 的表达^[6], 同样 miR-124 能通过抑制 NFATc1 的表达调节小鼠骨髓巨噬细胞向破骨细胞分化^[7], 这些研究均提示, miR-124 是 NFATc1 的上游分子。然而, CD137-CD137L 轴是否通过 miR-124 调节 NFATc1 的表达而影响下游事件的发生目前尚不清楚。因此, 本实验以小鼠平滑肌细胞为模型探讨 CD137 分子信号是否通过 miR-124 调控 NFATc1 的表达。

1 材料和方法

1.1 主要材料

6 ~ 8 周龄 C57BL/6J 小鼠, 体重 20 g 左右, 由江苏大学动物中心提供, 胎牛血清 (FBS)、胰蛋白酶、Opti-MEM 培养基购自 Gibco 公司; DMEM 培养基购自 Hyclone 公司; anti-CD137 抗体购自 R&D 公司, anti-CD137L 抗体购自 Biologend 公司; NFATc1 多克隆抗体购自 Santa Cruz Biotech 公司; 肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 及 β -actin 抗体购自 Peprotech 公司; Lipofectamine 2000 转染试剂购自 Invitrogen 公司; 逆转录试剂盒及荧光定量试剂盒均购自 TaKaRa 公司, Dual-Luciferase Reporter Assay System 试剂盒购自 Promega 公司; RT-PCR 上下游引物由上海生工生物公司合成; miR-124-2 mimic 及 inhibitor 由上海吉玛公司合成; 转染试剂 FuGENE[®] HD 购买于 Roche 公司; miR-124-2 及 miR-124-2-mut 过表达载体由深圳华安平康公司合成; 抗兔 HRP 标记的二抗购自康为试剂公司; 八连管购自 Thermo 公司, 细胞培养瓶、培养板及培养皿均购自 Corning 公司。

1.2 血管平滑肌细胞分离、培养及鉴定

取 C57BL/6J 小鼠 2 ~ 3 只, 用颈椎脱臼法处死, 75% 乙醇浸泡消毒 3 min, 固定后剪开胸腹部, 分离并剪下胸主动脉段, PBS 清洗后于 II 型胶原酶中

37°C 浸泡 7 min, 剥离血管外膜后将血管剪成约 1 mm² 大小碎片。将组织块转入并均匀贴壁于 25 cm² 细胞培养瓶底面, 加入 5 mL 含 20% FBS 的 DMEM 培养基, 横置 40 min 后翻转, 置于 37°C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养, 待细胞从组织块周围游离出后推掉组织块, 每隔 3 天更换培养基。待细胞相互汇合, 铺满瓶底后, 消化传代, 免疫荧光染色法鉴定其纯度, 选取第 3 ~ 8 代细胞进行实验。

1.3 小鼠血管平滑肌细胞 CD137-CD137L 轴的激活及抑制

小鼠血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 以每孔 5×10^5 个细胞接种于 6 孔板中培养, 待其贴壁后, 饥饿 24 h, 用含 10% FBS + TNF- α (终浓度 10 μ g/L) 的 DMEM 培养基培养细胞 24 h 后, 随机分为 3 组: (1) 对照组: 无血清 DMEM 处理; (2) anti-CD137 组: 用溶于 DMEM 的刺激型 anti-CD137 (终浓度 10 mg/L) 处理; (3) anti-CD137L 组: 用溶于 DMEM 的抑制型 anti-CD137L (终浓度 10 mg/L) 处理。各组加入不同试剂后孵育, 12 h 及 24 h 后收获细胞分别用于后续 mRNA 水平及蛋白水平的检测。

1.4 小鼠血管平滑肌细胞 mimic 及 inhibitor 的转染

将小鼠 VSMC 以每孔 5×10^5 个接种于 6 孔板中培养, 待其贴壁后细胞密度长至 80%, 开始执行转染。所用 mimic、inhibitor 及其各自阴性对照 (negative control, NC) 均由上海吉玛基因合成, 序列如下, mmu-miR-124-2 mimic: 5'-UAAGGCACGCG-GUGAAUGCC-3', miRNA mimic 阴性对照: 5'-UU-GUACUACACAAAAGUACUG-3', mmu-miR-124-2 inhibitor: 5'-GGCAUUCACCGCGUGCCUUA-3', miRNA inhibitor 阴性对照: 5'-CAGUACUUUGUGUAGUACAA-3'。用 50 μ L Opti-MEM 培养基稀释 5 μ L miRNA mimic (终浓度 50 nmol/L), 轻轻混匀, 室温孵育 5 min; 用 50 μ L Opti-MEM 培养基稀释 5 μ L lipo2000, 轻轻混匀并室温孵育 5 min 后, 将上述两液轻轻混匀, 室温孵育 20 min。用 50 μ L Opti-MEM 培养基稀释 10 μ L miRNA inhibitor (终浓度 100 nmol/L), 轻轻混匀, 室温孵育 5 min; 用 50 μ L Opti-MEM 培养基稀释 5 μ L lipo2000, 轻轻混匀并室温孵育 5 min 后, 将上述两液轻轻混匀, 室温孵育 20 min。将 miRNA mimic/inhibitor-lipo2000 混合液加入含有细胞以及培养液的培养孔中, 轻轻混匀后置于 CO₂ 培养箱中。培养 6 h 后, 将含有混合液的培养基移去, 更换新鲜培养基, 并进行后续干预处理。

1.5 实时荧光定量 PCR

按实时荧光定量 PCR (Quantitative Real-time PCR, qPCR) 试剂盒 (RR420) 提供的方法进行, miR-124-2 上游引物: 5'-TAAGGCACGCGGTGAATGC-3', 下游引物为通用引物 (购自 TAKARA 公司); NFATc1 上游引物: 5'-GAATAACCAGCCCCGTCCAA-3', 下游引物: 5'-GCTCATTGGTCCACAGGTCA-3', 使用 RNU6 作为内参。RT-PCR 扩增条件: 95°C 预变性 30 s, 95°C 5 s, 57°C 30 s, 95°C 10 s, 57°C 5 s, 40 个循环。结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析。

1.6 Western blot

分组收集上述细胞, 裂解后提取总蛋白, 取 100 μg 上样, 经 12% SDS-PAGE 分离蛋白, 再以 350 mA 恒流转印至 PVDF 膜 2 h; 膜置于含 5% 脱脂牛奶的洗膜缓冲液 (TBST) 室温封闭 1 h。再分别用相应的兔抗鼠一抗 (1:500) 和 β -actin 抗体 (1:5000), 室温振荡 1 h 后, 4°C 孵育过夜。次日用 TBST 洗涤 3 次, 每次 15 min; 再加入羊抗兔二抗 (1:1000), 室温孵育 1 h 后, TBST 洗涤 3 次, 每次 15 min; 取试剂盒中的试剂 (A 液: B 液 = 1:1) 混匀后, 对 PVDF 膜封闭 2 min。ECL 显色系统定影显色, 观察条带。

1.7 双荧光素酶报告基因检测

胰酶消化 HEK 293T 细胞, 计数, 每 1/96 孔种 2×10^4 (100 μL) 细胞, 将处理好的细胞均匀加于各孔中, 置于 37°C、5% CO_2 培养箱培养约 24 h。按每 96 孔 0.2 μg 质粒 DNA, 0.3 μL FugeneHD 的用量, 一组实验三个复孔, 在 PCR 管中依次加入 0.45 μg miRNA 过表达载体, miRNA 空载体作为对照。0.15 μg sensor 报告基因, 30 μL Opti-MEM 培养稀释质粒, 最后加入 0.9 μL FugeneHD, 混匀后室温静置 15 min。将 miRNA 过表达载体及空载体与靶基因 NFATc1 3'-UTR 荧光素酶报告载体瞬时共转染 293T 细胞, 转染完成 48 h 后, 采用 Dual-Luciferase Reporter Assay 试剂盒进行检测, 计算相对荧光素酶活性。

1.8 统计学分析

应用 SPSS 19.0 统计软件处理, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组比较采用单因素方差分析及 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生物学软件预测

通过 Targetscan 网站 (<http://www.targetscan.org>) 对小鼠 miR-124-2 与 NFATc1 进行作用位点预测。分析结果显示有 3 个可能的作用靶点, 位置分

别位于 NFATc1 3'UTR 的 369~376, 562~568, 1358~1365 位点处, 其中数据显示 369~376 处作用位点的结合可能性最高。

2.2 分别刺激和阻断 CD137-CD137L 轴对小鼠平滑肌细胞 miR-124-2 mRNA 表达的影响

anti-CD137 (终浓度 10 mg/L) 刺激 CD137-CD137L 轴后, 平滑肌细胞 miR-124-2 mRNA 的表达较对照组低, 呈时间依赖性, 以 12 h 作用最明显 (0.29 ± 0.13 比 1.00 ± 0.00 , $P < 0.05$, $n = 3$)。而应用 anti-CD137L (终浓度 10 mg/L) 抑制该轴后, miR-124-2 mRNA 表达明显上调, 以 12 h 最佳 (3.42 ± 0.17 比 1.00 ± 0.00 , $P < 0.05$, $n = 3$; 图 1)。

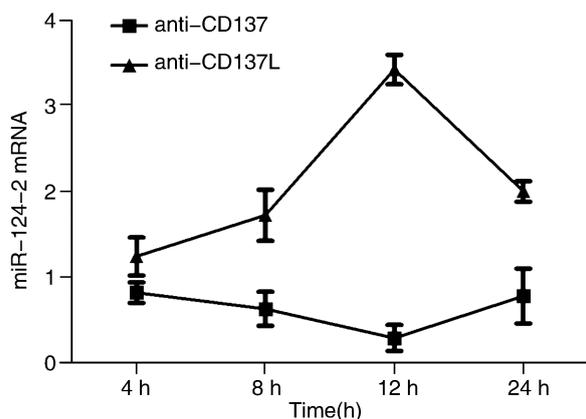


图 1. anti-CD137 (10 mg/L) 和 anti-CD137L (10 mg/L) 处理 VSMC 后 miRNA-124-2 表达的时效性 ($n = 3$)

Figure 1. The expression of miR-124-2 after stimulated by anti-CD137 (10 mg/L) and anti-CD137L (10 mg/L) for different time ($n = 3$)

2.3 CD137-CD137L 调控小鼠血管平滑肌细胞中 NFATc1 的表达

与对照组相比, 激活或抑制 CD137-CD137L 轴后, VSMC 中 NFATc1 的 mRNA 水平有差异, 但差异无统计学意义; 而用刺激型 anti-CD137 特异性激活 CD137 轴后 NFATc1 的蛋白表达升高, 抑制型 anti-CD137L 特异性阻断 CD137 轴后 NFATc1 的蛋白表达降低 ($P < 0.05$; 图 2)。

2.4 阻断 miRNA-124-2 后对 CD137-CD137L 调控 NFATc1 表达的影响

与对照组相比, 转染 mimic 过表达 miR-124-2 后, anti-CD137 对 NFATc1 mRNA (0.37 ± 0.10 比 1.00 ± 0.00 , $n = 3$) 及蛋白的刺激作用受到抑制 ($P < 0.05$), 转染 inhibitor 阻断 miR-124-2 后, anti-CD137L 对 NFATc1 mRNA (1.94 ± 0.10 比 1.00 ± 0.00 , $n = 3$) 及蛋白的抑制作用也被削弱 ($P <$

0.05), 该现象在 mRNA(图 3)及蛋白(图 4)水平的表达相一致。

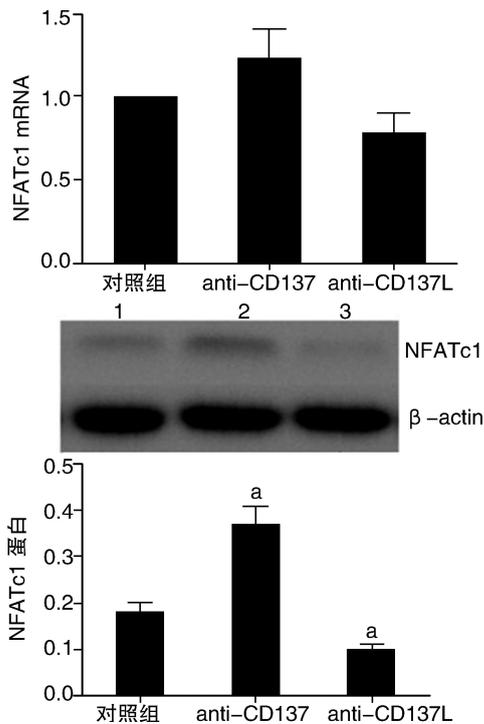


图 2. 激活或抑制 CD137-CD137L 轴后对 NFATc1 的 mRNA 及蛋白表达的影响($n=3$) 1 为对照组, 2 为 anti-CD137 组, 3 为 anti-CD137L 组。a 为 $P<0.05$, 与对照组相比。

Figure 2. The expression of NFATc1 mRNA and protein after the stimulation and inhibition of CD137-CD137L axis($n=3$)

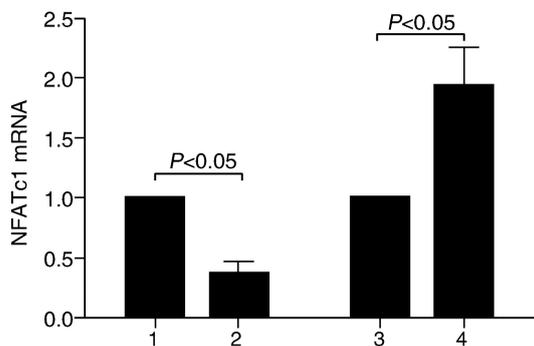


图 3. miRNA-124-2 对 CD137-CD137L 轴调控小鼠血管平滑肌细胞中 NFATc1 mRNA 表达的影响($n=3$) 1 为 anti-CD137 + mimic-NC, 2 为 anti-CD137 + mimic, 3 为 anti-CD137L + inhibitor-NC, 4 为 anti-CD137L + inhibitor。

Figure 3. The expressions of NFATc1 mRNA stimulated by anti-CD137 and anti-CD137L after transfected with mimic/mimic-NC, inhibitor/inhibitor-NC($n=3$)

2.5 双荧光素酶报告验证 miR-124-2 对 NFATc1-3'非翻译区的作用

结果显示, 野生型 miR-124-2 表达载体与含

NFATc1 基因 3'UTR 片段的双荧光素酶报告基因共转染相对于阴性对照(不含 miRNA 的空载体与含 NFATc1 基因 3'UTR 片段的双荧光素酶报告基因共转染)有极显著性差异(0.283 ± 0.011 比 1.294 ± 0.143 , $P<0.001$, $n=3$), 而突变型 miR-124-2-mut 与阴性对照间则无明显差异, 提示 miR-124-2 在对应位点可与 NFATc1 3'UTR 相结合(图 5)。

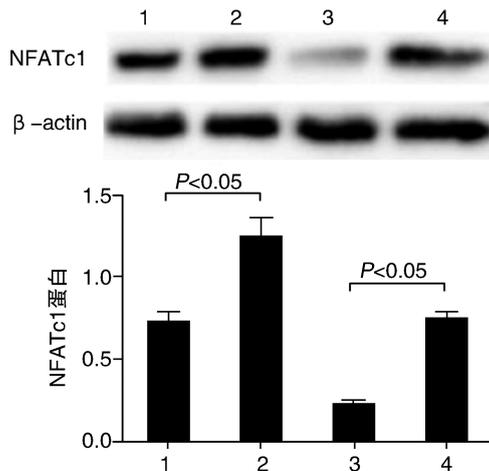


图 4. miRNA-124-2 对 CD137-CD137L 轴调控小鼠血管平滑肌细胞中 NFATc1 蛋白表达的影响($n=3$) 1 为 anti-CD137 + mimic, 2 为 anti-CD137 + mimic-NC, 3 为 anti-CD137L + inhibitor-NC, 4 为 anti-CD137L + inhibitor。

Figure 4. The expressions of NFATc1 protein stimulated by anti-CD137 and anti-CD137L after transfected with mimic/mimic-NC, inhibitor/inhibitor-NC($n=3$)

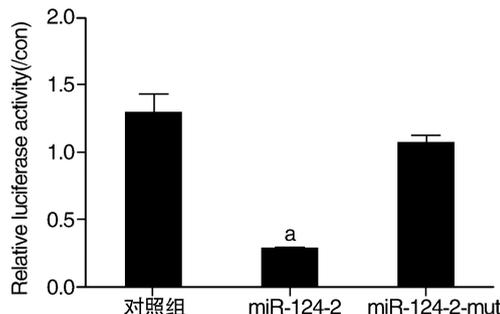
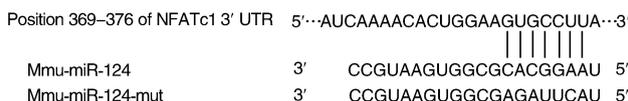


图 5. 双荧光素酶报告基因检测 miRNA-124-2 对 NFATc1 3'非翻译区作用的结果 上图为 miR-124-2 与 NFATc1 3'UTR 的强结合位点及 miR-124-2-mut 序列; 下图为对照组、含 miR-124-2 表达载体组、miR-124-2-mut 突变组的双荧光酶活性($n=3$)。a 为 $P<0.05$, 与对照组相比。

Figure 5. The result of luciferase assay on miR-124 affecting NFATc1-3'UTR($n=3$)

3 讨论

CD137 及其配体 CD137L 是肿瘤坏死因子受体-配体家族中的一员,参与了大多数的免疫调节活动,可介导细胞的活化、迁移、增殖和分化等多种生理过程,在类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等多个系统慢性炎症性疾病的发生、发展中发挥了重要作用^[8-9]。我们前期的研究表明,急性心肌梗死患者外周血中的 sCD137 表达显著上升^[10],提示 CD137 可能是冠状动脉疾病活动的一个标志物。我们在 ApoE^{-/-} 小鼠构建的动物模型中也证实,刺激 CD137-CD137L 受体-配体轴,可使小鼠的颈动脉斑块更为显著,动脉粥样硬化程度加重,并且通过体外细胞实验证实,NFATc1 是 CD137-CD137L 轴调控的下游分子^[5]。

NFATc1 也称 NF-AT2,是一类至关重要的核转录因子,调节多种细胞因子的转录水平,参与免疫应答调节、T 淋巴细胞生长分化。Karpurapu 等^[11] 人研究发现,NFAT 特别是 NFATc1 参与了血管平滑肌细胞的增殖和迁移过程,血管平滑肌细胞生长增殖是导致血管壁增厚进而形成动脉粥样硬化的主要病理过程^[12]。体内实验显示 ApoE^{-/-} 小鼠腹腔注射刺激型 anti-CD137 后,斑块及脾脏淋巴细胞中 NFATc1 蛋白表达明显上升,而抑制型 anti-CD137L 干预后,斑块及脾脏淋巴细胞中 NFATc1 蛋白表达则受到抑制^[5],提示 NFATc1 是 CD137 信号通路的下游分子。但 CD137 分子信号如何调控 NFATc1 尚不清楚。生物信息学显示 NFATc1 可能是 miR-124-2 的下游靶点,在诱导性关节炎的小鼠体内和破骨细胞的分化中均发现 miR-124 能明显抑制 NFATc1 的表达^[6],提示 NFATc1 受 miR-124 的调控。然而,CD137-CD137L 轴是否通过 miR-124 调控 NFATc1 的表达而影响细胞下游事件的发生尚不清楚。本实验我们以小鼠血管平滑肌细胞为模型,在予 TNF- α (10 $\mu\text{g/L}$) 刺激上调 VSMC 表面 CD137 抗原^[13] 的基础上,应用 anti-CD137 刺激或 anti-CD137L 阻断 CD137-CD137L 信号通路,并通过脂质体转染法将 miR-124-2 的类似物 mimic 及抑制物 inhibitor 转染到小鼠 VSMC 中,继而观察 miR-124-2 的表达变化及其在 CD137-CD137L 轴调控下游 NFATc1 的作用。实验结果表明,CD137-CD137L 共刺激信号可以负向调控 miR-124-2 的表达,而 miR-124-2 又对 NFATc1 的蛋白表达有沉默效应,增高或抑制 miR-124-2 的表达都可逆向干预 CD137-CD137L 轴对

NFATc1 的调控。同时,双荧光素酶报告系统显示,miR-124-2 对含 NFATc1-3'UTR 片段的报告基因表达水平有显著抑制作用。这些研究结果提示 miR-124-2 可与 NFATc1 mRNA 形成互补配对使之降解;另一方面,通过与 NFATc1 的 3'非翻译区结合进而影响其 mRNA 翻译的稳定性。因此,miR-124-2 参与了 CD137-CD137L 轴对小鼠血管平滑肌细胞中 NFATc1 表达的调控作用。

[参考文献]

- [1] Ponomarev E D, Veremeyko T, Weiner H L. MicroRNAs are universal regulators of differentiation, activation, and polarization of microglia and macrophages in normal and diseased CNS [J]. *Glia*, 2013, 61(1): 91-103.
- [2] Chen W X, Ren L H, Shi R H. Implication of miRNAs for inflammatory bowel disease treatment: systematic review [J]. *World J Gastrointest Pathophysiol*, 2014, 5(2): 63-70.
- [3] Leopold J A. MicroRNAs Regulate Vascular Medial Calcification [J]. *Cells*, 2014, 3(4): 963-980.
- [4] 吕运成, 杨靖, 张熠, 等. miR-19b 靶向沉默 ABCA1 调控巨噬细胞胆固醇流出 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(5): 448-452.
- [5] 严金川, 杨海兵, 苏红玲, 等. CD137-CD137L 相互作用对小鼠 NFATc1 表达的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28(7): 181-186.
- [6] Lee Y, Kim HJ, Park CK, et al. MicroRNA-124 regulates osteoclast differentiation [J]. *Bone*, 2013, 56(2): 383-389.
- [7] Nakamachi Y, Ohnuma K, Uto K, et al. MicroRNA-124 inhibits the progression of adjuvant-induced arthritis in rats [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, [Epub ahead of print].
- [8] Li Y, Yan J, Wu C, et al. CD137-CD137L interaction regulates atherosclerosis via cyclophilin A in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *PloS one*, 2014, 9(2): e88 563.
- [9] Jung H W, Choi S W, Choi J I, et al. Serum concentrations of soluble 4-1BB and 4-1BB ligand correlated with the disease severity in rheumatoid arthritis [J]. *Exp Mol Med*, 2004, 36(1): 13-22.
- [10] 严金川, 王翠平, 臧璇, 等. 急性冠脉综合征患者血清 TNF 受体-配体家族高表达的临床意义 [J]. *江苏医药*, 2013, 39(2): 163-165.
- [11] Karpurapu M, Wang D, Singh N K, et al. NFATc1 targets cyclin A in the regulation of vascular smooth muscle cell multiplication during restenosis [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(39): 26 577-590.
- [12] 李鑫, 李大勇, 马贤德, 等. 血管内皮细胞损伤和血清内源性代谢物的变化与动脉硬化闭塞症发病的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(6): 541-546.
- [13] Olofsson P S, Soderstrom L A, Wagsater D, et al. CD137 is expressed in human atherosclerosis and promotes development of plaque inflammation in hypercholesterolemic mice [J]. *Circulation*, 2008, 117(10): 1 292-301.

(此文编辑 许雪梅)