

本文引用: 马战友, 李艳涛, 强蓓蓓, 等. 颈动脉粥样硬化斑块中 miR-499 及 HMGB1 表达的变化及生物学意义 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(3): 225-231.

[文章编号] 1007-3949(2022)30-03-0225-07

· 实验研究 ·

颈动脉粥样硬化斑块中 miR-499 及 HMGB1 表达的变化及生物学意义

马战友¹, 李艳涛¹, 强蓓蓓¹, 高丽丽²

(1. 河南省三门峡市中心医院神经内科, 河南省三门峡市 472100; 2. 福建中医药大学第二人民医院神经内科, 福建省福州市 350000)

[关键词] 颈动脉粥样硬化; miR-499; 高迁移率族蛋白 1; 靶基因

[摘要] 目的 研究颈动脉粥样硬化斑块中微小 RNA-499 (miR-499) 及高迁移率族蛋白 1 (HMGB1) 表达的变化及生物学意义。方法 选择 2018 年 1 月—2020 年 12 月期间在河南省三门峡市中心医院诊断为颈动脉粥样硬化患者作为颈动脉粥样硬化组、体检健康者作为对照组, 检测外周血 miR-499 表达水平及血清 HMGB1 含量。将载脂蛋白 E (ApoE) 基因敲除小鼠进行分组干预, 通过高胆固醇饲料喂养建立颈动脉粥样硬化斑块模型, 尾静脉注射 miR-NC、miR-499、NC 慢病毒 (Lenti-NC)、HMGB1 慢病毒 (Lenti-HMGB1), 检测颈动脉粥样硬化斑块的病理改变及 miR-499、HMGB1 的表达水平; 培养人脐静脉内皮细胞 (HUVEC), 采用双荧光素酶报告基因验证 miR-499 靶向 HMGB1。结果 颈动脉粥样硬化组患者外周血 miR-499 表达水平低于对照组, 血清 HMGB1 含量高于对照组且 miR-499 表达水平与血清 HMGB1 含量呈负相关 ($P < 0.05$)。模型组小鼠颈动脉粥样硬化斑块中 miR-499 表达水平低于对照组, HMGB1 表达水平高于对照组; miR-499+模型组小鼠颈动脉粥样硬化斑块病理改变较 miR-NC+模型组改善, miR-499 表达水平高于 miR-NC+模型组, HMGB1 表达水平低于 miR-NC+模型组 ($P < 0.05$); Lenti-HMGB1+miR-499+模型组小鼠颈动脉粥样硬化斑块病理改变较 Lenti-NC+miR-499+模型组加重, HMGB1 表达水平高于 Lenti-NC+miR-499+模型组。miR-499 组 HUVEC 细胞中野生型 HMGB1 报告基因的荧光值明显低于 miR-NC 组 ($P < 0.05$)。结论 miR-499 靶向 HMGB1 参与颈动脉粥样硬化斑块的形成。

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A

Expression and biological significance of miR-499 and HMGB1 in carotid atherosclerotic plaque

MA Zhanyou¹, LI Yantao¹, QIANG Beibei¹, GAO Lili²

(1. Department of Neurology, Sanmenxia Central Hospital of Henan Province, Sanmenxia, Henan 472100; 2. Department of Neurology, the Second People's Hospital, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350000, China)

[KEY WORDS] carotid atherosclerosis; miR-499; high mobility group protein 1; target gene

[ABSTRACT] Aim To study the expression and biological significance of microRNA-499 (miR-499) and high mobility group protein 1 (HMGB1) in carotid atherosclerotic plaque. Methods Patients with carotid atherosclerosis diagnosed in Sanmenxia Central Hospital of Henan Province from January 2018 to December 2020 were enrolled in the carotid atherosclerosis group, and healthy people were enrolled in the control group. The expression level of miR-499 in peripheral blood and the content of HMGB1 in serum were detected. Apolipoprotein E (ApoE) knockout mice were divided into groups and fed with high cholesterol diet to establish carotid atherosclerotic plaque model. miR-NC, miR-499, NC lentivirus (lenti-NC) and HMGB1 lentivirus (lenti-HMGB1) were given by tail vein injection. Then the pathological changes, the expression levels of miR-499 and HMGB1 in carotid atherosclerotic plaque were determined. Human umbili-

[收稿日期] 2021-04-15

[修回日期] 2021-05-24

[基金项目] 福建省卫生健康委员会项目 [(2019)605 号]

[作者简介] 马战友, 硕士, 副主任医师, 研究方向为脑血管病、神经免疫, E-mail 为 mzy751210@126.com。通信作者高丽丽, 硕士, 副主任医师, 研究方向为脑血管病、周围神经疾病等, E-mail 为 gaolilidexingfu@163.com。

cal vein endothelial cells (HUVEC) were cultured and double luciferase reporter gene was used to verify the targeted binding of miR-499 and HMGB1. **Results** The expression level of miR-499 in peripheral blood of carotid atherosclerosis group was lower than that of control group, and the content of HMGB1 in serum was higher than that of control group, and the expression level of miR-499 was negatively correlated with the content of HMGB1 in serum ($P<0.05$). The expression level of miR-499 in carotid atherosclerotic plaque of model group was lower than that of control group, and the expression level of HMGB1 was higher than that of control group; the pathological changes of carotid atherosclerotic plaque in miR-499+model group were better than those in miR-NC+model group, the expression level of miR-499 in carotid atherosclerotic plaque was higher than that of miR-NC+model group, the expression level of HMGB1 was lower than that of miR-NC+model group. The pathological changes of carotid atherosclerotic plaque in lenti-HMGB1+miR-499+model group were more severe than those in lenti-NC+miR-499+model group, and the expression level of HMGB1 was higher than that in lenti-NC+miR-499+model group. The fluorescence value of wild-type HMGB1 reporter gene in miR-499 group was significantly lower than that in miR-NC group ($P<0.05$). **Conclusion** miR-499 targeting HMGB1 is involved in the formation of carotid atherosclerotic plaque.

动脉粥样硬化是引起脑梗死、心肌梗死等心脑血管疾病的病理基础,以大、中动脉内膜下脂质沉积、内膜增厚、粥样斑块形成为特征,脂质沉积、血小板聚集、内皮细胞损伤、血管平滑肌细胞增殖均与粥样斑块的形成有关。炎症反应是目前已知动脉粥样硬化斑块形成的各个阶段均起关键作用的生物学环节^[1-3],高迁移率族蛋白1 (high mobility group protein 1, HMGB1)是调控炎症反应的重要炎症细胞因子之一,动脉粥样硬化动物模型的粥样硬化斑块中 HMGB1 的表达显著增加^[4],动脉粥样硬化患者血清中 HMGB1 的含量也显著增加^[5]。但动脉粥样硬化发生和发展过程中炎症反应激活、HMGB1 增加的调控机制尚不清楚。

近些年,微小 RNA (microRNA, miRNA) 在心脑血管疾病中的作用受到越来越多关注,microRNA 能够在转录后水平调节基因表达并参与炎症反应、细胞凋亡、氧化应激等生物学环节的调控。心脑血管疾病相关的研究证实,在心肌缺氧复氧损伤过程中 miR-499 表达降低,过表达 miR-499 能够靶向 HMGB1 起到减轻心肌细胞损伤、抑制炎症反应的作用^[6]。但 miR-499 在动脉粥样硬化过程中是否靶向 HMGB1 并未阐明。基于此,本研究将通过临床样本检测、动物实验及细胞实验探究颈动脉粥样硬化斑块中 miR-499 及 HMGB1 表达的变化及生物学意义,旨在阐明 miR-499 靶向 HMGB1 在动脉粥样硬化斑块形成中的作用及机制。

1 材料和方法

1.1 临床样本

选择 2018 年 1 月—2020 年 12 月期间在河南省三门峡市中心医院诊断为颈动脉粥样硬化患者的

外周血及体检健康者的外周血作为本研究的临床样本,分别作为颈动脉粥样硬化组与对照组。颈动脉粥样硬化患者经颈动脉 B 超检查诊断,未接受降脂、降糖、抗血小板治疗,共 150 例,包括男性 85 例、女性 65 例,年龄 34~58 岁,平均 (48.12 ± 10.23) 岁。健康志愿者经颈动脉 B 超检查排除颈动脉病变,共 120 例,包括男性 72 例、女性 48 例,年龄 35~55 岁,平均 (46.51 ± 9.23) 岁。颈动脉粥样硬化组与对照组一般资料的比较无统计学差异 ($P>0.05$)。

1.2 实验动物

载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 基因敲除小鼠购自北京维通利华实验动物公司,雄性,8~10 周龄,体质量 18~20 g (许可证: SCXK(京)2016-0011)。

1.3 细胞及试剂

人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 购自美国 ATCC 公司。miR-阴性对照 (negative control, NC)、miR-499 购自上海吉玛公司; NC 慢病毒、HMGB1 慢病毒 (滴度 1×10^9 TU/L) 购自上海吉凯公司。

1.4 动物分组及干预

为研究 miR-499 及 HMGB1 在颈动脉粥样硬化斑块中表达的变化,将 ApoE 基因敲除小鼠分为对照组和模型组,每组各 10 只。对照组给予常规饲料喂养 15 周,模型组给予高胆固醇饲料(含有质量分数 1.25% 胆固醇和 21% 脂肪)喂养 15 周。

为研究 miR-499 对颈动脉粥样硬化斑块的改善作用及 HMGB1 表达的调控作用,将 ApoE 基因敲除小鼠分为 miR-NC 组、miR-NC+模型组、miR-499+模型组,miR-NC 组给予常规饲料喂养 15 周,miR-NC+模型组、miR-499+模型组给予高胆固醇饲料喂养 15 周。第 13、14、15 周时,尾静脉注射 20 mg/kg 的

miR-NC 或 miR-499, 每周 2 次。

为研究 HMGB1 在 miR-499 改善颈动脉粥样硬化斑块中的作用, 将 ApoE 基因敲除小鼠分为 Lenti-NC+miR-NC 组、Lenti-NC+miR-NC+模型组、Lenti-NC+miR-499+模型组、Lenti-HMGB1+miR-499+模型组, Lenti-NC+miR-NC 组给予常规饲料喂养 15 周, Lenti-NC+miR-NC+模型组、Lenti-NC+miR-499+模型组、Lenti-HMGB1+miR-499+模型组给予高胆固醇饲料喂养 15 周。第 13、14、15 周时, 同时尾静脉注射 100 μ L 含有 20 mg/kg miR-NC 或 miR-499 的悬液及 100 μ L NC 慢病毒悬液或 HMGB1 慢病毒悬液, 每周 2 次。

1.5 miR-499 表达的检测

采用 miRNA 提取试剂盒(北京天根生化公司)提取外周血及小鼠颈动脉粥样硬化斑块中的 miRNA, 采用 miRNA cDNA 第一链合成试剂盒(北京天根生化公司)将 miRNA 反转录为 cDNA, 采用 miRNA 荧光定量 PCR 试剂盒对 cDNA 中的 miR-499 及 U6 进行扩增, 按照试剂盒说明书配置反应体系、设置反应程序, 完成 PCR 反应后以 U6 为内参, 计算 miR-499 的表达水平。

1.6 HMGB1 表达的检测

取小鼠颈动脉粥样硬化斑块, 加入组织裂解液提取蛋白, 测定蛋白浓度后将含有 30 μ g 蛋白的样本加入聚丙烯酰胺凝胶进行电泳, 而后电转移至硝酸纤维素(NC)膜, NC 膜放入 5% 脱脂牛奶中室温封闭 1 h, 洗膜 3 次后放入 1:1000 稀释的 HMGB1 一抗(美国 Abcam 公司)或 1:5000 稀释的 β -actin 一抗(美国 Sigma 公司)中 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日, 洗膜 3 次后将 NC 膜放入 1:5000 稀释的二抗中室温孵育 1 h, 最后在凝胶成像仪(美国 Bio-rad)中显影得到蛋白条带, 计算 HMGB1/ β -actin 条带灰度值作为 HMGB1 的蛋白表达水平。

1.7 血清指标的检测

取颈动脉粥样硬化组与对照组的外周血样本, 静置离心获得血清后采用酶联免疫吸附试剂盒(上海酶联公司)检测 HMGB1 的含量; 取各组小鼠的外周血样本, 静置离心获得血清后采用全自动生化分析仪检测甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)的含量。

1.8 细胞实验

将 HUVEC 接种在培养板内并分为 miR-NC 组和 miR-499 组, miR-NC 组共转染 miR-NC 及双荧光素酶报告基因, miR-499 共转染 miR-499 及双荧光素酶报告基因。48 h 后, 采用双荧光素酶报告基因

检测试剂盒(丹麦 Promega 公司)检测双荧光素酶报告基因的萤火虫荧光和海肾荧光, 计算萤火虫荧光值/海肾荧光值作为报告基因的荧光活力。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件录入数据, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析, 有统计学差异的进一步采用 LSD-*t* 法进行两两比较, 相关性分析采用 Pearson 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 颈动脉粥样硬化组与对照组外周血 miR-499 表达和血清 HMGB1 含量

颈动脉粥样硬化组患者外周血 miR-499 表达水平低于对照组, 血清 HMGB1 含量高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$; 表 1); 颈动脉粥样硬化组患者 miR-499 表达水平与血清 HMGB1 含量呈负相关关系(图 1)。

表 1. 两组受试者外周血 miR-499 表达水平和血清 HMGB1 含量的比较

Table 1. Comparison of miR-499 expression level in peripheral blood and HMGB1 content in serum between the two groups

分组	n	miR-499	HMGB1/(μ g/L)
对照组	120	1.00 \pm 0.25	15.43 \pm 2.77
颈动脉粥样硬化组	150	0.67 \pm 0.20	26.38 \pm 9.01
<i>t</i>		12.051	12.833
<i>P</i>		0.000	0.000

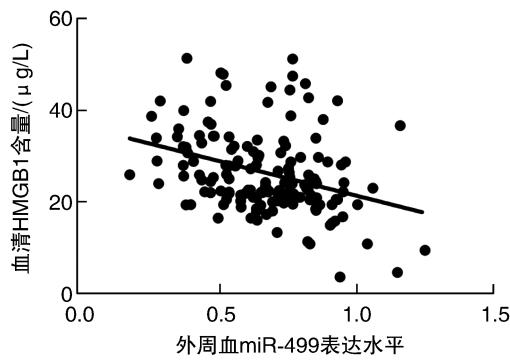


图 1. 颈动脉粥样硬化组患者 miR-499 表达水平与血清 HMGB1 含量的相关性

Figure 1. Correlation between miR-499 expression level and serum HMGB1 content in patients with carotid atherosclerosis

2.2 模型组小鼠颈动脉粥样硬化斑块中 miR-499、HMGB1 表达水平的变化

与对照组比较,模型组小鼠颈动脉粥样硬化斑

块中 miR-499 表达水平降低, HMGB1 的表达水平明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$;图 2)。

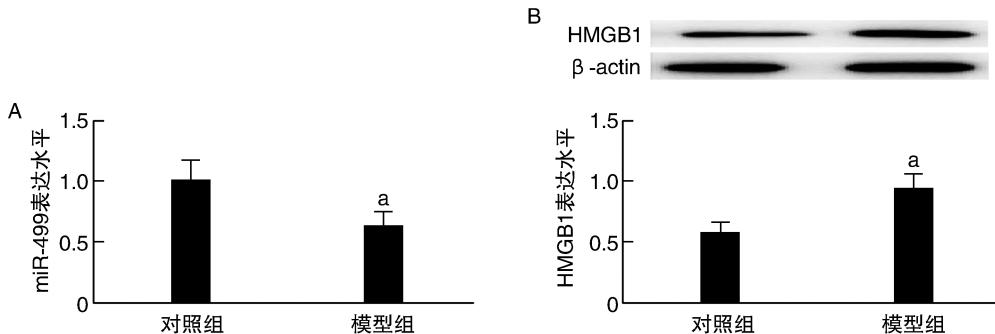


图 2. 对照组和模型组小鼠 miR-499(图 A)及 HMGB1(图 B)表达水平

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较。

Figure 2. Comparison of miR-499 (figure A) and HMGB1 (figure B) expression levels between control group and model group

2.3 尾静脉注射 miR-499 模拟物对颈动脉粥样硬化小鼠血管病理改变的影响

miR-NC 组小鼠颈动脉无明显斑块, 内膜光滑; miR-NC+模型组小鼠颈动脉内有明显粥样斑块形

成, 管腔狭窄, 内膜不规则增厚, 巨噬细胞及泡沫细胞大量浸润; miR-499+模型组颈动脉内斑块形成、管腔狭窄、内膜不规则增厚的病理改变明显改善, 巨噬细胞及泡沫细胞浸润减少(图 3)。

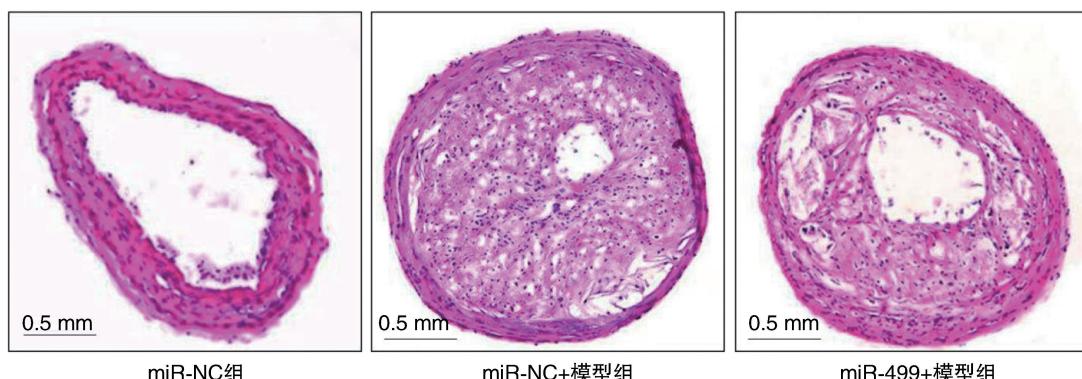


图 3. miR-499 模拟物对颈动脉粥样硬化小鼠血管病理改变的影响(HE 染色)

Figure 3. Effect of miR-499 simulant on vascular pathological changes in carotid atherosclerosis mice (HE staining)

2.4 尾静脉注射 miR-499 模拟物对颈动脉粥样硬化小鼠生物化学指标的影响

与 miR-NC 组比较, miR-NC+模型组小鼠血清 TC、TG、LDLC 含量均明显升高($P<0.05$);与 miR-NC+模型组比较, miR-499+模型组小鼠血清 TC、TG、LDLC 含量无明显改变($P>0.05$;表 2)。

2.5 尾静脉注射 miR-499 模拟物对颈动脉粥样硬化小鼠 miR-499 和 HMGB1 表达的影响

与 miR-NC 组比较, miR-NC+模型组小鼠颈动

脉粥样硬化斑块中 miR-499 表达水平显著降低, HMGB1 的表达水平明显升高($P<0.05$);与 miR-NC+模型组比较, miR-499+模型组小鼠颈动脉粥样硬化斑块中 miR-499 表达水平明显升高, HMGB1 的表达水平明显降低($P<0.05$;图 4)。

2.6 尾静脉注射 HMGB1 慢病毒对 miR-499 改善颈动脉粥样硬化小鼠病理改变的影响

Lenti-NC+miR-NC+模型组颈动脉内有明显粥样斑块形成、管腔狭窄、内膜不规则增厚, 颈动脉粥

样硬化斑块中 HMGB1 的表达水平明显高于 Lenti-NC+miR-NC 组 ($P<0.05$)；Lenti-NC+miR-499+模型组颈动脉内粥样斑块形成、管腔狭窄、内膜不规则增厚的病理改变明显改善，巨噬细胞及泡沫细胞浸润减少，颈动脉粥样硬化斑块中 HMGB1 的表达水平明显低于 Lenti-NC+miR-499+模型组 ($P<0.05$)；Lenti-HMGB1+miR-499+模型组颈动脉内粥样斑块形成、管腔狭窄、内膜不规则增厚的病理改变明显加重，巨噬细胞及泡沫细胞浸润增加，颈动脉粥样硬化斑块中 HMGB1 的表达水平明显高于 Lenti-NC+miR-499+模型组 ($P<0.05$ ；图 5)。

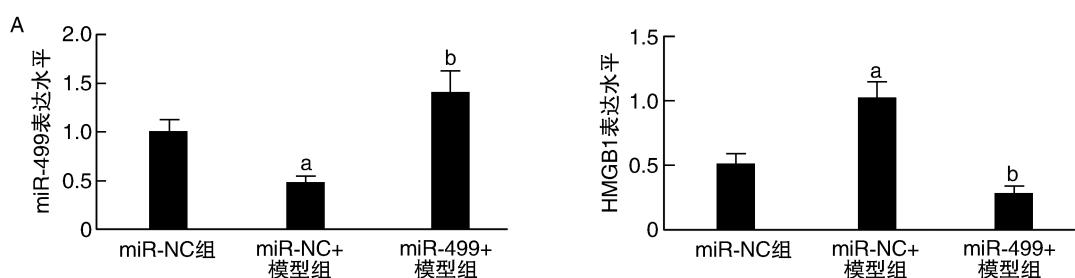


图 4. miR-499 模拟物对颈动脉粥样硬化小鼠 miR-499(图 A)和 HMGB1(图 B)表达的影响
a 为 $P<0.05$ ，与 miR-NC 组比较；b 为 $P<0.05$ ，与 miR-NC+模型组比较。

Figure 4. Effect of miR-499 simulant on the expression of miR-499 (figure A) and HMGB1 (figure B) in carotid atherosclerosis mice

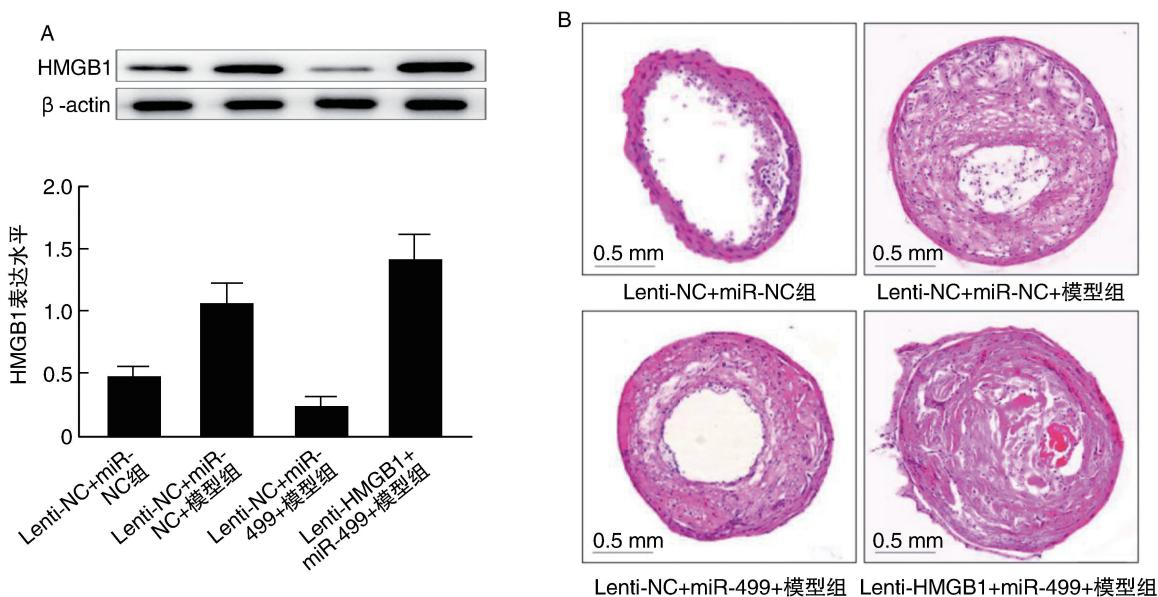


图 5. Lenti-NC+miR-NC 组、Lenti-NC+miR-NC+模型组、Lenti-NC+miR-499+模型组、Lenti-HMGB1+miR-499+模型组小鼠 HMGB1 表达及血管病理改变的比较

A 为 HMGB1 表达；B 为血管病理改变。a 为 $P<0.05$ ，与 Lenti-NC+miR-NC 组比较；b 为 $P<0.05$ ，与 Lenti-NC+miR-NC+模型组比较；c 为 $P<0.05$ ，与 Lenti-NC+miR-499+模型组比较。

Figure 5. Comparison of HMGB1 expression and vascular pathological changes in Lenti-NC+miR-NC group, Lenti-NC+miR-NC+model group, Lenti-NC+miR-499+model group and Lenti-HMGB1+miR-499+model group

表 2. miR-499 模拟物对颈动脉粥样硬化小鼠生物化学指标的影响

Table 2. Effect of miR-499 simulant on biochemical indexes of carotid atherosclerosis mice

分组	n	单位: mmol/L		
		TG	TC	LDLC
miR-NC 组	10	1.94±0.35	4.51±0.95	2.67±0.62
miR-NC+模型组	10	4.11±0.95 ^a	7.45±1.15 ^a	4.23±0.72 ^a
miR-499+模型组	10	3.95±0.87	7.61±1.35	4.31±0.94

注: a 为 $P<0.05$ ，与 miR-NC 组比较。

2.7 miR-499 靶向 HMGB1 的双荧光素酶报告基因验证

与 miR-NC 组比较, miR-499 组 HUVEC 中野生型 HMGB1 报告基因的荧光值明显降低($P<0.05$), 突变型 HMGB1 报告基因的荧光值无明显变化($P>0.05$; 图 6)。

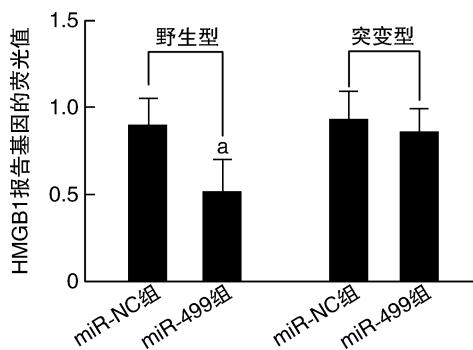


图 6. miR-499 靶向 HMGB1 的双荧光素酶报告基因验证

a 为 $P<0.05$, 与 miR-NC 组比较。

Figure 6. Validation of double luciferase reporter gene targeting HMGB1 by miR-499

3 讨 论

炎症反应在动脉粥样硬化斑块形成中起关键作用, 多种炎症细胞因子表达和分泌增多通过引起血管内皮细胞损伤、促进血管平滑肌细胞增殖、激活血小板聚集和黏附、趋化炎症细胞浸润和泡沫细胞形成等方式引起粥样斑块形成^[7-9]。HMGB1 是重要的促炎细胞因子, 在动脉粥样硬化中的作用已经被多项临床和基础研究证实^[4-5,10], 但在动脉粥样硬化发病过程中 HMGB1 的调控机制尚不清楚。心脑血管相关的研究证实, 缺氧复氧的心肌细胞、缺血的心肌组织中 HMGB1 表达增加, 过表达 miR-499 能够下调心肌中 HMGB1 的表达水平、抑制心肌中的炎症反应。基于此提出假设, miR-499 可能是动脉粥样硬化斑块形成中 HMGB1 的上游调控机制, miR-499 靶向 HMGB1 可能参与动脉粥样硬化斑块的形成。

为了验证这一假设, 本研究首先进行了临床样本的检测, 通过外周血 miR-499 表达及血清 HMGB1 含量的检测及比较可知: 与对照组健康志愿者比较, 颈动脉粥样硬化组患者外周血 miR-499 表达水平降低、血清 HMGB1 含量增加, 且 miR-499 与 HMGB1 具有负相关关系; 而后在颈动脉粥样硬化斑

块模型小鼠中检测 miR-499、HMGB1 表达的变化可知: 与接受常规喂养的对照小鼠比较, 接受高胆固醇喂养的模型小鼠颈动脉粥样硬化斑块中 miR-499 的表达水平降低、HMGB1 的表达水平增加, 与颈动脉粥样硬化患者外周血及血清中 miR-499、HMGB1 的变化趋势一致。以上结果初步提示 miR-499 表达降低参与颈动脉粥样硬化斑块的形成, 靶向 HMGB1 是可能的分子机制。

多项心脑血管疾病相关的研究证实 miR-499 在缺血缺氧诱导心肌细胞、神经元损伤过程中发挥保护作用^[11-13]。为了阐明 miR-499 在颈动脉粥样硬化斑块形成中的作用, 本研究通过尾静脉注射 miR-499 的方式实现了 miR-499 的过表达, 通过 HE 染色观察颈动脉粥样硬化斑块的病理改变可知: 过表达 miR-499 后, 斑块形成、管腔狭窄、内膜不规则增厚、巨噬细胞及泡沫细胞浸润的病理改变均明显改善, 表明过表达 miR-499 对颈动脉粥样硬化斑块具有改善作用。进一步分析 HMGB1 表达及生物化学指标的变化可知: 过表达 miR-499 后颈动脉粥样硬化斑块中 HMGB1 的表达水平降低, 而血清中 TG、TC、LDLC 的水平无明显变化, 表明 miR-499 改善动脉粥样硬化的作用与改善脂代谢、降低血脂无关, 可能与降低 HMGB1 的表达有关。

HMGB1 促进动脉粥样硬化的作用已经被多项基础研究证实, 过表达 HMGB1 在泡沫细胞形成^[14]、血管平滑肌细胞增殖^[15]、氧化型低密度脂蛋白诱导内皮细胞损伤^[16]中起到促进作用。本研究已证实 miR-499 能改善动脉粥样硬化、降低 HMGB1 的表达, 为了进一步阐明 miR-499 是否通过 HMGB1 发挥上述作用, 本研究首先在 HUVEC 中进行了双荧光素酶报告基因实验, 结果显示: miR-499 组 HUVEC 中 HMGB1 报告基因的荧光活力降低, 表明 miR-499 靶向 HMGB1。在颈动脉粥样硬化斑块模型小鼠中, 同时尾静脉注射 miR-499 及 HMGB1 慢病毒, 通过慢病毒过表达 HMGB1 后, miR-499 改善颈动脉粥样硬化斑块的作用发生逆转, 表明 miR-499 至少部分通过抑制 HMGB1 的表达发挥改善颈动脉粥样硬化斑块的作用。

综上所述, 在颈动脉粥样硬化斑块的形成过程中 miR-499 表达降低、HMGB1 表达增加, miR-499 对 HMGB1 的表达具有靶向调控作用, 低表达的 miR-499 可能通过增加 HMGB1 的表达参与颈动脉粥样硬化斑块的形成, 过表达 miR-499 则通过抑制 HMGB1 的表达改善颈动脉粥样硬化斑块。未来, miR-499 靶向 HMGB1 可作为研究动脉粥样硬化发

病机制及防治手段的新靶点。

[参考文献]

- [1] GENCER S, EVANS B R, VAN DER VORST E P C, et al. Inflammatory chemokines in atherosclerosis [J]. *Cells*, 2021, 10(2): 226.
- [2] LIU X, WU J, TIAN R, et al. Targeting foam cell formation and macrophage polarization in atherosclerosis: the therapeutic potential of rhubarb [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129: 110433.
- [3] WANG L, TANG C. Targeting platelet in atherosclerosis plaque formation: current knowledge and future perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9760.
- [4] KAKE S, KAWAGUCHI H, NAGASATO T, et al. Association between HMGB1 and thrombogenesis in a hyperlipaemia-induced microminipig model of atherosclerosis [J]. *In Vivo*, 2020, 34(4): 1871-1874.
- [5] 朱丹, 郑延坤. 动脉粥样硬化患者血清高迁移率族蛋白 1 对 Th17/Treg 平衡的调节作用研究 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2020, 12(8): 936-940.
- [6] 周慧良, 甘受益, 李宾, 等. MiR-499 靶向 HMGB1 保护缺氧复氧心肌细胞损伤的分子机制探讨 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(12): 1456-1460.
- [7] KUNIMURA K, MIKI S, TAKASHIMA M, et al. S-1-propenylcysteine improves TNF- α -induced vascular endothelial barrier dysfunction by suppressing the GEF-H1/RhoA/Rac pathway [J]. *Cell Commun Signal*, 2021, 19(1): 17.
- [8] MOUROUZIS K, OIKONOMOU E, SIASOS G, et al. Pro-inflammatory cytokines in acute coronary syndromes [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(36): 4624-4647.
- [9] CUSTODIO-CHABLÉ S J, LEZAMA R A, REYES-MALDONADO E. Platelet activation as a trigger factor for inflammation and atherosclerosis [J]. *Cir Cir*, 2020, 88(2): 233-243.
- [10] ZHANG X, FERNÁNDEZ-HERNANDO C. Endothelial HMGB1 (high-mobility group box 1) regulation of LDL (low-density lipoprotein) transcytosis: a novel mechanism of intracellular HMGB1 in atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(1): 217-219.
- [11] JIA H, QU M, FAN G, et al. miR-499-5p suppresses C-reactive protein and provides neuroprotection in hypoxic-ischemic encephalopathy in neonatal rat [J]. *Neurosci Res*, 2020, 161: 44-50.
- [12] SHI Y, HAN Y, NIU L, et al. MiR-499 inhibited hypoxia/reoxygenation induced cardiomyocytes injury by targeting SOX6 [J]. *Biotechnol Lett*, 2019, 41(6/7): 837-847.
- [13] LI Y Q, LU J H, BAO X E, et al. MiR-499-5p protects cardiomyocytes against ischaemic injury via anti-apoptosis by targeting PDCD4 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 35607-35617.
- [14] WU H, CHEN Z, JZ C, et al. High mobility group B-1 (HMGB-1) promotes apoptosis of macrophage-derived foam cells by inducing endoplasmic reticulum stress [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(3): 1019-1029.
- [15] JANG E J, BAEK S E, KIM E J, et al. HMGB1 enhances AGE-mediated VSMC proliferation via an increase in 5-LO-linked RAGE expression [J]. *Vascul Pharmacol*, 2019, 118-119: 106559.
- [16] BAI Y, DU S, LI F, et al. Histone deacetylase-high mobility group box-1 pathway targeted by hyaconitine suppresses the apoptosis of endothelial cells [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242(5): 527-535.

(此文编辑 许雪梅)