

微小 RNA 在动脉粥样硬化易损斑块中的研究进展

瞿媛¹, 顾宁²

(南京中医药大学附属南京中医院 1. 急诊科, 2. 心血管病科, 江苏省南京市 210001)

[关键词] 微小 RNA; 动脉粥样硬化; 易损斑块; 内皮细胞; 单核细胞; 血管平滑肌细胞; 血小板; 中医

[摘要] 微小 RNA(miRNA) 是一类在进化上高度保守的非编码小分子单链 RNA(约 18~24 个碱基), 在转录后水平负性调控基因表达。易损斑块是指动脉粥样硬化过程中易于形成血栓或可能迅速进展为罪犯病变的斑块。研究表明, miRNA 几乎参与了动脉粥样硬化形成的所有步骤, 包括内皮细胞及血管平滑肌细胞损伤和功能障碍、单核细胞浸润及血小板功能障碍, 并发挥有益或有害作用。miRNA 也将成为深入研究中医药双向调节易损斑块作用机制新的领域。

[中图分类号] R54

[文献标识码] A

Research progress of microRNA in atherosclerotic vulnerable plaque

QU Yuan¹, GU Ning²

(1. Emergency Department, 2. Cardiovascular Department, Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210001, China)

[KEY WORDS] microRNA; atherosclerosis; vulnerable plaque; endothelial cell; monocyte; vascular smooth muscle cell; platelet; traditional Chinese medicine

[ABSTRACT] MicroRNA (miRNA) is a kind of evolutionarily highly conserved noncoding small molecule single stranded RNA (about 18-24 nucleotides), which negatively regulates gene expression at posttranscriptional level. Vulnerable plaques refer to plaques that are easy to form thrombus or may rapidly develop into criminal lesions in the process of atherosclerosis. Research shows that miRNA is involved in almost all steps of atherosclerosis, including endothelial cell and vascular smooth muscle cell injury and dysfunction, monocyte infiltration and platelet dysfunction, and plays a beneficial or harmful role. MiRNA will also become a new field to further study the mechanism of bidirectional regulation of vulnerable plaque by traditional Chinese medicine.

微小 RNA (microRNA, miRNA, miR) 是一类在进化上高度保守的非编码小分子单链 RNA(约 18~24 个碱基), 在转录后水平负性调控基因表达^[1]。miRNA 由茎环结构的转录前体加工而成^[2]。miRNA 编码基因经 RNA 聚合酶 II 转录出初级转录本 (pri-miRNA), 再经过 RNase III 的剪切和 Exportin-5/Ran-GTP 转运等过程, 最后在胞质加工和解链形成成熟的 miRNA 分子^[3]。成熟的 miRNA 通过偶联

蛋白复合体来完成对目的基因转录后水平的调控作用, 具体有 2 种方式, 即 mRNA 的切割或翻译抑制。2 种方式的选择由 mRNA 的特性决定, 如果 mRNA 与 miRNA 完美互补, miRNA 就指导 mRNA 特异性切割; 如果二者没有足够的互补, 则 miRNA 就指导翻译抑制。血液中 miRNA 的来源主要有 3 种: (1) 破裂的细胞 (组织损伤, 细胞凋亡或坏死) 释放或被动渗漏进入血液循环; (2) 细胞主动分泌微

[收稿日期] 2019-08-21

[修回日期] 2019-09-23

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (81774229); 江苏省自然科学基金面上研究项目 (BK20161115); “十三五”南京市医学科技创新平台重大项目 (ZDX16009); 江苏省中医药领军人才培养项目 (苏中医科教[2018]4 号); 南京市中医院科研基金项目 (YJLC201901)

[作者简介] 瞿媛, 博士研究生, 副主任中医师, 研究方向为中医及中西医结合防治心血管疾病, E-mail 为 quyuan0811@163.com。通信作者顾宁, 博士, 主任中医师, 博士研究生导师, 研究方向为中医及中西医结合防治心血管疾病, E-mail 为 jsguning@163.com。

囊泡:miRNA 首先被载入分泌囊泡中,然后进入循环,微囊泡是载体;(3)miRNA 与高密度脂蛋白结合主动分泌到胞外。

易损斑块是指动脉粥样硬化斑块中发展迅速、具有血栓形成倾向的不稳定性高危斑块,易发生临床不良事件的罪犯病变^[4]。炎性细胞黏附浸润、细胞坏死和凋亡、血管钙化、纤维帽破裂、血栓形成是易损斑块形成及发生血管终末事件的的主要机制。近年来,对易损斑块的研究逐渐深入到基因水平。研究表明,miRNA 几乎参与了易损斑块形成的所有步骤,包括内皮细胞及血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)损伤和功能障碍、单核细胞浸润以及血小板功能障碍,在参与过程中,发挥有益或有害作用^[5]。本文将对在易损斑块形成过程中 miRNA 的作用进行综述。

1 内皮细胞

内皮细胞是裱衬在心血管系统内表面单层上皮样细胞,对维持血管壁结构稳定与循环系统稳态至关重要,血管腔由血管内皮构成,血管腔起着运送血液及营养的作用。在各种危险因素下,血管内皮细胞发生功能损伤,表达免疫球蛋白超家族黏附分子(如细胞间黏附分子和血管细胞黏附分子)和选择素家族成员(E 选择素、P 选择素),并分泌白细胞介素、肿瘤坏死因子及生长因子等。内皮细胞的激活在易损斑块形成过程中可导致管腔狭窄、血栓形成及管腔闭塞^[6]。miRNA 在内皮细胞中呈高表达,通过作用于调节血管生成的靶基因来实现。例如促进血管生成的有 miR-126、miR-18、miR-19 等,抑制血管生成的有 miR-92a、miR-217、miR-34a^[7]。其中,miR-126 是内皮细胞中含量最丰富的 miRNA,通过抑制炎症反应促进内皮细胞修复^[8]。miR-126 可以结合于血管细胞黏附分子 1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)mRNA,在转录及翻译水平抑制 VCAM-1 表达,从而有效抑制人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)的炎症反应^[9],减慢易损斑块的形成。另有研究表明,miR-126 亚型 miR-126-5p,可以通过抑制内皮细胞增殖负调控因子(delta-like 1 homolog, Dlk1)生成,促进受损内皮细胞增殖修复,减慢易损斑块的形成^[10]。此外,内皮细胞表达的 miR-221/222 能直接与其靶基因 c-kit 的 3'非翻译区结合,沉默其翻译的干细胞受体蛋白,使其干细胞因子的血管形成功能减弱,进而减少易损斑块中炎症因子的浸润和炎

症反应的发生^[11-12]。miRNA 还可靶向结合 c-Fms,进而抑制单核细胞分化为巨噬细胞,并减少巨噬细胞对纤维帽的降解,达到稳定易损斑块的作用^[13]。氧化应激可以引起内皮细胞损伤和功能不全,加速易损斑块的形成。用双氧水溶液刺激内皮细胞后,细胞内 miRNA 的表达水平出现了显著紊乱,其中上调最明显的是 miR-320^[14]。miR-320 的上调可以调控沉默信息调节因子 1(silent information regulator of transcription 1, SIRT1)的表达,抑制细胞的生长,促进细胞凋亡,其在人体内的表达水平和肿瘤坏死因子 α 呈正相关^[15]。在易损斑块形成过程中,过量表达的 miR-185 通过下调间质相互作用分子 1 来抑制血管内皮细胞的增殖、迁移及小血管生成^[16]。miRNA 还参与内皮细胞的衰老和凋亡。血管内皮细胞衰老是血管整体衰老的重要病理改变之一,是导致形成包括易损斑块在内的多种血管疾病的关键因素^[17-18]。NADPH 氧化酶 4(NADPH oxidase-4, NOX-4)是内皮细胞中活性氧的主要来源,其增加可以导致血管内皮细胞氧化损伤,加速其衰老。研究表明,miR-146a 的靶点为 NOX4,在 HUVEC 中,多次传代之后,miR-146a 表达下调,其抑制 NOX4 表达的能力下降,继而导致 HUVEC 衰老^[19]。

2 单核细胞/巨噬细胞

易损斑块形成早期,内皮细胞受到损伤,单核细胞黏附到受损的内皮细胞,穿透血管内膜,进入到内膜下层,形成巨噬细胞,巨噬细胞吞噬内膜下的脂质成为泡沫细胞,堆积形成脂质条纹及斑块。Canfrán-Duque 等^[20]发现,miR-21 是巨噬细胞中含量最丰富的 miRNA,当巨噬细胞中缺少 miR-21 时,其靶基因丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)的表达就会增加,促进转运蛋白三磷酸腺苷结合盒转运体 G1(调节巨噬细胞胆固醇流出的转运蛋白)翻译后降解,最终造成动脉粥样硬化、加速斑块坏死和血管炎症发生,加速易损斑块的进程。反向诱导富含半胱氨酸的蛋白质与基因卡马尔基序(RECK)是膜锚定的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)抑制剂,已报道为 miR-21 的直接靶基因^[21]。miR-21 通过抑制 RECK,来促进巨噬细胞中 MMP-9 的表达和分泌,从而形成易损斑块^[22]。易损斑块纤维帽的主要成分是细胞外基质,包括胶原纤维和弹性蛋白。MMP 是由巨噬细胞分泌的、具有降解细胞外基质所有组分能力的

内肽酶家族^[23],通过启动胶原降解,攻击稳定、致密的三联纤维网状结构,降解细胞外基质,使之断裂成胶原片段,导致易损斑块破裂^[24]。在 MMP 家族中,MMP-1 是 miR-222 的靶基因,miR-222 通过绑定 MMP-1-3'UTR 区负向调控 MMP-1 的表达^[25]。miR-491-5P 理论上的靶基因为 MMP-9,并得到证实^[26],miR-320 则在转录后水平影响 MMP-1、MMP-9、MMP-12 等表达^[27]。

3 血管平滑肌细胞

在易损斑块形成过程中,70%的成分由 VSMC 或者其衍生物组成。随着易损斑块的进展,中膜的 VSMC 向内膜延伸,造成血管管腔狭窄。易损斑块常常伴随斑块肩部 VSMC 减少和巨噬细胞增多,VSMC 增殖与凋亡失衡是导致动脉粥样硬化斑块形成及恶化成易损斑块的主要病理基础。在晚期阶段,VSMC 凋亡占据主要的地位,是易损斑块破裂、出血和血栓形成的主要原因之一^[28]。miR-451 通过抑制 BB 型血小板衍生生长因子来抑制血管平滑肌的迁移和增殖,促进凋亡,这一过程的调控,是通过使 Ywhaz/p38 MAPK 通道失活来实现的^[29]。Ywhaz 是 14-3-3 蛋白家族的一员,参与细胞的代谢、信号传输、细胞增生、细胞凋亡等生理病理过程。miR-22、miR-221 在 VSMC 凋亡中也发挥重要作用^[30]。miR-22 通过靶向作用于甲基-CpG 来结合外体蛋白 2 (Meep2),减少 VSMC 的凋亡;miR-221 则是抑制 B 淋巴细胞瘤 2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 蛋白家族的 p53 来上调 PUMA (p53-upregulated modulator of apoptosis;p53 上调的凋亡调节剂),Bcl-2 和 p53 相互作用后激活了凋亡蛋白,促进 VSMC 的凋亡^[31]。Bcl-2 是细胞中重要的抗凋亡因子,任应国等^[32]研究显示,下调 miR-130a 在抑制脑动脉血管平滑肌中 Bcl-2 表达的同时,促进凋亡效应蛋白 cleaved Caspase-3 的表达,这可能是 miR-130a 促进 VSMC 凋亡的机制之一。影响 VSMC 凋亡的 miRNA 还包括 miR-21、miR-143/145 家族、miR-24 等^[33]。近年来研究发现,微小钙化与斑块的易损性密切相关,成为易损斑块破裂和急性血栓事件的重要标志之一^[34]。平滑肌细胞可以转变成骨细胞样表型,分泌多种骨形成蛋白,这些细胞转变成钙化表型,最终在细胞质或者细胞外基质中形成微小钙化^[35-36]。在易损斑块形成早期,当纤维帽厚度小于 80 μm 时,微小钙化处在延伸阶段,可促使微小钙化集中组织应力,应力爆炸性增加,

纤维帽破裂,导致易损斑块进展^[37]。miR-34a 可以通过降低 Axl (anexlektin; TAM 受体酪氨酸激酶亚家族的一员)、增强 SIRT1 的表达来促进 VSMC 的钙化。Axl 蛋白高表达通过活化抗凋亡 PI3K/Akt 通道抑制 VSMC 的钙化,同时,Axl 蛋白还能调节 VSMC 的增殖、迁移等细胞活动。在血管平滑肌细胞中,miR-34a 可直接作用于 Axl 蛋白,miR-34a 过表达能够下调 Axl 蛋白水平,反之,在 miR-34a 抑制剂组中,Axl 蛋白水平则明显升高^[38]。此外,miR-34a 还可以通过 Notch 受体 1 来抑制 VSMC 的增殖,促进其凋亡^[39]。参与 VSMC 钙化进程的还有 miR-125b、miR-133、miR-204、miR-30b、miR-30c 等^[40]。

4 血小板

血小板从巨核细胞中脱落而来,miR-155 能结合并抑制与骨髓细胞分化相关的 mRNA 从而阻碍造血干细胞分化^[41]。miR-28 能靶向结合促血小板生成素受体,其表达增高能抑制 CD34⁺细胞来源的巨核细胞的最终分化^[42]。血小板活化是易损斑块形成机制中的重要环节,miR-126-3p 是与血小板活化关系最密切的 miRNA^[43],其靶基因为 Plexin B2 (PLXNB2)^[44],后者通过抑制 RhoGTP 通道发挥作用。Nagalla 等^[45]研究表明,不同的 miRNA 表型水平能够反应出血小板的活性,3 对 miRNA-mRNA 配对对血小板活性的影响作用已经得到证实:miR-200b/PRKAR2B、miR-495/KLHL5、miR-107/CLOCK。其中,miR-200b 能够降低 PRKAR2B 水平,后者则影响血小板对肾上腺素的反应^[45]。Edelstein 等^[46]进一步研究发现,miR-376c 负反馈调节磷脂酰胆碱转运蛋白 (phosphatidylcholine transfer protein, PCTP) 及其蛋白酶活性受体 4 的水平和活性,并且,miR-376c 能够调控人 MK 细胞 (megakaryocytes; 巨核细胞) 中 PCTP 的表达。PCTP 的表达可能与血小板促动脉粥样硬化易损斑块的发展密切相关^[47]。miR-223 是血小板表达丰度最高的 miRNA^[48]。生物信息学分析提示二磷酸腺苷受体 P2Y12 mRNA 3'UTR 序列上存在 miR-223 结合位点,Landry 等^[48]在 Ago2 免疫沉淀物内检测到 P2Y12 mRNA,证实 P2Y12 mRNA 是 miR-223 靶基因之一,miR-223 可能通过调控 P2Y12 基因表达而影响血小板功能及血栓形成。

5 中医对 miRNA 的干预作用

中医对易损斑块的认识,历代医家多从“正

虚”、“痰”、“瘀”、“毒”方面进行论述,治疗大多以“扶正”、“活血化淤”、“化痰祛瘀”等方面进行辨证用药。随着现代医学与中医学的不断融合,中医治疗易损斑块多从调节血脂、保护内皮功能、抗血小板聚集、抗平滑肌增殖等方面发挥多环节、多途径、多靶点的优势^[49]。中医药在防治易损斑块中具有广阔的前景,越来越多的中药研究深入到 miRNA 水平。在氧化低密度脂蛋白诱导的大鼠血管内皮细胞炎症反应中,丹参有效成分丹参酮能够促进 miR-126 高表达,下调 VCAM-1 的表达,减少单核细胞向血管内皮细胞的黏附,抑制炎症反应^[50]。朱敬伟等^[51]联合使用益气活血中药治疗急性心肌梗死病人,研究发现,治疗后,治疗组和对照组 miR-223-3p 出现不同程度的下降,而 miR-132-5p 出现上升,与对照组比较,治疗组改善更为明显($P < 0.05$);说明益气活血中药联合西药对急性心肌梗死病人 miR-223-3p 及 miR-132-5p 的调节作用优于常规西药治疗;同时,治疗组病人主要临床症状减轻较对照组更为显著^[51]。在另外一组研究中发现,中成药“稳心颗粒”能够明显提高心肌梗死大鼠 miR-1/miR-133 的表达,其机制可能是提高心肌梗死大鼠心室颤动的阈值^[52]。

6 结 语

综上所述,miRNA 参与到易损斑块发展的各个重要环节,促进或抑制斑块的进展。一些 miRNA 甚至承担双向调节作用,如 miR-155。miR-155 通过靶向调控白细胞介素 13 受体 $\alpha 1$,阻滞 M1 型巨噬细胞向 M2 型分化,在 M1 型和 M2 型的平衡中发挥重要作用,而过表达 miR-155 基因可以促进 M1 型巨噬细胞的大量生成,加剧了炎症反应^[53]。miRNA 的这种双向调节作用,与中药发挥的双向调节作用有异曲同工之处。随着对中药发挥作用通道、靶基因的不断深入研究,miRNA 将会成为深入研究中医药双向调节易损斑块作用机制新的领域,为中医药防治易损斑块提供更加客观的依据。

[参考文献]

[1] Hodgkinson CP, Kang MH, Dal-Pra S, et al. MicroRNAs and cardiac regeneration[J]. *Circ Res*, 2015, 116(10):1700-1711.
 [2] Bartel DP. microRNAs: genomics, biogenesis, mechanism and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
 [3] Winter J, Jung S, Keller S, et al. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation[J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(3): 228-234.

[4] 田进伟,符亚红. 动脉粥样硬化易损斑块快速进展机制与临床治疗进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(4): 277-280.
 [5] Liu M, Yang R, Urrehman U, et al. miR-19b suppresses PTPRG to promote breast tumorigenesis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(39): 64100-64108.
 [6] Cheng HS, Sivachandran N, Lau A, et al. MicroRNA-146 represses endothelial activation by inhibiting pro-inflammatory pathways[J]. *EMBO Mol Med*, 2013, 5(7): 949-966.
 [7] 钟华,陆瑶,缪汝佳,等. 微小 RNA 在内皮细胞参与的血管生成中的作用[J]. *临床心血管病杂志*, 2013, 29(9): 650-653.
 [8] Xu J, Tang Y, Bei Y, et al. miR-19b attenuates H2O2-induced apoptosis in rat H9C2 cardiomyocytes via targeting PTEN[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(10): 10870-10878.
 [9] 肖星,潘旭东,马爱军,等. 微小 RNA 对内皮细胞炎症反应过程中血管内皮细胞黏附分子 1 表达的影响[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2016, 18(5): 522-526.
 [10] Schober A, Nazari-jahantigh M, Wei Y, et al. MicroRNA-126-5p promotes endothelial proliferation and limits atherosclerosis suppressing Dlk1[J]. *Nat Med*, 2014, 20(4): 368-376.
 [11] Mackenzie NC, Staines KA, Zhu D, et al. MiRNA-221 and miR-222 synergistically function to promote vascular calcification[J]. *Cell Biochem Funct*, 2014, 32(2): 209-216.
 [12] Koelz M, Lense J, Wrba F, et al. Down-regulation of miR-221 and miR-222 correlates with pronounced Kit expression in gastrointestinal stromal tumors[J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(2): 503-511.
 [13] Arango D, Diosa-Toro M, Rojas-Hernandez LS, et al. Dietary apigenin reduces LPS-induced expression of miR-155 restoring immune balance during inflammation[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2015, 59(4): 763-772.
 [14] 郭俊,刘宇,王忠凯,等. 氧化应激诱导内皮细胞凋亡 miRNA 表达改变的研究[J]. *现代生物学进展*, 2016, 16(10): 1821-1824.
 [15] Yang K, Gao B, Wei W, et al. Changed profile of microRNAs in acute lung injury induced by cardio-pulmonary bypass and its mechanism involved with SIRT1[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(2): 1104-1115.
 [16] Hou J, Liu L, Zhu Q, et al. MicroRNA-185 inhibits angiogenesis in human microvascular endothelial cells through targeting stromal interaction molecule 1[J]. *Cell Biol Int*, 2016, 40(3): 318-328.
 [17] Puca AA, Carrizzo A, Villa F, et al. Vascular ageing: the role of oxidative stress[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(3): 556.
 [18] El Assar M, Angulo J, Rodríguez-Mañás L. Oxidative stress and vascular inflammation in aging[J]. *Rev Radic Biol Med*, 2013, 65: 380-401.
 [19] 安雪青,吕健东,苏锋,等. miR-146a 调节人脐静脉内皮细胞的衰老及机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(11): 1127-1132.
 [20] Canfrón-Duque A, Rotllan N, Zhang X, et al. Macrophage deficiency of miR-21 promotes apoptosis, plaque necrosis, and nasular inflammation during atherogenesis[J]. *EMBO Mol Med*, 2017, 9(9): 1244-1262.
 [21] Han L, Yue X, Zhou X, et al. MicroRNA-21 expression is regulated by beta-catenin/STAT3 pathway and promotes glioma cell invasion by direct targeting RECK[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2012, 18

- (7): 573-583.
- [22] Fan X, Wang E, Wang X, et al. MicroRNA-21 is a unique signature associated with coronary plaque instability in humans by regulating matrix metalloproteinase-9 via reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs[J]. *Exp Mol Pathol*, 2014, 96(2): 242-249.
- [23] Jablonska-Trypue A, Matejczyk M, Rosochacki S. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2016, 31(Sup1): 177-183.
- [24] Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly[J]. *Circ Res*, 2002, 90(3): 251-262.
- [25] 张谊, 张璃, 张启瑜, 等. 微小RNA222 靶向调控基质金属蛋白酶1 促进增生性瘢痕组织成纤维细胞生长[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2017, 12(6): 609-615.
- [26] 王磊, 李天旺, 刘建强, 等. MicroRNA-491-5P 调控基质金属蛋白酶9 参与退变性腰椎侧凸的发病机制[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(2): 248-253.
- [27] Liao M, Zou S, Bao Y, et al. Matrix metalloproteinases are regulated by microRNA 320 in macrophages and are associated with aortic dissection[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 370(1): 98-102.
- [28] 舒刘芳, 姜希娟, 杨琳, 等. 血管平滑肌细胞表型转换对动脉粥样硬化的作用研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(1): 99-102.
- [29] Zhang W, Liu D, Han X, et al. MicroRNA-451 inhibits vascular smooth muscle cell migration and intimal hyperplasia after vascular injury via Ywhaz/p38 MAPK pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2019, 379(2): 214-224.
- [30] 王雪琴, 何雪梅, 周翔宇, 等. miRNA 在动脉硬化闭塞症中调控血管平滑肌的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 24(2): 210-215.
- [31] Huang LN, Ma WY, Ma YD, et al. Exosomes in mesenchymal stem cells, a new therapeutic strategy for cardiovascular diseases? [J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(2): 238-245.
- [32] 任应国, 张保朝, 贾东佩, 等. miR-130a 对大鼠基底动脉血管平滑肌细胞活力和凋亡的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(6): 989-995.
- [33] 陈祺, 许强华. 血管发育相关 microRNAs 的研究进展[J]. *生理学报*, 2018, 70(5): 548-556.
- [34] Lee T, Mintz CS, Matsumura M, et al. Prevalence, predictors, and clinical presentation of calcified nodule as assessed by optical coherence tomography[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2017, 10(8): 883-891.
- [35] New SE, Goettsch C, Aikawa M, et al. Macrophage-derived matrix vesicles: an alternative novel mechanism for microcalcification in atherosclerotic plaques[J]. *Circ Res*, 2013, 113(1): 72-77.
- [36] Pugliese G, Iacobini C, Blasetti FC, et al. The dark bright side of atherosclerotic calcification[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 238(2): 220-230.
- [37] 崔源源, 段文慧, 史大卓. 微钙化与易损斑块的研究进展[J]. *心脏杂志*, 2014, 26(5): 595-598.
- [38] Badi I, Mancinelli L, Polizzotto A, et al. miR-34a promotes vascular smooth muscle cell calcification by downregulating SIRT1 (sirtuin 1) and Axl (AXL receptor tyrosine kinase)[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(9): 2079-2090.
- [39] Chen Q, Yang F, Guo M, et al. MiRNA-34a reduces neointima formation through inhibiting smooth muscle cell proliferation and migration[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 89(Pt A): 75-86.
- [40] 龚海燕, 祖旭宇, 申莹莹, 等. microRNA 调节血管钙化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(12): 1279-1282.
- [41] Georgantas RW 3rd, Heldreth R, Morisot S, et al. CD34⁺ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(8): 2750-2755.
- [42] Girardot M, Pecquet C, Boukour S, et al. miR-28 is a thrombopoietin receptor targeting microRNA detected in a fraction of myeloproliferative neoplasm patient platelets [J]. *Blood*, 2010, 116(3): 437-445.
- [43] Kaudewitz D, Skrbplin P, Bender LH, et al. Association of microRNAs and YRNAs with platelet function[J]. *Circ Res*, 2016, 118(3): 420-432.
- [44] Garcia A, Dunoyer-Geindre S, Zapilko V, et al. Function validation of microRNA-126-3p as a platelet reactivity regulator using human haematopoietic stem cells[J]. *Thromb Haemost*, 2019, 119(2): 254-263.
- [45] Nagalla S, Shaw C, Kong X, et al. Platelet microRNA-mRNA co-expression profiles correlate with platelet reactivity [J]. *Blood*, 2011, 117(19): 5189-5197.
- [46] Edelstein LC, Simon LM, Montoya RT, et al. Racial differences in human platelet PAR4 reactivity reflect expression of PCTP and miR-376c[J]. *Nat Med*, 2013, 19(12): 1609-1616.
- [47] Mao G, Songdej N, Voora D, et al. Transcription factor RUNX1 regulates platelet PCTP (phosphatidylcholine transfer protein): implications for cardiovascular events; differential effects of RUNX1 variants[J]. *Circulation*, 2017, 136(10): 927-939.
- [48] Landry P, Plante I, Ouellet DL, et al. Existence of microRNA pathway in anucleate platelets[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(9): 961-966.
- [49] 黄明艳, 高嘉良, 刘超, 等. 中医药辨治动脉硬化规律探析[J]. *中国临床保健杂志*, 2018, 21(6): 834-837.
- [50] 袁绪胜. 中药有效成分抗动脉粥样硬化作用研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2013: 1-5.
- [51] 朱敬伟, 戴国华, 姚静, 等. 益气活血中药对急性心肌梗死病人血浆 miR-223-3p、miR-132-5P 表达的影响[J]. *中西医结合心血管病杂志*, 2016, 14(9): 939-943.
- [52] 吴爱明. 稳心颗粒干预 MI 大鼠 miR-1/miR-133 表达改善缝隙连接和心室重构防治房颤研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018: 2-3.
- [53] Martinez-Nunez RT, Louafi F, Sanchez-Elsner T. The interleukin 13 (IL-13) pathway in human macrophages is modulated by microRNA-155 via direct targeting of interleukin 13 receptor1[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(3): 1786-1794.