

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2019)27-02-0106-08

miR-155 通过调节 Caspase-3 和 FADD 表达影响 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡

曹运长, 邓洁, 文红波, 王兴波, 唐旻

(南华大学生物化学与分子生物学教研室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] miR-155; Caspase-3; FADD; 脐静脉内皮细胞; 细胞凋亡

[摘要] 目的 观察 TNF- α 处理的脐静脉内皮细胞(HUVEC)中 miR-155 的表达情况,探讨 miR-155 的表达与 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡的关系,并探究两者之间的作用机制。方法 不同浓度 TNF- α 分别处理 HUVEC 不同时间,MTT 法检测细胞活性,Hoechst33342 荧光染色法检测 HUVEC 凋亡,qRT-PCR 检测细胞中 miR-155 的表达;通过转染 miR-155 mimic 和 anti-miR-155 使 HUVEC 中 miR-155 过表达或抑制其表达,Hoechst33342 荧光染色和 Annexin V-FITC/PI 双染法检测过表达 miR-155 或抑制 miR-155 表达对 HUVEC 凋亡的影响;使用 miRanda 和 Targetscan 等分析软件预测 miR-155 作用的潜在靶基因,Western blot 检测靶基因 Caspase-3 和 FADD 的表达变化。结果 TNF- α 可诱导 HUVEC 凋亡,且呈剂量和时间依赖性增加;10 μ g/L TNF- α 处理 HUVEC 24 h 后可以诱导其 miR-155 表达明显增加;抑制 miR-155 表达可以增加 HUVEC 凋亡;miR-155 过表达则抑制 HUVEC 凋亡;miR-155 通过调节 Caspase-3、FADD 和 active-Caspase-3 表达抑制细胞凋亡。结论 miR-155 通过下调 FADD 和 Caspase-3 表达调节 Caspase 凋亡信号通路,抑制 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

MiR-155 inhibits TNF- α -induced HUVEC apoptosis through down-regulating FADD and Caspase-3 expression

CAO Yunchang, DENG Jie, WEN Hongbo, WANG Xingbo, TANG Min

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] miR-155; Caspase-3; FADD; human umbilical vein endothelial cells; cell apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To observe the expression of miR-155 in TNF- α -induced human umbilical vein endothelial cells and the impacts of miR-155 on TNF- α -induced human umbilical vein endothelial cells, and to investigate thoroughly the mechanisms of miR-155 modulating TNF- α -mediated human umbilical vein endothelial cell apoptosis. **Methods** Human umbilical vein endothelial cells were cultured in vitro and treated with different concentrations of TNF- α for different time. MTT assay was used to detect human umbilical vein endothelial cell activity. Human umbilical vein endothelial cell apoptosis was analysed by Hoechst33342 fluorescence staining and by Annexin-V FITC/PI double staining. The expression of miR-155 was detected by qRT-PCR, the potential apoptosis-related target genes of miR-155 were forecasted by bioinformatics analysis and confirmed by Western blot. **Results** TNF- α induced human umbilical vein endothelial cell apoptosis in a dose-dependent and time-dependent manner. Compared with the vehicle control, miR-155 expression increased obviously in human umbilical vein endothelial cells treated with 10 μ g/L TNF- α at 24 h ($P < 0.01$). Over-expression of miR-155 significantly promoted the proliferation of TNF- α -induced human umbilical vein endothelial cells and decreased remarkably their apoptosis ($P < 0.01$). Interestingly, this effect was obviously reversed in the introduction of the anti-miR-155. Bioinformatics analysis revealed that FADD and Caspase-3 were the potential apoptosis-related target genes of miR-155. Western blot demonstrated that miR-155 negatively regulated Caspase pathways by inhibiting the expression of target genes FADD and Caspase-3. MTT assay and Annexin V-FITC/PI double staining indicated that silencing of Caspase pathways enhanced the pro-proliferation and anti-apoptotic effect of miR-155. **Conclusion** MiR-155 inhibits TNF- α -induced human umbilical vein endothelial cell apoptosis through down-regulating FADD and Caspase-3 expression.

[收稿日期] 2018-06-10

[修回日期] 2018-09-13

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81500311);南华大学研究生科学基金项目(2018KYY310)

[作者简介] 曹运长,副教授,硕士研究生导师,研究方向为 miRNA 与动脉粥样硬化,E-mail 为 caoyunchang@163.com。

microRNA (miRNA) 是一类高度保守的单链非编码小 RNA, 可通过抑制蛋白质的翻译或促进 mRNA 降解调节基因转录后表达^[1]。在人类基因组中已经发现超过 2000 个成熟的 miRNA, 它们作为重要的调控分子微调蛋白质表达^[2]。miRNA 作为调控分子在血管疾病、炎症和动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 中起着重要作用^[3-5], 像血流敏感 miRNA (flow-sensitive miRNA, mechano-miR) 可通过功能获得型或功能缺失型调节内皮细胞基因表达^[6], 影响 As 进程。miR-155 是一种多功能微小 RNA, 在人体多种病理生理过程中发挥作用, 如 As 的发生发展^[7-8]。miR-155 可以调节内皮细胞自噬^[9-10], 还可以通过调节胆固醇酯酶表达抑制巨噬细胞泡沫化^[11-12]。此外, miR-155 作为炎症信号通路的强大调节剂, 可被 kappa-B 激酶的选择性阻断剂 IkK-16 抑制减少细胞炎症介质释放^[13]。目前, miR-155 在 As 方面的研究已取得显著进展, 但在影响细胞凋亡及机制方面的研究还有所欠缺。本实验以脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 为研究对象, 用肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 刺激 HUVEC 构建细胞凋亡模型, 运用脂质体转染技术使 miR-155 抑制或过表达, 观察其对 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡的影响及机制。

1 材料和方法

1.1 材料

HUVEC 购于中科院上海细胞生物研究所细胞中心; DMEM 细胞培养基购于美国 Gibco 公司; 人 TNF- α 购于美国 Pepro Tech 公司; 胰酶细胞消化液、BCA 蛋白浓度检测试剂盒购于南京建成公司; 新生胎牛血清购于四季青生物工程有限公司; Hoechst33342 粉、青霉素-链霉素溶液、Western blot 荧光检测试剂盒、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒购于碧云天生物技术有限公司; 辣根过氧化物酶标记二抗购于康为世纪生物技术有限公司; miR-155 inhibitor、miR-155 mimic 购于上海吉玛公司; 高效 RIPA 细胞裂解液购于北京索莱宝科技有限公司; Caspase-3、active-Caspase-3、 β -actin 一抗均购于 Abcam 公司; microRNA 提取与纯化试剂盒与两步法 Stemaim-it miR qRT-PCR Quantitation Kit 购自 Novland 公司; Lipofectamine 2000 转染试剂购于 Invitrogen 公司; 其余试剂为国产分析纯。

1.2 细胞培养与转染

HUVEC 用含 10% 胎牛血清及双抗的培养基于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 细胞汇合度达 60%~70% 时换用无血清培养基培养。为观察 TNF- α 对 HUVEC 活性及凋亡的影响, 用不同浓度 TNF- α (1、10、20、40 和 100 μ g/L) 分别处理细胞不同时间 (12 h、24 h、48 h), 对照组为无血清培养基培养。为观察 miR-155 在 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡中的作用, 将实验分为 5 组: 对照组、TNF- α 组、anti-miR-155 组 (TNF- α + miR-155 inhibitor)、miR-155 mimic (TNF- α + miR-155 mimic)、Scramble 组 (TNF- α + NC)。用无血清培养基稀释待转染 microRNA, 然后将待转染试剂与脂质体 2000 混合室温孵育 20 min, 加入待转染细胞孔中 (设阴性对照), 37 °C、5% CO₂ 培养 6 h, 改含 10% 胎牛血清的培养基培养 24 h, 取一部分细胞用 Western blot 对其进行鉴定, 另一部分细胞用 10 μ g/L TNF- α 处理 24 h 用于后续实验。

1.3 MTT 法检测细胞存活率

细胞培养至对数生长期后, 5×10^3 个细胞/孔接种到 96 孔板培养 24 h, 然后用不同浓度 TNF- α (0、1、10、20、40 及 100 μ g/L) 分别处理细胞不同时间 (0、12、24 及 48 h) 或按转染分组作用细胞, 每组设 3 个平行对照。按 MTT 常规步骤操作, 每孔加入 5 g/L MTT 液 20 μ L, 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 4 h, 弃培养液, PBS 洗净, 每孔加 150 μ L DMSO, 放置摇床, 震荡 10 min, 至结晶完全溶解, 酶标仪检测 490 nm 处吸光度值, 检测细胞增殖率, 获得 TNF- α 作用最佳条件。

1.4 Hoechst33342 荧光染色法检测细胞凋亡

细胞培养至对数生长期后, 10^5 个细胞/孔接种到 6 孔板培养, 待细胞生长密度达到培养瓶的 70% 时, 换用无血清培养基同步培养 12 h, 按上述 TNF- α 作用浓度和时间或转染分组处理细胞; 将原培养液吸干, 每孔加 1 mL 4% 多聚甲醛于 4 °C 固定 20 min, 固定完后用 PBS 润洗 5 min \times 3 次; 每孔加 1 mL Hoechst33342 染色液, 于 37 °C 培养箱中染色 20 min; 随后用 PBS 润洗 5 min \times 3 次, 于倒置荧光显微镜观察记录并拍照。

1.5 qRT-PCR 检测 miR-155 的表达

按 microRNA 提取与纯化试剂盒说明书提取细胞中的 miRNA, 反转录成 cDNA, 再进行 PCR 循环扩增, miR-155、U6 (内参) 引物均由上海诺伦生物医药技术有限公司合成, miR-155 引物序列: 上游为 5'-ACG CTC AGT TAA TGC TAA TCG TGA TA-3',

下游为 5'-ATT CCA TGT TGT CCA CTG TCT CTG-3', 扩增长度为 84 bp。U6 引物序列: 上游为 5'-ATT GGA ACG ATA CAG AGA AGA TT-3', 下游为 5'-GGA ACG CTT CAC GAA TTT G-3', 扩增长度为 70 bp。

1.6 Annexin V-FITC/PI 双染法检测 HUVEC 凋亡

按上述方法转染 48 h 后收集细胞, 按照 Annexin-V FITC 细胞凋亡检测试剂盒说明书具体步骤操作, 用流式检测仪进行检测。

1.7 miR-155 靶基因生物信息学分析

采用 miRBase、TargetScan、miRanda、miRnaViewer 和 TargetScan 等数据库预测 miR-155 潜在作用靶点。

1.8 Western blot 检测 FADD、Caspase-3、active-Caspase-3 蛋白表达

收集细胞, 用 PBS 洗 3 次, 加入细胞悬浮裂解液, 冰上裂解 15 min 后, 于 4 °C、12000 r/min 离心 15 min, 收集上清, 用 BCA 定量。按 5×上样缓冲液加入 1/4 总体积, 放入 100 °C 沸水中煮 5 min, 室温冷却, 放入 -20 °C 保存。按照 Western blot 基本过程操作, 进行 SDS-PAGE 电泳, 然后用 Western blot 荧光检测试剂激发荧光, 在 Tanon-6200 成像系统下显影。目的蛋白与 β -actin (内参) 的光密度比值代表目的蛋白表达水平。

1.9 统计学分析

用 SPSS 18.0 对数据进行统计分析, 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析及 Student *t*-test 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TNF- α 对 HUVEC 存活率的影响

随着 TNF- α 浓度升高和作用时间的延长, HUVEC 活性逐渐降低, 提示 TNF- α 影响 HUVEC 增殖活力。与对照组相比, TNF- α 浓度为 10 $\mu\text{g/L}$, 时间为 24 h 时, 差异开始有统计学意义 ($P < 0.05$; 图 1)。

2.2 TNF- α 对 HUVEC 凋亡的影响

正常 HUVEC 的细胞核呈浅蓝色, 而凋亡 HUVEC 的细胞核呈致密浓染, 颜色发亮 (图 2 中箭头所示)。随 TNF- α 处理浓度的升高, 亮蓝色斑点数目增多。当 TNF- α 作用浓度达到 20 $\mu\text{g/L}$ 时, 与空白对照组和低浓度组 (1 $\mu\text{g/L}$) 相比, 亮蓝色斑点数目显著增多。并且随 TNF- α 处理浓度的升高, 细胞凋亡率显著升高。提示 TNF- α 可诱导 HUVEC 凋亡, 且呈剂量和时间依赖性增加。

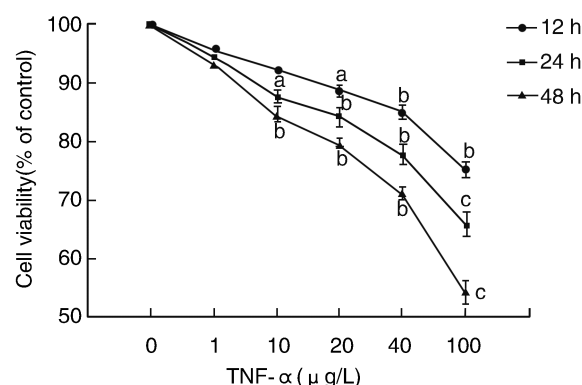


图 1. TNF- α 对 HUVEC 增殖的影响 ($n=3$) a 为 $P < 0.05$; b 为 $P < 0.01$, c 为 $P < 0.001$, 与对照组比较。

Figure 1. Effect of TNF- α on HUVEC proliferation ($n=3$)

2.3 TNF- α 促进 HUVEC 中 miR-155 表达

用 TNF- α (10 $\mu\text{g/L}$, 24 h) 处理细胞后, qRT-PCR 检测发现, 相较于对照组, TNF- α 组 miR-155 表达量明显增加 ($P < 0.01$)。提示 TNF- α 处理可以促进 HUVEC 中 miR-155 表达 (图 3)。

2.4 抑制 miR-155 表达增加 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡

qRT-PCR 检测发现, 与对照组相比, TNF- α 组 miR-155 表达明显增高; 与 TNF- α 组相比, anti-miR-155 组 miR-155 表达显著降低 ($P < 0.05$; 图 4A)。MTT 法检测细胞活性发现, 与对照组相比, TNF- α 组细胞活性明显降低; 与 TNF- α 组相比, anti-miR-155 组细胞活性显著降低 ($P < 0.05$; 图 4B)。Hoechst33342 荧光染色检测 HUVEC 凋亡发现, 与对照组相比, TNF- α 组蓝色荧光明显增加; 与 TNF- α 组相比, anti-miR-155 组蓝色荧光也显著增加 ($P < 0.05$; 图 4C 和图 4E)。进一步用 Annexin V-FITC/PI 双染色法进行验证发现, TNF- α 组与对照组相比细胞凋亡率明显增加, anti-miR-155 组与 TNF- α 组相比细胞凋亡率也显著增加 ($P < 0.05$; 图 4D 和图 4F)。提示抑制 miR-155 表达增加 HUVEC 凋亡。

2.5 miR-155 过表达减少 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡

用 miR-155 mimic 转染 HUVEC, qRT-PCR 检测发现, TNF- α 组与对照组相比 miR-155 表达明显增多, miR-155 mimic 组与 TNF- α 组相比 miR-155 表达呈上升趋势 (图 5A)。MTT 法和 Annexin V-FITC/PI 双染色法发现, 相较于 TNF- α 组, miR-155 mimic 组细胞活性明显增高 (图 5B), 细胞凋亡率显著下降 (图 5D 和图 5F)。用 Hoechst33342 荧光染色检测 HUVEC 凋亡发现, 与 TNF- α 组相比, miR-155 mimic

组蓝色荧斑明显减少(图 5C 和图 5E)。提示 miR-155 过表达可抑制 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡。

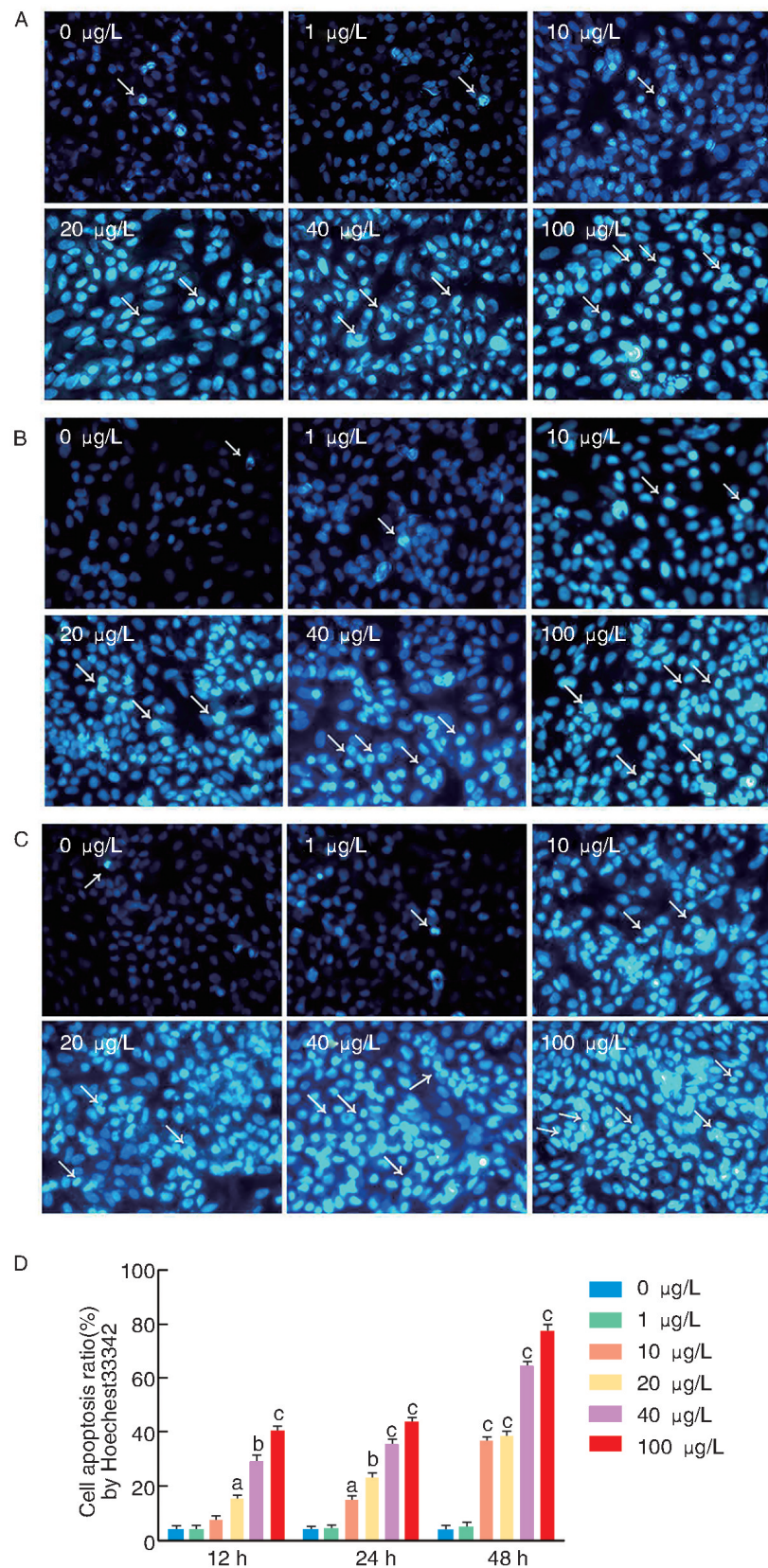


图 2. 不同浓度 TNF- α 处理 HUVEC 不同时间对细胞凋亡的影响 用 Hoechst33342 荧光染色法检测 HUVEC 凋亡($n=3, 20\times$)。A 为处理 12 h, B 为处理 24 h, C 为处理 48 h, D 为细胞凋亡比。凋亡细胞表现出强烈的蓝色荧光。a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, c 为 $P<0.001$, 与对照组比较。

Figure 2. Effects of different concentrations of TNF- α on HUVEC apoptosis at different time

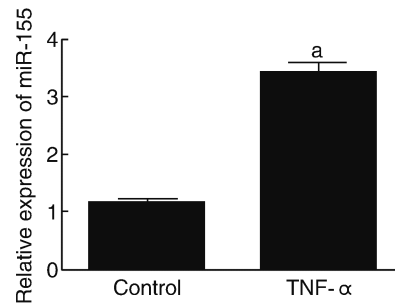


图 3. TNF- α 诱导的 HUVEC 中 miR-155 表达情况 ($n=3$) a 为 $P<0.01$, 与对照组比较。

Figure 3. Expression of miR-155 in TNF- α -induced HUVEC ($n=3$)

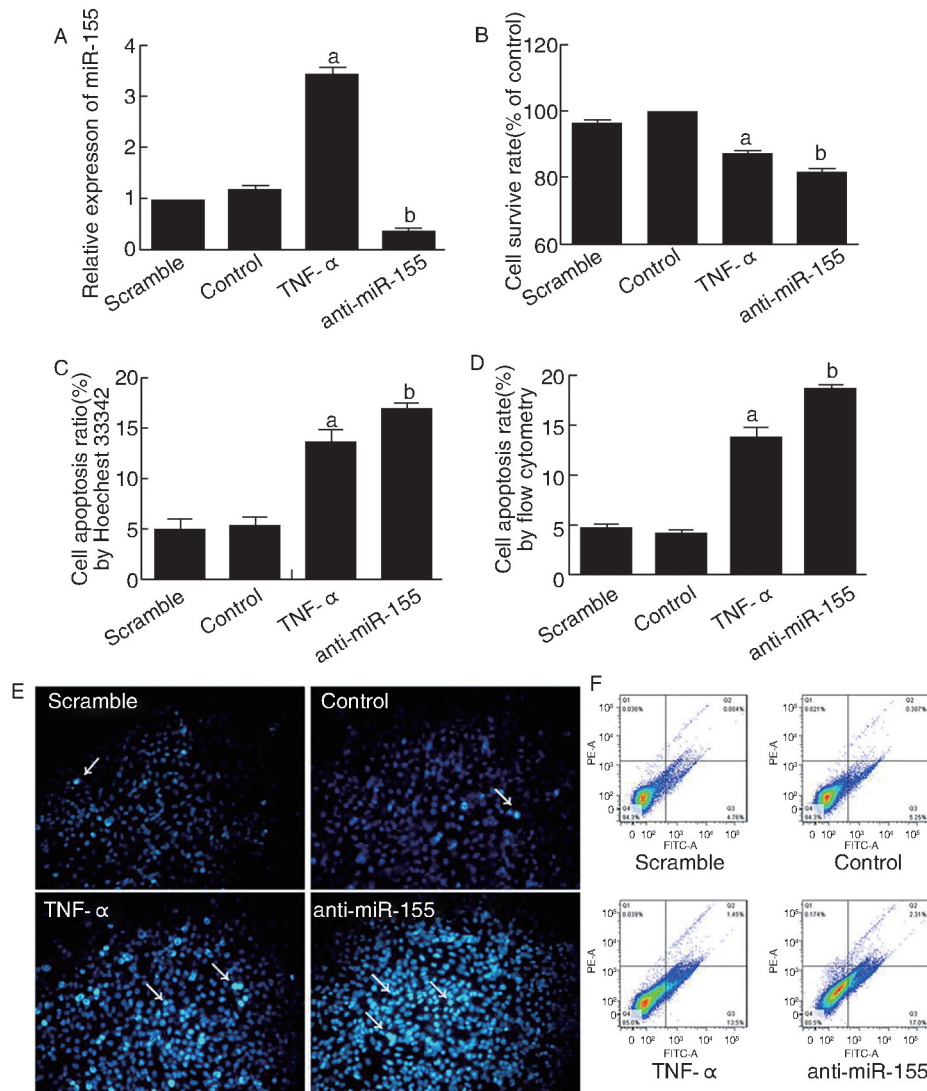


图 4. 抑制 miR-155 表达对 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡的影响 ($n=3$) A 为 miR-155 的表达, B 为 MTT 检测 HUVEC 凋亡, C 和 E 为 Hoechst33342 荧光染色法检测 HUVEC 凋亡 (20 \times), D 和 F 为流式细胞术检测 HUVEC 凋亡。a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与 TNF- α 组比较。

Figure 4. Inhibition of miR-155 expression on TNF- α -induced HUVEC apoptosis ($n=3$)

2.6 FADD、Caspase-3 可能为 miR-155 作用靶点

采用 miRBase、TargetScan、miRanda、miRnaViewer 和 TargetScan 等数据库预测出 FADD、Caspase-3 可能

为 miR-155 抑制 TNF- α 诱导 HUVEC 凋亡的潜在作用靶基因 (图 6)。

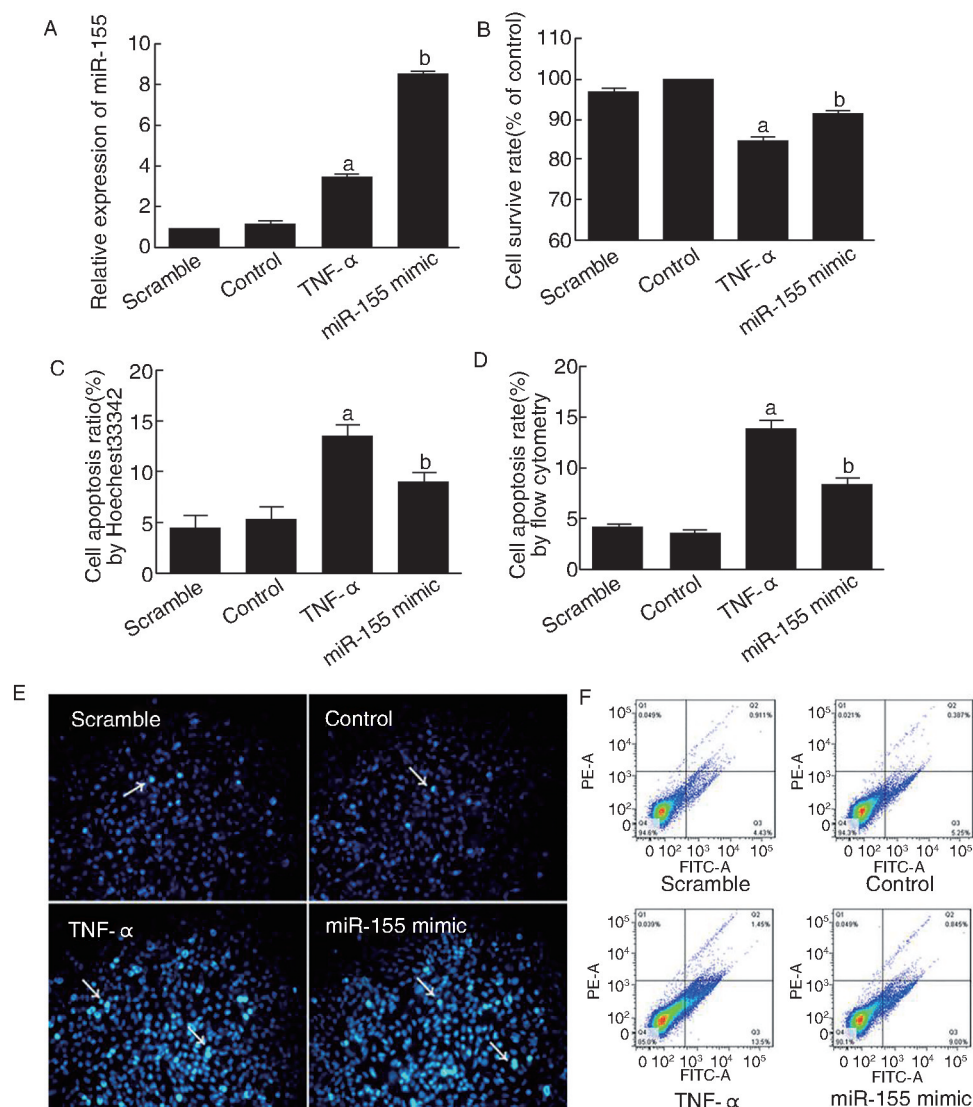


图 5. miR-155 过表达对 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡的影响($n=3$) A 为 miR-155 的表达, B 为 MTT 检测 HUVEC 凋亡, C 和 E 为 Hoechst33342 荧光染色法检测 HUVEC 凋亡($20\times$), D 和 F 为流式细胞术检测 HUVEC 凋亡。a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与 TNF- α 组比较

Figure 5. Effect of miR-155 overexpression on TNF- α -induced HUVEC apoptosis($n=3$)

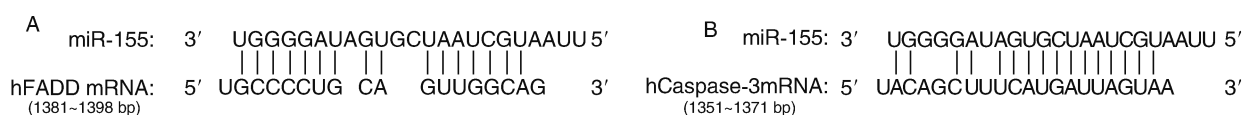


图 6. miR-155 与 FADD mRNA 3' UTR (A) 和 Caspase-3 mRNA 3' UTR (B) 的结合情况

Figure 6. MiR-155 targets to bind to FADD mRNA 3' UTR (A) and Caspase-3 mRNA 3' UTR (B)

2.7 miR-155 调节 Caspase-3、FADD 和 active-Caspase-3 表达抑制细胞凋亡

与对照组相比, TNF- α 组 FADD 和 Caspase-3 表达明显减少, 而 active-Caspase-3 表达明显增多; 抑制 miR-155 表达后, anti-miR-155 组 FADD、Caspase-3 和 active-Caspase-3 表达显著上升。提示抑制 miR-155 基因表达可增加 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡,

使 FADD、Caspase-3 和 active-Caspase-3 表达相较于 TNF- α 组显著上升。miR-155 过表达时, miR-155 mimic 组 FADD、Caspase-3 和 active-Caspase-3 表达显著下降, 提示 miR-155 过表达减少 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡, 使 FADD、Caspase-3 和 active-Caspase-3 表达相较于 TNF- α 组显著降低。结果表明 miR-155 可能通过调节 Caspase-3、FADD 基因表达抑制

细胞凋亡(图7)。

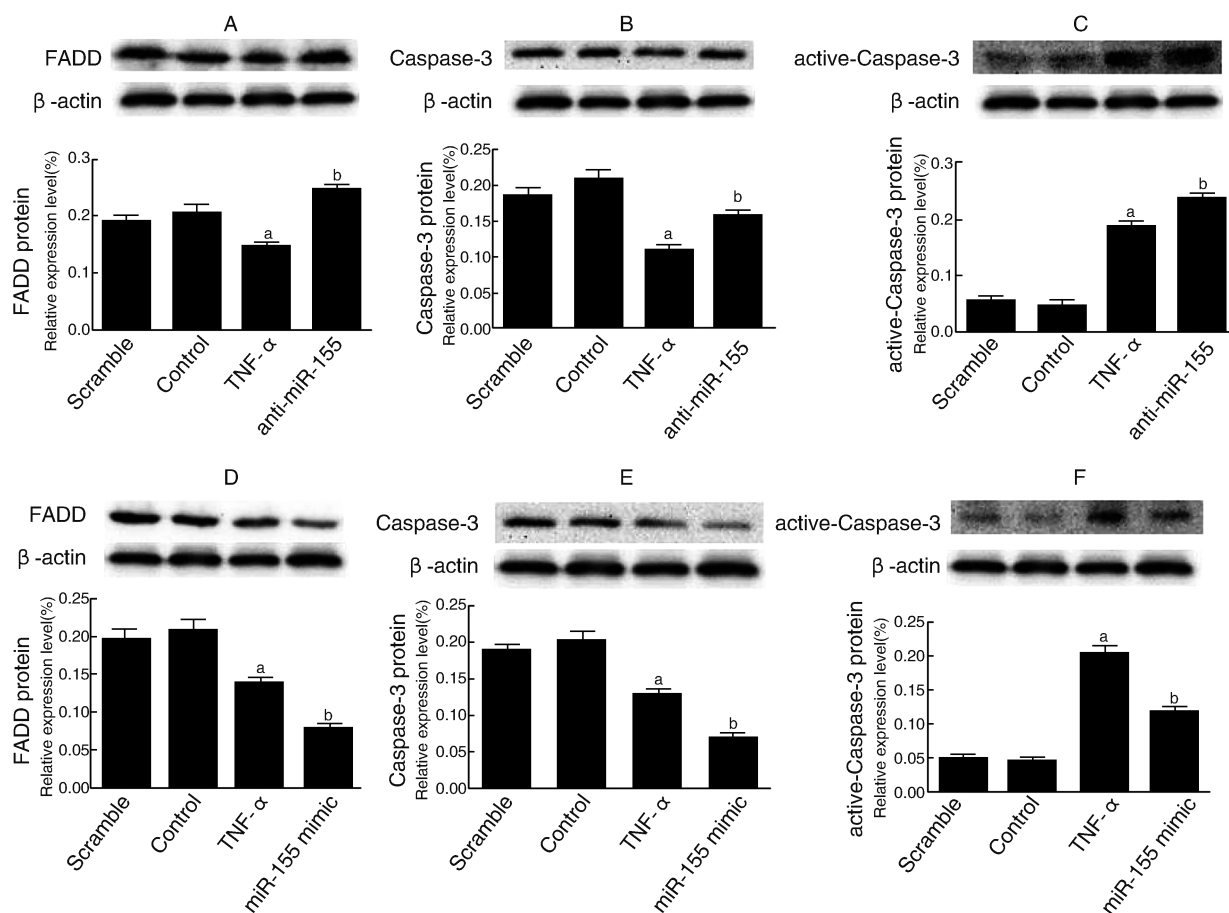


图7. miR-155 过表达或抑制 miR-155 表达对 FADD、Caspase-3 和 active-Caspase-3 表达的影响($n=3$) A 为抑制 miR-155 表达对 FADD 蛋白表达的影响,B 为抑制 miR-155 表达对 Caspase-3 蛋白表达的影响,C 为抑制 miR-155 表达对 active-Caspase-3 蛋白表达的影响,D 为 miR-155 过表达对 FADD 蛋白表达的影响,E 为 miR-155 过表达对 Caspase-3 蛋白表达的影响,F 为 miR-155 过表达对 active-Caspase-3 蛋白表达的影响。a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 TNF- α 组比较。

Figure 7. Effects of miR-155 overexpression or miR-155 inhibition on expressions of FADD, Caspase-3 and active-Caspase-3 in HUVEC($n=3$)

3 讨论

As 是导致全球心血管疾病发病率和死亡率持续上升的重要原因之一^[14]。血管内皮作为阻挡血浆中脂质、炎性因子及血细胞入侵血管壁的第一道屏障,内皮细胞损伤、凋亡对 As 斑块形成与扩大具有重要作用^[15]。许多因素,像 TNF- α 、血管紧张素^[16]、氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)等均可导致血管内皮细胞凋亡。本实验用不同浓度 TNF- α (0、1、10、20、40 及 100 $\mu\text{g/L}$) 分别处理细胞不同时间(0、12、24 及 48 h),通过 MTT 和 Hoechst33342 荧光染色法检测 HUVEC 活性和凋亡,得出 10 $\mu\text{g/L}$ 、24 h 为 TNF- α 诱导细胞凋亡的最佳条件,成功构建了 TNF- α 诱导的细胞凋

亡模型。

miR-155 在影响细胞凋亡方面起重要作用, Lee 等^[17]通过对 G 蛋白的研究发现, $G\alpha_{12}$ 可以调节 miR-155 表达保护 HUVEC 免受血清剥夺对细胞凋亡影响。De Santis 等^[18]发现在 LPS 活化的 RAW 264.7 巨噬细胞中, miR-155 通过靶向作用于 Caspase-3 抑制细胞凋亡维持巨噬细胞功能;同样, Zhu 等^[19]研究发现, miR-155 可通过靶向作用于 FADD 抑制 ox-LDL 诱导的 RAW264.7 细胞凋亡。本研究发现,在 TNF- α 诱导的 HUVEC 中 miR-155 表达显著增加,提示 miR-155 表达与 HUVEC 凋亡密切相关。为探究 miR-155 在 TNF- α 介导的 HUVEC 凋亡中所起作用,对 miR-155 表达进行抑制或使其过表达, qRT-PCR、Hoechst33342 荧光染色

和 Annexin V-FITC/PI 双染色法检测发现,miR-155 表达减少,HUVEC 凋亡明显增多;miR-155 表达增加,HUVEC 凋亡明显减少。提示 miR-155 的表达可以抑制 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡。为研究 miR-155 在 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡中的机制,通过生物信息学数据库分析得出,FADD、Caspase-3 可能为 miR-155 抑制 TNF- α 诱导 HUVEC 凋亡的潜在作用靶基因,Western blot 检测结果显示,在 TNF- α 诱导的 HUVEC 中,抑制 miR-155 表达,FADD、Caspase-3 和 active-Caspase-3 表达增加;miR-155 过表达,FADD、Caspase-3 和 active-Caspase-3 表达减少。提示 miR-155 可通过调节 Caspase-3 和 FADD 表达从而影响 TNF- α 介导的 HUVEC 凋亡。

以上结果表明,miR-155 可能通过下调 FADD 和 Caspase-3 表达调节 Caspase 凋亡信号通路,抑制 TNF- α 诱导的 HUVEC 凋亡。本研究首次提出 miR-155 在 HUVEC 凋亡中的作用及其可能机制,为今后进一步研究奠定了基础。

[参考文献]

- [1] Hung YH, Sethupathy P. MicroRNAs in the mammalian gut endocrine lineage [J]. *Endocrinology*, 2018, 159 (2): 866-868.
- [2] Selbach M, Schwanhäusser B, Thierfelder N, et al. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs [J]. *Nature*, 2008, 455 (7209): 58-63.
- [3] Pereira-da-Silva T, Coutinho Cruz M, Carrusca C, et al. Circulating microRNA profiles in different arterial territories of stable atherosclerotic disease: a systematic review [J]. *Am J Cardiovasc Dis*, 2018, 8 (1): 1-13.
- [4] Nazari-Jahantigh M, Egea V, Schober A, et al. MicroRNA-specific regulatory mechanisms in atherosclerosis [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 89 (Pt A): 35-41.
- [5] 刘静,王媚媚,何文智,等.受剪切应力调控的 microRNAs 在动脉粥样硬化中作用机制的研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25 (12): 1287-1290.
- [6] Kumar S, Kim CW, Simmons RD, et al. Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRs [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34 (10): 2206-2216.
- [7] Ma X, Ma C, Zheng X. MicroRNA-155 in the pathogenesis of atherosclerosis: a conflicting role [J]. *Heart Lung Circ*, 2013, 22 (10): 811-818.
- [8] Mann M, Mehta A, Zhao JL, et al. An NF- κ B-microRNA regulatory network tunes macrophage inflammatory responses [J]. *Nat Commun*, 2017, 8 (1): 851.
- [9] Yin S, Yang S, Pan X, et al. MicroRNA-155 promotes ox-LDL-induced autophagy in human umbilical vein endothelial cells by targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18 (3): 2798-2806.
- [10] Zhang Z, Pan X, Yang S, et al. miR-155 promotes ox-LDL-induced autophagy in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Mediators Inflamm*, 2017: 9174801.
- [11] 张凤香,李晨光,孙大鹏. MicroRNA-155 通过 CEH 影响巨噬细胞泡沫化过程 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25 (6): 553-558.
- [12] Zhang F, Zhao J, Sun D, et al. MiR-155 inhibits transformation of macrophages into foam cells via regulating CEH expression [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 645-651.
- [13] Galbraith NJ, Burton J, Ekman MB, et al. I κ K-16 decreases miRNA-155 expression and attenuates the human monocyte inflammatory response [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (9): e0183987.
- [14] Herrington W, Lacey B, Sherliker P, et al. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease [J]. *Circ Res*, 2016, 118 (4): 535-546.
- [15] Shyy JY, Chien S. Role of integrins in endothelial mechanosensing of shear stress [J]. *Circ Res*, 2002, 91 (9): 769-775.
- [16] Zhu N, Zhang D, Chen S, et al. Endothelial enriched microRNAs regulate angiotensin II-induced endothelial inflammation and migration [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 215 (2): 286-293.
- [17] Lee HJ, Lee EJ, Seo M. Galpha12 protects vascular endothelial cells from serum withdrawal-induced apoptosis through regulation of miR-155 [J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57 (1): 247-253.
- [18] De Santis R, Liepelt A, Mossanen JC, et al. miR-155 targets Caspase-3 mRNA in activated macrophages [J]. *RNA Biol*, 2016, 13 (1): 43-58.
- [19] Zhu GF, Yang LX, Guo RW, et al. miR-155 inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis of RAW2647 cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 382 (1-2): 253-261.

(此文编辑 文玉珊)