

我国动脉粥样硬化基础研究几个热点领域的新进展

赵战芝, 姜志胜

(南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室 湖南省动脉硬化性疾病国际科技创新合作基地, 湖南省衡阳市 421001)

[专家简介] 姜志胜, 医学博士, 二级教授, 博士研究生导师, 留学归国人员, 国务院政府特殊津贴获得者, 国家卫生计生突出贡献中青年专家, 湖南省医学学科领军人才, 南华大学副校长兼衡阳医学院院长, 血管植入物开发国家与地方联合工程实验室南华大学心血管转化医学研究室主任, 动脉硬化化学湖南省重点实验室主任, 湖南省动脉硬化性疾病国际科技创新合作基地主任, 中国病理生理学会常务理事、动脉粥样硬化专业委员会主任委员, 国际动脉粥样硬化学会中国分会副主席, 《中国动脉硬化杂志》主编, 从事动脉粥样硬化病因发病学与防治、心肌缺血损伤的细胞分子机制与防治研究, 先后主持多项加拿大国家卫生研究院和中国国家自然科学基金项目, 在国内外知名刊物上发表论文 200 余篇, SCI 收录 70 余篇; 获省部级科技成果一、二等奖及教学成果一、二等奖多项, 获中国侨联与国务院侨办颁发的“科技创新人才奖”、“先进个人”及“创新成果奖”; 主编及总主编全国高等学校规划教材及专著 10 余本; 多次担任全国及国际性学术会议主席。



[关键词] 动脉粥样硬化; NLRP3 炎症小体; 焦亡; 外泌体; 肠道菌群; 外周血管脂肪组织; miRNA; lncRNA; circRNA

[摘要] 动脉粥样硬化(As)是一种好发于大、中等动脉的由多因素导致的复杂的血管壁慢性病变。其病理特征包括脂质蓄积、平滑肌细胞迁移入内膜并增殖、炎性细胞浸润、胶原沉积、斑块形成等。越来越多的证据表明, NLRP3 炎症小体、细胞焦亡、外泌体、肠道菌群、外周血管脂肪组织、非编码 RNA 等与 As 的发生发展紧密联系在一起, 并成为目前的研究热点。对上述因素在 As 发生发展中的作用的深入研究将有助于进一步理解 As 的发生机制及寻找新的有效治疗途径和生物标记物。文章对近两年来中国学者围绕上述方面进行的 As 基础研究进展作一综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Novel progress in the basic research on atherogenesis by domestic investigators

ZHAO Zhanzhi, JIANG Zhisheng

(Institute of Cardiovascular Disease, University of South China & Key Laboratory for Arteriosclerosis of Hunan Province & International Science and Technology Innovation Cooperation Base on Arteriosclerotic Disease of Hunan Province, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] atherosclerosis; NLRP3 inflammasome; pyroptosis; exosomes; gut microbiota; peripheral vascular adipose tissue; miRNA; lncRNA; circRNA

[ABSTRACT] Atherosclerosis is a complex, chronic disease caused by multiple factors, which is characterized by lipid accumulation, smooth muscle cell migration into the intima and proliferation, inflammatory cell infiltration, collagen deposition and plaque formation in the vessel wall of large- and medium-sized arteries. A growing body of evidence suggests that NLRP3 inflammasome, pyroptosis, exosomes, gut microbiota, peripheral vascular adipose tissue (PVAT), non-coding RNA and so forth are closely associated with the occurrence and development of atherosclerosis. Studying the role of NL-

[收稿日期] 2019-06-10

[修回日期] 2019-06-20

[基金项目] 国家自然科学基金(81670429、91839103); 湖南省动脉硬化性疾病国际科技创新合作基地项目(2018WK4031); 南华大学基础医学双一流建设项目资助

[作者简介] 赵战芝, 博士, 副教授, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制和防治, E-mail 为 zhaozz99@126.com。通信作者姜志胜, 教授, 博士研究生导师, E-mail 为 zsjiang2005@163.com。

RP3 inflammasome, pyroptosis and other factors in the development of atherosclerosis will help to further understand the pathogenesis of atherosclerosis and find new more effective therapeutic pathways and biomarkers. This review will summarize and discuss the current knowledge on the role of NLRP3 inflammasome, pyroptosis, exosomes, gut microbiota, PVAT, non-coding RNA in atherosclerosis development, specifically concentrating on the latest research progresses of Chinese scholars in the past two years.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种好发于大、中等动脉的以脂质蓄积和炎症为特征的血管壁慢性病变,其病变过程包括血管炎症、内皮损伤、血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)表型转化和迁移增殖、泡沫细胞形成、细胞死亡、脂质和胆固醇蓄积以及血栓形成等。围绕基本的病变过程,我国学者对As进行了大量的研究。近两年涌现出许多新的研究热点,如NOD样受体家族含热蛋白结构域蛋白3(NOD-like receptor family, pyrin domain-containing protein 3, NLRP3)炎症小体、外泌体、细胞焦亡、自噬、肠道菌群、外周血管脂肪组织、非编码RNA等。上述因素可不同程度地、直接或间接地影响As的发生发展。本文对近两年我国学者在这些方面所做的As基础研究进展作一综述(限于篇幅,部分文献没有列出)。

1 NLRP3 炎症小体与 As

炎症在As的发生发展及其并发症中有着重要影响^[1]。炎症小体是多蛋白信号复合物,它们在炎症反应中起着关键作用。在众多炎症小体中,NLRP3炎症小体在As中的作用最引人注目。该炎症小体信号通路的关键成分包括NLRP3蛋白、NLRP3衔接蛋白ASC[apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruitment domain(CARD)]和Caspase-1。NLRP3活化后,通过PYD(pyrin domain)-PYD相互作用与ASC结合,后者通过CARD与Pro-caspase-1结合。之后,Pro-caspase-1被复合物剪切成为有蛋白水解酶活性的Caspase-1。Caspase-1不仅剪切白细胞介素1 β (interleukin 1 beta, IL-1 β)和IL-18前体,使之成为有活性的IL-1 β 和IL-18,还可致细胞焦亡,从而诱导炎症反应^[1-2]。

越来越多的证据表明,在人或动物的各种致As环境中,如合并颈动脉粥样硬化的2型糖尿病患者外周血单核细胞^[3]和高脂饲养的载脂蛋白E基因缺陷(apolipoprotein E-deficient, ApoE^{-/-})小鼠As病变组织^[4],NLRP3炎症小体活性增加。而活化的NLRP3炎症小体与As的发生发展有着千丝万缕的

联系。

Wang等^[5]报道,同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)通过活性氧(reactive oxygen species, ROS)依赖机制诱导THP-1巨噬细胞NLRP3炎症小体活化,而NLRP3表达抑制、Caspase-1抑制剂逆转了Hcy诱导的IL-1 β 和IL-18产生;从高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, HHcy)ApoE^{-/-}小鼠静脉注入NLRP3 shRNA病毒悬液,不仅显著抑制了NLRP3炎症小体的活性,还降低了血浆炎症细胞因子IL-1 β 和IL-18水平、减少了病变内巨噬细胞浸润、减轻了As病变程度。表明活化的NLRP3炎症小体介导了HHcy的致As作用。晚期糖基化终产物(advanced glycation end products, AGE)可激活人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)NLRP3炎症小体,而NLRP3过表达损害脂肪细胞因子Irisin的抗炎和内皮保护功能^[6]。环境污染物丙烯醛可通过ROS-自噬途径激活HUVEC的NLRP3炎症小体,而沉默NLRP3表达显著抑制丙烯醛诱导的细胞焦亡,并增加内皮细胞(endothelial cells, EC)迁移能力^[7]。表明NLRP3炎症小体的活化损害EC功能。研究还表明,NLRP3炎症小体活化可促进泡沫细胞形成,其机制是促进巨噬细胞CD36表达和氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)摄取,减少ATP结合盒转运体A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)介导的细胞内胆固醇流出^[8],提示NLRP3炎症小体可调节巨噬细胞脂质代谢。与Hcy、AGE和ROS相反,褪黑素可通过诱导线粒体自噬以清除ROS而抑制ApoE^{-/-}小鼠As病变内NLRP3炎症小体的持续活化,并显著降低As斑块面积和斑块脆性^[4]。

综上所述,NLRP3炎症小体在多种致As因子的作用下活化并促进As的发生发展。而抑制NLRP3炎症小体活化可拮抗As。

2 细胞程序性死亡与 As

2.1 细胞焦亡与 As

细胞程序性死亡包括细胞凋亡、细胞焦亡和自

噬。其中,细胞焦亡是一种炎性细胞死亡,其特点是随着 GSDMD (gasdermin D) N-端功能域聚集到细胞膜并介导细胞膜孔形成,细胞膜的完整性迅速破坏,一些细胞内容物和炎性细胞因子释放到细胞外,最终细胞死亡,同时引发强烈的炎症反应。焦亡可发生在血管 EC、SMC 和巨噬细胞,促进血管炎症和斑块不稳定^[9]。

近两年来,我国学者对 EC 焦亡开展了一系列研究。有报道,ox-LDL 可诱导 EC 焦亡,其机制可能与调节 miR-125a-5p/TET2 通路相关^[10]。糖尿病患者患冠心病的风险显著高于非糖尿病患者。研究发现高糖可诱导人内皮细胞系 EA. hy926 焦亡,而抑制 lncRNA MALAT1 则逆转高糖诱导的 EC 焦亡,提示 EC 焦亡可能是高糖介导 As 的重要机制,且受 lncRNA MALAT1 调节^[11]。尼古丁是致 As 因子,可增加 ApoE^{-/-}小鼠 As 斑块面积和炎性细胞因子释放;体外尼古丁通过 ROS-NLRP3-ASC 通路诱导人主动脉内皮细胞焦亡,提示 EC 焦亡可能是尼古丁引发 As 的重要机制^[12]。在高脂饲养的 ApoE^{-/-}小鼠主动脉内皮,焦亡相关基因 NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1、NF- κ B/GSDMD、GSDMD N-termini 表达增高,表明 As 病变 EC 发生焦亡^[13]。进一步研究发现,具有抗 As 作用的褪黑素降低 ApoE^{-/-}小鼠主动脉内皮焦亡相关基因的表达,提示抑制 EC 焦亡是拮抗 As 的重要途径^[13]。

2.2 自噬与 As

自噬是一种亚细胞过程,通过溶酶体降解受损的蛋白质和细胞器。在维护蛋白质、线粒体的质量和细胞内稳态及机体发育、分化和组织重塑方面,基础水平的自噬都起着重要作用^[14]。在病理条件下,一些致 As 因子可诱导血管 EC、SMC 和巨噬细胞自噬增强^[15-16]。例如,尼古丁可诱导 VSMC 自噬,而自噬促进 VSMC 向合成型转换,增强其迁移能力,自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤 (3-Methyladenine) 逆转 VSMC 自噬和表型转换^[16]。雷帕霉素 (Rapamycin, 一种自噬诱导剂) 可增强单核细胞和血管 EC 黏附,而 Beclin1 和 LC3 基因沉默逆转这一作用^[17]。鉴于 VSMC 表型转换和单核/内皮细胞黏附是 As 的重要病理过程,上述实验结果提示自噬促进 As 形成。

另有研究发现,雷帕霉素经下调 mTORC1 信号诱导 SMC 自噬,可减轻 ox-LDL 处理的 SMC 衰老,并抑制 ApoE^{-/-}小鼠 As 发展、增加斑块胶原和 α -SMA 阳性细胞含量,缩小坏死核面积^[18]。表明自噬也具有抗 As 的作用。此外,抑制细胞外基质金属

蛋白酶诱导剂 (extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN) 表达通过增强 ApoE^{-/-}小鼠骨髓源性巨噬细胞自噬而抑制炎性细胞因子释放,同时促进 ApoE^{-/-}小鼠斑块巨噬细胞自噬并减轻 As 程度^[15]。阿托伐他汀可增加易损 As 斑块和 ox-LDL 刺激的巨噬细胞自噬活性,而自噬介导了阿托伐他汀减少脂质沉积、抑制 NLRP3 炎症小体活化、改善易损 As 斑块稳定性的效应^[19]。固醇调节元件结合蛋白裂解激活蛋白 (sterol regulatory element binding protein cleavage-activating protein, SCAP) 是一种胆固醇传感器。VSMC 特异性 SCAP 表达抑制显著增加主动脉 SMC 自噬而减少 ApoE^{-/-}小鼠主动脉 As 斑块。进一步实验发现,SCAP 表达抑制通过降低细胞内氧化应激水平、增加 AMPK 磷酸化而增强动脉 SMC 自噬,而自噬促进细胞内脂质清除、减少细胞内脂质含量^[20]。在抗氧化剂 Mito-tempol 处理的荷脂 THP-1 巨噬细胞,自噬流增强,而自噬可介导脂质降解、增加 ABCA 1/G1 介导的胆固醇流出,抑制泡沫细胞形成^[21]。此外,自噬-溶酶体依赖性降解 CD36 而减少 ox-LDL 摄取可能是自噬抑制泡沫细胞形成的另一机制^[22]。

综上所述,在 As 环境下,自噬可被诱导增强。自噬既可促进 As 又可抑制 As。它不仅通过调节 EC 与单核细胞黏附、SMC 表型转换和迁移等促进 As 发生发展,还通过抑制 SMC 衰老、巨噬细胞泡沫细胞形成等抑制 As 形成、增加斑块稳定性。自噬发挥好的或坏的作用可能取决于 As 的发展阶段及致 As 环境。

3 DNA 甲基化修饰与 As

DNA 甲基化指甲基基团在 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferases, DNMT) 的催化作用下添加到 CpG 二核苷酸序列的胞嘧啶上。通常,启动子高甲基化与转录抑制相关^[23]。

研究表明,CpG 中胞嘧啶高甲基化是 As 的一个伴随特征^[23]。在老年冠心病患者的外周单核细胞,DNA 甲基化和羟甲基化水平较对照组明显升高,且与冠状动脉粥样硬化程度呈正相关^[24],提示 DNA 甲基化促进 As 发展。的确,过表达 DNMT1 通过催化 Krüppel 样因子 4 (Krüppel-like factor 4, KLF 4) 启动子甲基化、下调 KLF 4 表达,促进脂多糖 (LPS) 和 γ 干扰素 (IFN- γ) 诱导的 M1 巨噬细胞活化。而 DNMT1 缺失可减轻 ApoE^{-/-} As 斑块炎症及病变程度。重要的是 DNMT1 在人、小鼠 As 斑块巨

噬细胞中表达升高,进一步表明 DNA 甲基化促进 As^[25]。据报道,人 As 斑块 SMAD7 基因启动子高甲基化水平与血清 Hcy 水平和颈动脉斑块评分呈正相关^[26]。而且,SMAD7 基因启动子在 Hcy 刺激的人脐静脉 SMC 呈现高甲基化,使 SMAD7 mRNA 和蛋白水平下调,促进 NF- κ B 活化及炎症细胞因子表达^[27]。表明 SMAD7 DNA 高甲基化介导血管细胞炎症和 As。

除了致 As,DNA 高甲基化也与抗 As 相关。例如,血管过氧化物酶 1 (vascular peroxidase 1, VPO1) 启动子甲基化水平的上调介导了叶酸抑制氧化应激诱导的 EC 凋亡^[28];单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的启动子高甲基化与叶酸处理的 ApoE^{-/-}小鼠 As 病变面积缩小相关^[29]。

研究揭示,DNA 低甲基化也与 As 相关。在颈动脉粥样硬化斑块中,信号淋巴细胞激活分子家族成员 7 (signaling lymphocytic activation molecule family member 7, SLAMF7) 基因启动子呈低甲基化,SLAMF7 表达上调,尤其在不稳定性斑块的表达显著高于稳定性斑块。而斑块巨噬细胞 SLAMF7 缺失可抑制炎症细胞因子分泌和 VSMC 增殖,提示 SLAMF7 基因低甲基化通过使 SLAMF7 表达上调而诱导斑块不稳定^[30]。此外,miR-223 在颈动脉粥样硬化患者和 As 性脑梗死患者中的平均甲基化水平显著低于无颈动脉粥样硬化者或健康个体,提示 miR-223 启动子低甲基化与 As 性脑梗死相关^[31]。

鉴于 As 斑块中出现的特异性基因 DNA 高甲基化和 DNA 低甲基化以及 DNA 高甲基化在 As 中的双重作用,有必要进一步探索在人体内致 As 环境中 DNA 甲基化变化情况及其在 As 性疾病中的作用与机制。

4 外泌体与 As

外泌体 (exosomes) 是由细胞分泌的含有蛋白质、脂质和核酸的双脂质膜囊泡。目前认为外泌体是一种信息转移手段,在不同来源的细胞间传递 miRNA 和 mRNA 等^[32],并且转移过程可诱导基因沉默、激活靶细胞内的炎症反应^[32]。许多细胞如红细胞、血小板、内皮细胞、单核细胞等能分泌外泌体^[32]。不同来源的外泌体作用各异,有的拮抗 As。如间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSC) 源性

外泌体 (MSC-exosomes) 经尾静脉注入,显著降低 ApoE^{-/-}小鼠 As 斑块面积、减少斑块巨噬细胞浸润、促进巨噬细胞向 M2 表型转化,其机制与 MSC-exosomes 上调 miR-let7 水平、调节 miR-let7/HMGA2/NF- κ B 通路有关^[33]。

然而多数研究表明外泌体促进 As。Liu 等^[34]发现,THP-1 源性外泌体在 LPS 存在下与 HUVEC 共育,可将 miR-223 从 THP-1 细胞传递到 HUVEC,并促进 HUVEC 较单独培养时释放和表达更多的炎症细胞因子和黏附分子。而阻断 THP-1 细胞释放或 EC 摄取外泌体,均减轻共培养 EC 的炎症反应。表明 THP-1 源性外泌体可放大 EC 的炎症反应。其次,VSMC 源性外泌体可介导 KLF5 启动的 miR-155 从 VSMC 转移到 EC,进而破坏紧密连接和内皮屏障的完整性,增加内皮通透性和 As^[35]。

随着脂肪组织与 As 的关系越来越密切,脂肪组织源性外泌体在 As 中的作用日益受到重视。研究发现,肥胖小鼠内脏脂肪组织的外泌体可抑制 ABCA1 和 ABCG1 介导的胆固醇流出,促进巨噬细胞形成泡沫细胞;同时,它诱导巨噬细胞向 M1 表型转变,增加炎症细胞因子分泌,显著加速 ApoE^{-/-}小鼠 As 进程。表明内脏脂肪组织源性外泌体为脂肪组织和 As 建立了新的联系,是肥胖状态下脂肪组织促进 As 的新机制^[36]。Wang 等^[37]发现胰岛素抵抗时脂肪细胞释放的外泌体于体外可促进主动脉环血管新生;在体内可增加糖尿病性 ApoE^{-/-}小鼠 As 斑块血管生成相关因子表达,促进斑块血管新生,增加斑块负荷和易损性。表明抑制胰岛素抵抗时脂肪细胞源性外泌体释放有望成为防治糖尿病性 As 斑块破裂的新策略。

总之,外泌体在细胞间通讯中起着重要作用,参与旁分泌信号传导,调节 As 的发生发展。

5 肠道菌群与 As

肠道微生物群是胃肠道内一个有约 10^{14} 种微生物的多样化生态系统。其动态平衡对维持人体健康至关重要。大量的数据表明肠道菌群失调是导致 As 的重要原因^[38]。

Jie 等^[39]对比研究了 As 性心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 患者和健康对照者的粪便,发现前者肠道微生物群中的肠杆菌科 (enterobacteriaceae) 和链球菌属 (Streptococcus spp) 的丰度较对照者高,而这些菌属能代谢或运输几种对心血管健

康十分重要的分子,提示肠道微生物群的构成改变与 CVD 相关。Song 等^[40]发现人肠道微生物群中胆盐水解酶(bile salt hydrolase, BSH)-T0 型的相对丰度与 CVD 疾病的死亡率显著相关;As 人群的 BSH-T3、BSH-T4 和 BSH-T7 的相对丰度显著高于健康人群,而 BSH-T5 和 BSH-T6 的相对丰度却显著低于健康人群。提示上述胆盐水解酶的系统型与 As 的发生发展相关。一项对社区人群的调查发现,血清三甲胺 n-氧化物(trimethylamine N-oxide, TMAO)水平与未来的 CVD 风险呈正相关。且新确诊的 CVD 患者血清 TMAO 水平明显高于健康对照者^[41],提示血清 TMAO 水平可预测 CVD 风险。TMAO 是肠道微生物代谢物三甲胺的肝脏氧化产物,可促进 As 发展。而益生菌株胚芽乳杆菌(*Lactobacillus plantarum* ZDY04)显著降低 ApoE^{-/-}小鼠血清 TMAO 水平及抑制 TMAO 诱导的 As^[42]。

高胆固醇血症是 As 的重要危险因子。研究发现,给高胆固醇血症小鼠口服粪肠球菌(*enterococcus faecalis* ATCC19433),4 周后显著降低其血清和肝脏胆固醇浓度。其原因是粪肠球菌改善 ABCG5/G8 介导的胆固醇逆转运并增加肠道乳酸杆菌(*Lactobacillus*)、双歧杆菌(*Bifidobacterium*)和阿克曼氏菌(*Akkermansia*)丰度。提示粪肠球菌对高胆固醇血症具有重要的治疗作用^[43]。另一项研究表明肠道 *Akkermansia* spp 丰度的上调可减少高脂诱导的小鼠 As 病变^[44]。

综上所述,肠道微生物群的构成会随着致 As 环境发生改变,而纠正其构成可防治 As。益生菌的使用可能成为对抗 As 的新策略。

6 血管周围脂肪组织与 As

血管周围脂肪组织(perivascular adipose tissue, PVAT)通过产生旁分泌因子,调节血管内稳态。最近,本实验室报道棕色脂肪细胞特异性过氧化体增殖物激活型受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)缺乏可通过损害 PVAT 发育、增加 PVAT 炎性基因表达和巨噬细胞含量而加重 ApoE^{-/-}小鼠 As 病变,表明发育正常的、具有棕色脂肪特性的 PVAT 可拮抗 As 的发生发展,而 PPAR γ 是 PVAT 发育不可或缺的因子^[45]。另一研究显示 PPAR γ 抑制剂双酚 A 二缩水甘油醚(bisphenol A diglycidyl ether)减少左颈动脉部分结扎术后 PVAT 形成,并加重 As 和巨噬细胞浸润;移植 ApoE^{-/-}小鼠胸部 PVAT 到结扎的左颈动脉显著增加斑块炎性细

胞因子 mRNA 水平,而移植野生型小鼠胸部 PVAT 则显著减少斑块内巨噬细胞含量,提示处于稳态的 PVAT 通过抑制炎症反应而拮抗血流紊乱诱导的 As^[46]。已知核糖体蛋白 S3A(ribosomal protein S3A, RPS3A)可维护棕色脂肪细胞线粒体功能。研究发现,ApoE^{-/-}小鼠主动脉 PVAT 中 RPS3A 表达降低,而主动脉弓 PVAT 中 RPS3A 敲低损害 PVAT 的棕色变,加速血管炎症和 As 进程。表明 RPS3A 是介导 PVAT 向棕色脂肪组织转变和发挥抗 As 效应的重要因子^[47]。CDGSH 铁硫域蛋白 1(CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 1, mitoNEET)是一种线粒体外膜蛋白,在野生型小鼠的 PVAT 中表达较高,并且冷刺激可上调其表达。PVAT 中 mitoNEET 过表达显著下调轻度低温条件(16 °C)下的 ApoE^{-/-}小鼠 PVAT 炎性基因表达并减慢高脂诱导的 As 发展。表明 mitoNEET 是调节 PVAT 依赖性产热、抑制炎症和 As 的重要因子^[48]。内质网应激是肥胖者脂肪组织的主要特点。研究表明 PVAT 内质网应激促进 As 斑块不稳定,其原因可能由于 PVAT 增加 GM-CSF 分泌^[49]。

总之,处于稳态的 PVAT 可抑制炎症和 As 形成,而 PPAR γ 、RPS3A、mitoNEET、内质网应激可调节 PVAT 功能。

7 非编码 RNA 与 As

越来越多的证据表明,非编码 RNA 如 miRNA、lncRNA 和 circRNA 参与了 As 的发生发展,尤其是 miRNA 和 lncRNA 已公认为是调节 As 的关键因子。

7.1 miRNA 与 As

miRNA 是单链非编码的小 RNA(平均为 18-24 个核苷酸),通过与特定靶 mRNA 序列的 3'-非翻译区(3'-UTR)结合,在转录后水平调控基因表达,从而阻断 mRNA 的翻译和/或促进 mRNA 的降解,导致蛋白质表达减少^[50]。

文献报道 miRNA 可调节血管 EC 凋亡。例如 miR-876 通过抑制抗凋亡蛋白 Bcl-XL 表达,诱导 ApoE^{-/-}小鼠主动脉 EC 和人主动脉 EC 凋亡^[51]; miR-142-3p 在 ox-LDL 诱导人主动脉 EC 凋亡期间表达上调,而 miR-142-3p antagomir 通过上调 Rictor 表达、激活 Akt/eNOS 信号通路抑制 ApoE^{-/-}小鼠主动脉 EC 凋亡并延缓 As 进展^[52]。

许多 miRNA 也涉及巨噬细胞内胆固醇稳态的调节。如抑制 miR-23a-5p 可增加巨噬细胞胆固醇流出、抑制泡沫细胞形成,这缘于它抑制 ABCA1/G1

3'-UTR 的活性而上调 ABCA1/G1 表达。长期全身给予 miR-23a-5p antagomir 显著增加 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉 ABCA1/G1 表达、减慢 As 进程并增加斑块稳定性。然而,有颈动脉易损斑块的急性缺血性脑卒中患者血浆 miR-23a-5p 水平显著升高并与斑块的进程和易损性呈正相关^[53]。同样,miR-10b 在 ApoE^{-/-} 小鼠 As 晚期斑块中高表达并调节胆固醇逆转运。抑制 ApoE^{-/-} 小鼠 miR-10b 表达可增强 ABCA1 介导的小鼠腹膜巨噬细胞(吞噬了凋亡细胞)胆固醇逆转运,减少晚期斑块面积,增加斑块稳定性^[54]。

一些 miRNA 也可调节 SMC 功能。miR-124 是其中一员,它通过抑制特异蛋白 1 (specificity protein 1, Sp1) 表达,抑制血小板源生长因子 BB 诱导的人主动脉 SMC 增殖和表型转换^[55]。但 miR-124 在主动脉夹层患者的主动脉中膜表达下调^[55]。miR-185 也可抑制 VSMC 增殖、迁移,ox-LDL 降低其水平;沉默 miR-185 表达通过上调靶基因基质相互作用分子 1 (stromal interaction molecule 1, STIM1) 水平,促进 VSMC 迁移和 As 形成^[56]。最近发现,miR-22 可调节 VSMC 表型转化和动脉新生内膜形成,通过调节它的靶基因 MECP2、HDAC4 和 EVI1 而调节 VSMC 表型转化。在股动脉损伤的小鼠模型,损伤的股动脉局部增强 miR-22 表达可显著降低上述靶基因表达,抑制 VSMC 增殖,促进 VSMC 表型从增殖、合成型转换为收缩型,并显著抑制股动脉新生内膜形成。进一步的临床研究证实,在有严重新内膜增生伴 SMC 丰富的 As 病变的股动脉,miR-22 表达降低,并与 MECP2 和 EVI1 水平呈负相关^[57]。表明上调 miR-22 表达可能成为抑制新生内膜形成的新策略。

在致 As 环境,一些 miRNA 可调节 PVAT、DNA 甲基转移酶、自噬和 NLRP3 炎症小体。例如,静脉注射以内皮微粒为载体的 miR-19b mimic 可促进 PVAT 炎性细胞因子分泌、巨噬细胞浸润,并加快颈动脉粥样硬化斑块形成。若去除 PVAT,miR-19b 则失去对颈动脉粥样硬化斑块形成的促进作用^[58]。提示 miR-19b 诱导 PVAT 失去稳态而促进 As 形成。其次,miR-377 通过直接作用于靶基因 DNMT1,调节 ApoE^{-/-} 小鼠甘油三酯代谢并抑制 As 形成^[59]。miR-155 可抑制 Rheb/mTOR/P70S6 kinase/4EBP 信号通路,增强 EC 自噬活性^[60]。而 miR-22 可抑制 NLRP3 炎症小体,从而减少 As 大鼠冠状动脉内皮细胞凋亡及炎性细胞因子分泌^[61]。

总之,miRNA 不仅调节 As 主要细胞类型 EC、

VSMC 和巨噬细胞的功能,还调节 PVAT、DNA 甲基转移酶、自噬和 NLRP3 炎症小体等的活性,从而影响 As 的发生发展。然而 miRNA 对其它免疫细胞及 As 的直接作用尚需进一步研究。

7.2 LncRNA 与 As

LncRNA 是大于 200 bp 的非编码转录本,具有重要的生物学作用^[62]。一些 lncRNA 在 As 性相关疾病患者的血细胞、血清或血浆水平异常,提示 lncRNA 与 As 的发生发展密切相关。Li 等^[63] 从冠状动脉疾病 (coronary artery disease, CAD) 患者和健康对照者外周血单核细胞鉴定了 1 210 个差异表达的 lncRNA,其中,ENST00000444488.1 和 uc010yfd.1 结合其它 CAD 危险因子能更好地鉴别 CAD 患者和健康者,而且敲低它们的表达影响巨噬细胞炎症基因表达。表明上述 lncRNA 作为潜在的生物标记物具有 CAD 诊断价值。lncRNA MALAT1 在冠心病患者血浆的水平也较健康者显著升高。给 ApoE^{-/-} 小鼠尾静脉注入 antagoMALAT1 显著降低主动脉 As 病变面积和黏附分子表达,提示血浆 lncRNA MALAT1 水平升高是冠心病发生的重要原因^[64]。lncRNA 心肌梗死相关转录物 (myocardial infarction associated transcript, MIAT) 在有症状的易损 As 斑块患者血清及小鼠晚期 As 斑块坏死核巨噬细胞内显著升高,提示 lncRNA MIAT 与 As 斑块稳定性相关。MIAT RNA 干扰实验表明 MIAT 可加速 ApoE^{-/-} 小鼠 As 进程,扩大坏死核面积,降低斑块的稳定性,这可能由于 MIAT 通过调节 miR-149-5p 上调抗吞噬分子 CD47 表达而抑制巨噬细胞清除凋亡细胞^[65]。

许多研究在人或实验性动物模型的 As 斑块中检测到 lncRNA 表达异常,进一步提示 lncRNA 与 As 相关。如 lncRNA nexilin F-肌动蛋白结合蛋白反义 RNA (nexilin F-actin binding protein antisense RNA 1, NEXN-AS1) 在人 As 斑块表达降低。而增强 NEXN-AS1 表达通过上调肌动蛋白结合蛋白 (actin-binding protein, NEXN) 而抑制 NF- κ B 活性和 EC 炎症,且增强 ApoE^{-/-} 小鼠 NEXN 表达可抑制 As 形成^[66]。RP11-714G18.1 在人晚期 As 斑块组织中的表达明显降低,是一个抑制 VSMC 迁移的 lncRNA^[67]。lncRNA GAS5 大量表达于人 As 斑块和 ox-LDL 刺激的 THP-1 源性巨噬细胞。巨噬细胞过表达 lncRNA GAS5 通过结合并抑制 miR-221 而促进细胞因子和 MMP-9 表达,提示 GAS5 促进斑块不稳定^[68]。此外,lncRNA GAS5 rs145204276 位点的 INS/INS 基因型较 INS/del 或 del/del 基因型显著增

加 As 易感性^[69]。新近一项研究发现 lncRNA 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2B 反义 RNA 1 (cyclin-dependent kinase inhibitor 2B antisense RNA 1, CDKN2B-AS1) 在人冠状动脉左前降支 As 斑块和 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞表达下调。而高表达 CDKN2B-AS1 可促进巨噬细胞源性泡沫内胆固醇流出,减少细胞内脂质蓄积、抑制炎症因子表达。这缘于细胞核内的 CDKN2B-AS1 与 DNMT1 结合,提

高去整合蛋白和金属蛋白水解酶 10 (A disintegrin and metalloprotease 10, ADAM 10) DNA 甲基化并抑制 ADAM10 转录^[70]。提示上调 CDKN2B-AS1 可抑制 As。

此外,ox-LDL 可诱导 VSMC、EC 和 THP-1 源性巨噬细胞中一系列 lncRNA 表达异常。这些 lncRNA 可调节血管 EC 焦亡、EC 炎症、巨噬细胞脂代谢、VSMC 增殖和迁移等^[71-74](表 1)。

表 1. LncRNAs 对 As 病理过程和病变的影响

Table 1. The effects of LncRNAs on atherogenesis

样本来源	LncRNA 变化	LncRNA 效应	机制	参考文献
冠心病者血浆、内皮祖细胞(EPC)	MALAT1 ↑	抑制 EPC 自噬;促进 As 发展	作用于 miR-15b-5p,活化 mTOR 信号通路	Zhu 等 ^[64]
有症状的 As 易损斑块患者血清、小鼠 As 坏死核巨噬细胞	MIAT ↑	加速 As 进程,增加坏死核面积,降低斑块稳定性	上调抗吞噬分子 CD47 表达,抑制胞葬作用	Ye 等 ^[65]
人 As 斑块	NEXN-AS1 ↓	调节 NF-κB 活性和 EC 炎症	调节 NEXN 表达	Hu 等 ^[66]
人晚期 As 斑块	RP11-714G18.1 ↓	调节 VSMC 和 EC 迁移	结合并增加 LRP2BP 表达,进而下调 MMP-1 表达	Zhang 等 ^[67]
人 As 斑块, ox-LDL 处理的 THP-1 源性巨噬细胞	GAS5 ↑	促进巨噬细胞分泌炎症细胞因子、趋化因子和 MMP	抑制 miR-221 表达	Ye 等 ^[68]
人 As 斑块组织、THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞	CDKN2B-AS1 ↓	调节巨噬细胞脂质含量及胆固醇流出	与 DNMT1 结合,提高 ADAM10 启动子甲基化,抑制 ADAM 10 表达	Li 等 ^[70]
ApoE ^{-/-} 小鼠, ox-LDL 处理的 RAW264.7 细胞和 MOVAS 细胞	Tug1 ↑	调节 ApoE ^{-/-} 小鼠血脂水平、炎症反应和 As 病变形成	调节 FGF1 表达	Zhang 等 ^[75]
层流剪切应力处理的 HUVEC	AF131217.1 ↑	抑制 VCAM-1、ICAM-1 表达	增加 KLF4 表达	Lu 等 ^[71]
高糖处理的人 EA.hy926 EC 系	MALAT1 ↑	促进高糖诱导的人 EC 焦亡	竞争结合 miR-22 而促进 NLRP3 的表达	Song 等 ^[11]
ox-LDL 处理的 THP-1 细胞	NEAT1 ↑	调节巨噬细胞 CD36 表达和脂质摄取及炎症	调节 miR-342-3p 表达	Wang 等 ^[72]
颈动脉 As 患者外周血单核细胞	HOXA-AS2 ↑	抑制内皮炎症	抑制 NF-κB 信号	Zhu 等 ^[73]
ox-LDL 处理的 VSMC	LINC00341 ↑	促进 VSMC 增殖和迁移	抑制 miR-214 而促进 FOXO4 表达	Liu 等 ^[74]

总之,我国学者从 As 患者和实验性 As 动物的细胞、组织中鉴定了大量的 lncRNA,为阐明 As 的发生机制拓宽了新的理论,为寻找新的冠心病生物标记物和治疗提供了新思路。然而大量的 lncRNA 对 As 的直接作用有待探索;而且 lncRNA 之间及 lncRNA 与其它细胞内信号通路之间是否存在相互作用及其作用机制亦尚未完全阐明。

7.3 环状 RNA 与 As

环状 RNA (circRNA) 是一种单链 RNA,形成一个没有自由末端的共价闭环。近来的研究发现,cir-

cRNA 参与冠心病的发生发展^[76]。Zhang 等^[77]利用 RNA-seq 技术分析了兔 As 过程中 circRNA、miRNA 和 mRNA 的表达谱,并鉴定了 7 个与 As 相关的 circRNA。这些 circRNA 的功能涉及细胞黏附、细胞活化和免疫反应。提示 circRNA 在 As 的发生发展过程中可能具有重要作用。circRNA0044073 在 As 患者血细胞中表达上调,且其过表达促进人 VSMC 和血管 EC 增殖、炎症,激活 Jak/STAT 信号通路。提示它可能通过活化 Jak/STAT 信号通路,促进 VSMC 增殖,诱导 As 的形成^[78]。circ-SATB2 也

可以调节 VSMC 表型转换和增殖。它在增殖型 VSMC 中表达水平增加,而在收缩型 VSMC 中降低。过表达 circ-SATB2 通过上调 STIM1 而抑制收缩型 VSMC 标志物 SM22 α 表达,促进细胞增殖和迁移^[79]。

总之,circRNA 在 As 发生发展中的作用及其机制研究在我国尚处于初期阶段,有待进一步深入。

8 小 结

As 是一种由多因素引起、发生在大中等动脉、涉及多个细胞类型的慢性炎性病变。随着对 As 研究的不断深入,多层面、多角度、多学科交叉使得 As 研究的新切入点不断涌现。通过对 NLRP3 炎症小体、细胞焦亡、自噬、外泌体、肠道菌群失调、PVAT、DNA 甲基化及非编码 RNA 在 As 中作用的研究获得的实验数据,推动对 As 的发病机制有了新认识。

尽管对 As 的研究不断深入和扩展,为了精准医学目标,仍有一些重要问题亟需得到解决。例如,自噬、DNA 甲基化既可促 As 发展,又可抑制 As 发展,这看似矛盾的结果,折射出 As 发生发展的复杂性,因此还需要深入探索细胞或 As 阶段特异性的自噬、DNA 甲基化的时空变化和调节机制。尽管不断有新的外泌体、miRNA 和 lncRNA 被发现与 As 相关,但它们与 As 的直接作用及是否均能在人体中检测到尚待检验。虽然研究表明 NLRP3 炎症小体、自噬、肠道菌群失调、DNA 高甲基化、非编码 RNA 等可以调控 As 的发生发展,但在个体内这些因子是否形成一个庞大的相互调控网络,尚不得知。因此还需要通过增强或降低(缺失)它们的表达和/或功能,进一步探索上述因子的信号通路及精准的互作机制。而且所有上述因子对人体的功能和 As 性疾病的影响以及是否可以成为诊断和治疗 As 性疾病的新选择,尚待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Baldrighi M, Mallat Z, Li X. NLRP3 inflammasome pathways in atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 267: 127-138.
- [2] Man SM, Kanneganti TD. Regulation of inflammasome activation[J]. *Immunol Rev*, 2015, 265(1): 6-21.
- [3] Lee J, Wan J, Lee L, et al. Study of the NLRP3 inflammasome component genes and downstream cytokines in patients with type 2 diabetes mellitus with carotid atherosclerosis[J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16(1): 217.
- [4] Ma S, Chen J, Feng J, et al. Melatonin ameliorates the progression of atherosclerosis via mitophagy activation and NLRP3 inflammasome inhibition[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 9286458.
- [5] Wang R, Wang Y, Mu N, et al. Activation of NLRP3 inflammasomes contributes to hyperhomocysteinemia-aggravated inflammation and atherosclerosis in apoE-deficient mice[J]. *Lab Invest*, 2017, 97(8): 922-934.
- [6] Deng X, Huang W, Peng J, et al. Irisin alleviates advanced glycation end products-induced inflammation and endothelial dysfunction via inhibiting ROS-NLRP3 inflammasome signaling[J]. *Inflammation*, 2018, 41(1): 260-275.
- [7] Jiang C, Jiang L, Li Q, et al. Acrolein induces NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis and suppresses migration via ROS-dependent autophagy in vascular endothelial cells[J]. *Toxicology*, 2018, 410: 26-40.
- [8] Chen L, Yao Q, Xu S, et al. Inhibition of the NLRP3 inflammasome attenuates foam cell formation of THP-1 macrophages by suppressing ox-LDL uptake and promoting cholesterol efflux[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(1): 382-387.
- [9] Zeng ZL, Li GH, Wang SY, et al. Role of pyroptosis in cardiovascular disease[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(2): e12563.
- [10] Zhaolin Z, Jiaojiao C, Peng W, et al. OxLDL induces vascular endothelial cell pyroptosis through miR-125a-5p/TET2 pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 7475-7491.
- [11] Song Y, Yang L, Guo R, et al. Long noncoding RNA MALAT1 promotes high glucose-induced human endothelial cells pyroptosis by affecting NLRP3 expression through competitively binding miR-22[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509(2): 359-366.
- [12] Wu X, Zhang H, Qi W, et al. Nicotine promotes atherosclerosis via ROS-NLRP3-mediated endothelial cell pyroptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 171.
- [13] Zhang Y, Liu X, Bai X, et al. Melatonin prevents endothelial cell pyroptosis via regulation of long noncoding RNA MEG3/miR-223/NLRP3 axis[J]. *J Pineal Res*, 2018, 64(2). doi: 10.1111/jpi.12449.
- [14] Grootaert MOJ, Roth L, Schrijvers DM, et al. Defective autophagy in atherosclerosis: to die or to senesce? [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 7687083.
- [15] Liang X, Hou X, Yang Y, et al. The feedback loop of "EMMPRIN/NF- κ B" worsens atherosclerotic plaque via suppressing autophagy in macrophage[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 114: 129-140.
- [16] Wang Z, Liu B, Zhu J, et al. Nicotine-mediated autophagy of vascular smooth muscle cell accelerates atherosclerosis via nAChRs/ROS/NF- κ B signaling pathway[J]. *Atherosclerosis*, 2019, 284: 1-10.
- [17] Liu M, Li H, Zhou Q, et al. ROS-autophagy pathway mediates monocytes-human umbilical vein endothelial cells adhesion induced by apelin-13[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6839-6850.
- [18] Luo Z, Xu W, Ma S, et al. Moderate autophagy inhibits vascular smooth muscle cell senescence to stabilize progressed atherosclerotic plaque via the mTORC1/ULK1/ATG13 Signal Pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 3018190.
- [19] Peng S, Xu LW, Che XY, et al. Atorvastatin inhibits inflammatory response, attenuates lipid deposition, and improves the stability of vulnerable atherosclerotic plaques by modulating autophagy[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 438.

- [20] Li D, Chen A, Lan T, et al. SCAP knockdown in vascular smooth muscle cells alleviates atherosclerosis plaque formation via up-regulating autophagy in ApoE^{-/-} mice[J]. *FASEB J*, 2019, 33(3): 3437-3450.
- [21] Ma Y, Huang Z, Zhou Z, et al. A novel antioxidant Mito-Tempol inhibits ox-LDL-induced foam cell formation through restoration of autophagy flux[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 463-472.
- [22] Wang C, Xu W, Liang M, et al. CTRP13 inhibits atherosclerosis via autophagy-lysosome-dependent degradation of CD36[J]. *FASEB J*, 2019, 33(2): 2290-2300.
- [23] Khyzha N, Alizada A, Wilson MD, et al. Epigenetics of Atherosclerosis: Emerging Mechanisms and Methods[J]. *Trends Mol Med*, 2017, 23(4): 332-347.
- [24] Jiang D, Sun M, You L, et al. DNA methylation and hydroxymethylation are associated with the degree of coronary atherosclerosis in elderly patients with coronary heart disease[J]. *Life Sci*, 2019, 224: 241-248.
- [25] Tang RZ, Zhu JJ, Yang FF, et al. DNA methyltransferase 1 and Krüppel-like factor 4 axis regulates macrophage inflammation and atherosclerosis[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 128: 11-24.
- [26] Wei L, Zhao S, Wang G, et al. SMAD7 methylation as a novel marker in atherosclerosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(2): 700-705.
- [27] Wei LH, Chao NX, Gao S, et al. Homocysteine induces vascular inflammatory response via SMAD7 hypermethylation in human umbilical vein smooth muscle cells[J]. *Microvasc Res*, 2018, 120: 8-12.
- [28] Cui S, Lv X, Li W, et al. Folic acid modulates VPO1 DNA methylation levels and alleviates oxidative stress-induced apoptosis in vivo and in vitro[J]. *Redox Biol*, 2018, 19: 81-91.
- [29] Cui S, Li W, Lv X, et al. Folic acid supplementation delays atherosclerotic lesion development by modulating MCP1 and VEGF DNA methylation levels in vivo and in vitro[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5). doi: 10.3390/ijms18050990.
- [30] Xia Z, Gu M, Jia X, et al. Integrated DNA methylation and gene expression analysis identifies SLAMF7 as a key regulator of atherosclerosis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(6): 1324-1337.
- [31] Li Z, Yu F, Zhou X, et al. Promoter hypomethylation of microRNA223 gene is associated with atherosclerotic cerebral infarction[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 263: 237-243.
- [32] Huber HJ, Holvoet P. Exosomes: emerging roles in communication between blood cells and vascular tissues during atherosclerosis[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2015, 26(5): 412-9.
- [33] Li J, Xue H, Li T, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells attenuate the progression of atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice via miR-let7 mediated infiltration and polarization of M2 macrophage[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 510(4): 565-572.
- [34] Liu Y, Li C, Wu H, et al. Paeonol attenuated inflammatory response of endothelial cells via stimulating monocytes-derived exosomal microRNA-223[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1105.
- [35] Zheng B, Yin WN, Suzuki T, et al. Exosome-mediated miR-155 transfer from smooth muscle cells to endothelial cells induces endothelial injury and promotes atherosclerosis[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(6): 1279-1294.
- [36] Xie Z, Wang X, Liu X, et al. Adipose-derived exosomes exert proatherogenic effects by regulating macrophage foam cell formation and polarization[J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(5). doi: 10.1161/JAHA.117.007442.
- [37] Wang F, Chen FF, Shang YY, et al. Insulin resistance adipocyte-derived exosomes aggravate atherosclerosis by increasing vasa vasorum angiogenesis in diabetic ApoE^{-/-} mice[J]. *Int J Cardiol*, 2018, 265: 181-187.
- [38] Ma J, Li H. The Role of Gut Microbiota in Atherosclerosis and Hypertension[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1082.
- [39] Jie Z, Xia H, Zhong SL, et al. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 845.
- [40] Song Z, Cai Y, Lao X, et al. Taxonomic profiling and populational patterns of bacterial bile salt hydrolase (BSH) genes based on worldwide human gut microbiome[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 9.
- [41] Zheng L, Zheng J, Xie Y, et al. Serum gut microbe-dependent trimethylamine N-oxide improves the prediction of future cardiovascular disease in a community-based general population[J]. *Atherosclerosis*, 2019, 280: 126-131.
- [42] Qiu L, Tao X, Xiong H, et al. Lactobacillus plantarum ZDY04 exhibits a strain-specific property of lowering TMAO via the modulation of gut microbiota in mice[J]. *Food Funct*, 2018, 9(8): 4299-4309.
- [43] Zhu Y, Li T, Din AU, et al. Beneficial effects of enterococcus faecalis in hypercholesterolemic mice on cholesterol transportation and gut microbiota[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(7): 3181-3191.
- [44] Zhu L, Zhang D, Zhu H, et al. Berberine treatment increases Akkermansia in the gut and improves high-fat diet-induced atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice[J]. *Atherosclerosis*, 2018, 268: 117-126.
- [45] Xiong W, Zhao X, Villacorta L, et al. Brown adipocyte-specific PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) deletion impairs perivascular adipose tissue development and enhances atherosclerosis in mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(8): 1738-1747.
- [46] Ren L, Wang L, You T, et al. Perivascular adipose tissue modulates carotid plaque formation induced by disturbed flow in mice[J]. *J Vasc Surg*, 2019. doi: 10.1016/j.jvs.2018.09.064.
- [47] Tang Y, He Y, Li C, et al. RPS3A positively regulates the mitochondrial function of human periaortic adipose tissue and is associated with coronary artery diseases[J]. *Cell Discov*, 2018, 4: 52.
- [48] Xiong W, Zhao X, Garcia-Barrio MT, et al. MitoNEET in perivascular adipose tissue blunts atherosclerosis under mild cold condition in mice[J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 1032.
- [49] Ying R, Li SW, Chen JY, et al. Endoplasmic reticulum stress in perivascular adipose tissue promotes destabilization of atherosclerotic plaque by regulating GM-CSF paracrine[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 105.
- [50] Feinberg MW, Moore KJ. MicroRNA regulation of atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 703-720.

- [51] Xu K, Liu P, Zhao Y. Upregulation of microRNA-876 induces endothelial cell apoptosis by suppressing Bcl-Xl in development of atherosclerosis [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42 (4): 1540-1549.
- [52] Qin B, Shu Y, Long L, et al. MicroRNA-142-3p induces atherosclerosis-associated endothelial cell apoptosis by directly targeting rictor[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(4): 1589-1603.
- [53] Yang S, Ye ZM, Chen S, et al. MicroRNA-23a-5p promotes atherosclerotic plaque progression and vulnerability by repressing ATP-binding cassette transporter A1/G1 in macrophages[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 123: 139-149.
- [54] Wang D, Wang W, Lin W, et al. Apoptotic cell induction of miR-10b in macrophages contributes to advanced atherosclerosis progression in ApoE^{-/-} mice[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114 (13): 1794-1805.
- [55] Tang Y, Yu S, Liu Y, et al. MicroRNA-124 controls human vascular smooth muscle cell phenotypic switch via Sp1 [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2017, 313(3): H641-H649.
- [56] Fang M, Li Y, Wu Y, et al. miR-185 silencing promotes the progression of atherosclerosis via targeting stromal interaction molecule 1[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(6-7): 682-695.
- [57] Yang F, Chen Q, He S, et al. miR-22 Is a novel mediator of vascular smooth muscle cell phenotypic modulation and neointima formation[J]. *Circulation*, 2018, 137(17): 1824-1841.
- [58] Li C, Li S, Zhang F, et al. Endothelial microparticles-mediated transfer of microRNA-19b promotes atherosclerosis via activating perivascular adipose tissue inflammation in ApoE^{-/-} mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(2): 1922-1929.
- [59] Chen LY, Xia XD, Zhao ZW, et al. MicroRNA-377 inhibits atherosclerosis by regulating triglyceride metabolism through the DNA methyltransferase 1 in apolipoprotein e-knockout mice[J]. *Circ J*, 2018, 82(11): 2861-2871.
- [60] Lv J, Yang L, Guo R, et al. Ox-LDL-induced microRNA-155 promotes autophagy in human endothelial cells via repressing the Rheb/ mTOR pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(4): 1436-1448.
- [61] Huang WQ, Wei P, Lin RQ, et al. Protective effects of microRNA-22 against endothelial cell injury by targeting NLRP3 through suppression of the inflammasome signaling pathway in a rat model of coronary heart disease[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(4): 1346-1358.
- [62] Zhang Z, Salisbury D, Sallam T. Long noncoding RNAs in atherosclerosis: JACC review topic of the week[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(19): 2380-2390.
- [63] Li L, Wang L, Li H, et al. Characterization of lncRNA expression profile and identification of novel lncRNA biomarkers to diagnose coronary artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2018, 275: 359-367.
- [64] Zhu Y, Yang T, Duan J, et al. MALAT1/miR-15b-5p/MAPK1 mediates endothelial progenitor cells autophagy and affects coronary atherosclerotic heart disease via mTOR signaling pathway [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(4): 1089-1109.
- [65] Ye ZM, Yang S, Xia YP, et al. LncRNA MIAT sponges miR-149-5p to inhibit efferocytosis in advanced atherosclerosis through CD47 upregulation[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(2): 138.
- [66] Hu YW, Guo FX, Xu YJ, et al. Long noncoding RNA NEXN-AS1 mitigates atherosclerosis by regulating the actin-binding protein NEXN[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(3): 1115-1128.
- [67] Zhang Y, Zheng L, Xu BM, et al. LncRNA-RP11-714G18.1 suppresses vascular cell migration via directly targeting LRP2BP[J]. *Immunol Cell Biol*, 2018, 96(2): 175-189.
- [68] Ye J, Wang C, Wang D, et al. LncRBA GSA5, up-regulated by ox-LDL, aggravates inflammatory response and MMP expression in THP-1 macrophages by acting like a sponge for miR-221[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 369(2): 348-355.
- [69] Shen Z, She Q. Association between the deletion allele of ins/del polymorphism (rs145204276) in the promoter region of gas5 with the risk of atherosclerosis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(4): 1431-1443.
- [70] Li H, Han S, Sun Q, et al. Long non-coding RNA CDKN2B-AS1 reduces inflammatory response and promotes cholesterol efflux in atherosclerosis by inhibiting ADAM10 expression[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(6): 1695-1715.
- [71] Lu Q, Meng Q, Qi M, et al. Shear-sensitive lncRNA AF131217.1 inhibits inflammation in HUVECs via regulation of KLF4[J]. *Hypertension*, 2019, 73(5): e25-e34.
- [72] Wang L, Xia JW, Ke ZP, et al. Blockade of NEAT1 represses inflammation response and lipid uptake via modulating miR-342-3p in human macrophages THP-1 cells [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 5319-5326.
- [73] Zhu X, Liu Y, Yu J, et al. LncRNA HOXA-AS2 represses endothelium inflammation by regulating the activity of NF-κB signaling [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 281: 38-46.
- [74] Liu X, Ma BD, Liu S, et al. Long noncoding RNA LINC00341 promotes the vascular smooth muscle cells proliferation and migration via miR-214/FOXO4 feedback loop [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(3): 1835-1842.
- [75] Zhang L, Cheng H, Yue Y, et al. TUG1 knockdown ameliorates atherosclerosis via up-regulating the expression of miR-133a target gene FGF1[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2018, 33: 6-15.
- [76] Altesha MA, Ni T, Khan A, et al. Circular RNA in cardiovascular disease[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 5588-5600.
- [77] Zhang F, Zhang R, Zhang X, et al. Comprehensive analysis of circRNA expression pattern and circRNA-miRNA-mRNA network in the pathogenesis of atherosclerosis in rabbits[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(9): 2266-2283.
- [78] Shen L, Hu Y, Lou J, et al. CircRNA0044073 is upregulated in atherosclerosis and increases the proliferation and invasion of cells by targeting miR107[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(5): 3923-3932.
- [79] Mao YY, Wang JQ, Guo XX, et al. Circ-SATB2 upregulates STIM1 expression and regulates vascular smooth muscle cell proliferation and differentiation through miR-939 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505(1): 119-125.

(此文编辑 许雪梅)