

沙格列汀对 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤及 miR-590/TLR4/NF- κ B 表达的影响

张政军¹, 郝钰¹, 万婷婷²

(1. 宁夏医科大学总医院心内科, 宁夏银川市 750004; 2. 宁夏医科大学总医院手术室, 宁夏银川市 750004)

[关键词] 沙格列汀; 内皮细胞损伤; miR-590; TLR4; NF- κ B

[摘要] **目的** 探讨沙格列汀对 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤及 miR-590/TLR4/NF- κ B 表达的影响。**方法** 培养人脐静脉内皮细胞(HUVEC)并分为对照组、ox-LDL 组、沙格列汀组、沙格列汀+miR-590 抑制物组、NC 模拟物组、miR-590 模拟物组、NC 抑制物组、miR-590 抑制物组。检测细胞的增殖活力、细胞中 miR-590/TLR4/NF- κ B 表达量及培养基中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)、细胞间黏附分子 1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子 1(VCAM-1)的含量。**结果** ox-LDL 组细胞中 TLR4、NF- κ B p65 表达量及培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量均明显高于对照组,细胞增殖活性及细胞中 miR-590 的表达量明显低于对照组;沙格列汀组细胞中 TLR4、NF- κ B p65 表达量及培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量均明显低于 ox-LDL 组,细胞增殖活性及细胞中 miR-590 的表达量明显高于 ox-LDL 组;沙格列汀+miR-590 抑制物组细胞中 TLR4、NF- κ B p65 表达量及培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量均明显高于沙格列汀组,细胞增殖活性及细胞中 miR-590 的表达量明显低于沙格列汀组;miR-590 模拟物组细胞中 TLR4、NF- κ B p65 的表达量及培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量均明显低于 NC 模拟物组,miR-590 抑制物组细胞中 TLR4、NF- κ B p65 的表达量及培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量均明显高于 NC 抑制物组。**结论** 沙格列汀能够通过 miR-590/TLR4/NF- κ B 通路减轻 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Effects of sagliptin on vascular endothelial cell injury induced by ox-LDL and expression of miR-590/TLR4/NF- κ B

ZHANG Zhengjun¹, Hao Yu¹, WAN Tingting²

(1. Department of Cardiology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004; 2. Operating Room of General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

[KEY WORDS] sagliptin; vascular endothelial cell injury; miR-590; TLR4; NF- κ B

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of sagliptin on vascular endothelial cell injury induced by ox-LDL and expression of miR-590/TLR4/NF- κ B. **Methods** Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were cultured and divided into control group, ox-LDL group, sagliptin group, sagliptin+miR-590 inhibitor group, NC mimic group, miR-590 mimic group, NC inhibitor group and miR-590 inhibitor group. The proliferation activity, the expression of miR-590/TLR4/NF- κ B and the contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1) in culture medium were measured. **Results** The expression of TLR4, NF- κ B p65 in cells and the contents of TNF- α , IL-1 β , ICAM-1, VCAM-1 in culture media of ox-LDL group were significantly higher than those of control group, cell proliferation activity and the expression of miR-590 in cells was significantly lower than that of control group; the expression of TLR4, NF- κ B p65 in cells and the contents of TNF- α , IL-1 β , ICAM-1, VCAM-1 in culture media of sagliptin group were significantly lower than those of ox-LDL group, cell proliferation activity and the expression of miR-590 was significantly higher than that of ox-LDL group; the expression of TLR4, NF- κ B p65 in cells and the contents of TNF- α , IL-1 β , ICAM-1, VCAM-1 in culture media of sagliptine+miR-590 inhibitor group were significantly higher than those in sagliptine group, cell proliferation ac-

tivity and the expression of miR-590 was significantly lower than that of saglittine group; the expression of TLR4, NF- κ B p65 in cells and the contents of TNF- α , IL-1 β , ICAM-1, VCAM-1 in culture media of miR-590 mimic group were significantly higher than those of NC mimic group, the expression of TLR4, NF- κ B p65 in cells and the contents of TNF- α , IL-1 β , ICAM-1, VCAM-1 in culture media of miR-590 inhibitor group were significantly lower than those of NC inhibitor group. **Conclusion** Saglittin can alleviate ox-LDL-induced vascular endothelial cell injury by the miR-590/TLR4/NF- κ B pathway.

氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)是促进动脉粥样硬化发生的重要物质,ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤在 ox-LDL 促进动脉粥样硬化发生的过程中起关键作用^[1-2]。ox-LDL 在血管内膜中的沉积能够刺激血管内皮发生损伤并破坏血管内皮结构的完整性,进而引起单核巨噬细胞在内皮损伤部位迁移、浸润并吞噬 ox-LDL 形成泡沫细胞,泡沫细胞的不断堆积会形成脂纹及粥样斑块^[3]。Yang 等^[4]研究报道,ox-LDL 能够通过 miR-590/Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 途径抑制内皮细胞增殖、诱导内皮细胞凋亡。

沙格列汀是用于糖尿病治疗的选择性二肽基肽酶 4 (dipeptidyl peptidase-4, DPP-4) 抑制剂,通过阻断 DPP-4 对胰高血糖素样肽 1 的水解作用起到降糖作用。近年来多项关于沙格列汀的基础研究证实,该药物能够在多个组织中发挥保护作用,既能减轻高糖、过氧化氢、糖基化终末产物引起的内皮细胞损伤^[5-7],也能减轻异丙肾上腺素引起的心肌细胞损伤^[8]。为了明确沙格列汀对 ox-LDL 诱导血管内皮细胞损伤的保护作用及相关分子机制,本研究选择人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)作为实验对象,具体观察了沙格列汀对 ox-LDL 诱导 HUVEC 损伤的保护效应及 miR-590/TLR4/NF- κ B 通路在该保护效应中所起的作用。

1 材料和方法

1.1 主要材料

HUVEC 购自中国科学院上海细胞资源中心,ox-LDL 购自广州奕源生物公司,沙格列汀由阿斯利康公司提供,阴性对照 (NC) 的模拟物 (序列:5'-AGCTAGCTAGCTAGCT-3') 及抑制物 (序列:5'-TAGCTGCTAGTCCGAT-3')、miR-590 的模拟物 (序列:5'-TAGCTAGCTAGCTA-3') 及抑制物 (序列:5'-CTATGCTAGCTAGCTAT-3') 由上海吉玛公司提供,miRcute miRNA 提取分离试剂盒、miRcute 增强型 miRNA cDNA 第一链合成试剂盒、miRcute 增强型

miRNA 荧光定量检测试剂盒均购自北京天根公司,细胞核蛋白与细胞质蛋白抽提试剂盒购自武汉博士德公司,TLR4、NF- κ B 的单克隆抗体购自 SantaCruz 公司,肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 的酶联免疫吸附 (ELISA) 检测试剂盒购自上海酶联公司,BCA 蛋白定量检测试剂盒购自北京全式金公司。

1.2 细胞培养

HUVEC 复苏后用含有体积分数 10% FBS、质量分数 1% 青霉素及链霉素的 DMEM 培养,每 48 h 更换一次培养基;待细胞铺满瓶底面后,用 0.125% 的胰蛋白酶进行消化,FBS 终止消化后离心收集细胞,培养基重悬后按照不同实验目的接种在不同的细胞板内。

1.3 细胞分组及给药

取细胞板内对数生长期的 HUVEC 进行分组,具体如下:(1)对照组:用不含药物的 DMEM 处理;(2)ox-LDL 组:用含有 40 mg/L ox-LDL 的 DMEM 处理;(3)沙格列汀组:用含有 40 mg/L ox-LDL 和 20 μ mol/L 沙格列汀的 DMEM 处理;(4)沙格列汀+miR-590 抑制物组:用脂质体转染 miR-590 的抑制物后用含有 40 mg/L ox-LDL 和 20 μ mol/L 沙格列汀的 DMEM 处理;(5)NC 模拟物组:单独转染 NC 模拟物;(6)miR-590 模拟物组:单独转染 miR-590 模拟物;(7)NC 抑制物组:单独转染 NC 抑制物;(8)miR-590 抑制物组:单独转染 miR-590 抑制物。

1.4 细胞增殖活力检测

传代后的 HUVEC 接种在 96 孔培养板中,不同条件处理后 24 h,向培养孔内加入 MTS 试剂盒的检测液 20 μ L/孔,在细胞培养箱中继续培养 4 h 后将培养板放在酶标仪上测定 490 nm 处的吸光值,记为 OD₄₉₀;OD₄₉₀ 值越高,细胞的增殖活力越强。

1.5 miR-590 表达量检测

传代后的 HUVEC 接种在 12 孔培养板中,不同条件处理后 24 h,弃去培养基、保留细胞,采用 miR-

cute miRNA 提取试剂盒提取 HUVEC 中的总 miRNA, 采用 miRcute 增强型 miRNA cDNA 第一链合成试剂盒将 HUVEC 中的 miRNA 反转录合成 cDNA, 采用 miRcute 增强型 miRNA 荧光定量检测试剂盒配置 PCR 反应体系对 miR-590 进行扩增, 根据扩增曲线中生成的循环阈值 (Ct) 代入公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 miR-590 的表达量。

1.6 TLR4、NF- κ B p65 表达量检测

传代后的 HUVEC 接种在 6 孔培养板中, 不同条件处理后 24 h, 弃去培养基、保留细胞, 采用细胞核蛋白与细胞质蛋白抽提试剂盒分离蛋白, 细胞质蛋白用于 TLR4 检测, 细胞核蛋白用于 NF- κ B p65 检测。蛋白样本与上样缓冲液混合, 高温加热变性后加入到 SDS-聚丙烯酰胺凝胶的点样孔内, 电泳、电转膜后在 NC 膜上收集得到蛋白样本, 用 5% 脱脂牛奶在室温封闭 NC 膜 2 h 后用 TLR4、NF- κ B p65、 β -actin 一抗在 4 $^{\circ}$ C 孵育 NC 膜过夜; 第二天, 洗膜后用二抗在室温孵育 NC 膜 2 h, 最后曝光得到蛋白条带, 以 β -actin 为内参, 通过灰度值计算 TLR4 和 NF- κ B p65 的表达量。

1.7 细胞因子含量检测

传代后的 HUVEC 接种在 12 孔培养板中, 不同条件处理后 24 h, 收集培养基并采用 ELISA 试剂盒检测 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量, 保留细胞并采用 BCA 试剂盒检测细胞中总蛋白的含量, 计算每毫克总蛋白对应的 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 含量。

1.8 双荧光素酶报告基因实验

传代后的 HUVEC 接种在 24 孔培养板中, 将含有 TLR4 mRNA 3'UTR 的双荧光素酶报告基因转染进入 HUVEC, 而后转染 NC 模拟物或 miR-590 模拟物, 24 h 后弃去培养基并裂解细胞, 采用双荧光素酶报告基因检测试剂盒测定萤火虫荧光值和海肾荧光值, 以萤火虫荧光值/海肾荧光值计算荧光素酶报告基因荧光素酶活性。

1.9 统计学方法

采用 SPSS19.0 软件录入数据并进行分析, 计量资料经方差齐性检验符合方差齐性后以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间的比较采用方差分析, 两组间的比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 沙格列汀对 ox-LDL 处理后 HUVEC 增殖活性的影响

与对照组比较, ox-LDL 组 HUVEC 的 OD₄₉₀ 值

显著降低 ($P < 0.05$); 与 ox-LDL 组比较, 沙格列汀组 HUVEC 的 OD₄₉₀ 值显著升高 ($P < 0.05$); 与沙格列汀组比较, 沙格列汀+miR-590 抑制物组 HUVEC 的 OD₄₉₀ 值显著降低 ($P < 0.05$; 图 1)。

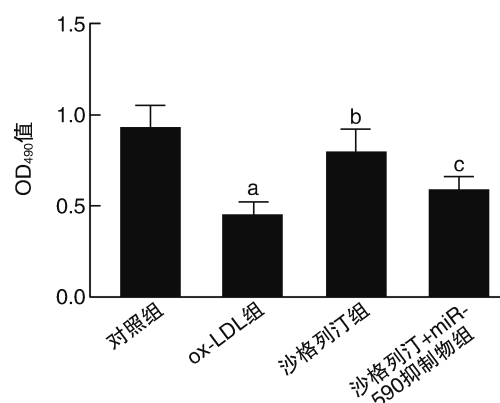


图 1. 沙格列汀调控 ox-LDL 处理后 HUVEC 的增殖活性 ($n = 5$) a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 ox-LDL 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与沙格列汀组比较。

Figure 1. Regulatory effect of sagittin on proliferation viability of HUVEC after ox-LDL treatment ($n = 5$)

2.2 沙格列汀对 ox-LDL 处理后 HUVEC 中 miR-590/TLR4/NF- κ B 表达的影响

与对照组比较, ox-LDL 组 HUVEC 中 miR-590 的表达量显著降低 (0.41 ± 0.08 比 0.76 ± 0.09), TLR4、NF- κ B p65 的表达量显著升高 ($P < 0.05$); 与 ox-LDL 组比较, 沙格列汀组 HUVEC 中 miR-590 的表达量 (0.69 ± 0.10) 显著升高, TLR4、NF- κ B p65 的表达量显著降低 ($P < 0.05$); 与沙格列汀组比较, 沙格列汀+miR-590 抑制物组 HUVEC 中 miR-590 的表达量 (0.50 ± 0.07) 显著降低, TLR4、NF- κ B p65 的表达量显著升高 ($P < 0.05$; 图 2)。

2.3 沙格列汀对 ox-LDL 处理后 HUVEC 培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 含量的影响

与对照组比较, ox-LDL 组 HUVEC 培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量显著升高 ($P < 0.05$); 与 ox-LDL 组比较, 沙格列汀组 HUVEC 培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量显著降低 ($P < 0.05$); 与沙格列汀组比较, 沙格列汀+miR-590 抑制物组 HUVEC 培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量显著升高 ($P < 0.05$; 表 1)。

2.4 miR-590 模拟物和抑制物对 HUVEC 中 TLR4、NF- κ B p65 表达及 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 含量的影响

与 NC 模拟物组比较, miR-590 模拟物组 HUVEC

中 TLR4、NF- κ B p65 的表达量及培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量均明显降低 ($P < 0.05$; 图 3 和表 2); 与 NC 抑制物组比较, miR-590 抑制物组 HUVEC 中 TLR4、NF- κ B p65 的表达量及培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量均明显升高 ($P < 0.05$; 图 4 和表 3)。

2.5 双荧光素酶报告基因验证 miR-590 靶向 TLR4 mRNA 的 3'UTR

转染 TLR4 mRNA 3'UTR 的双荧光素酶报告基因后, 与 NC 模拟物比较, miR-590 模拟物能够使双荧光素酶报告基因的荧光活性降低 ($P < 0.05$; 图 5)。

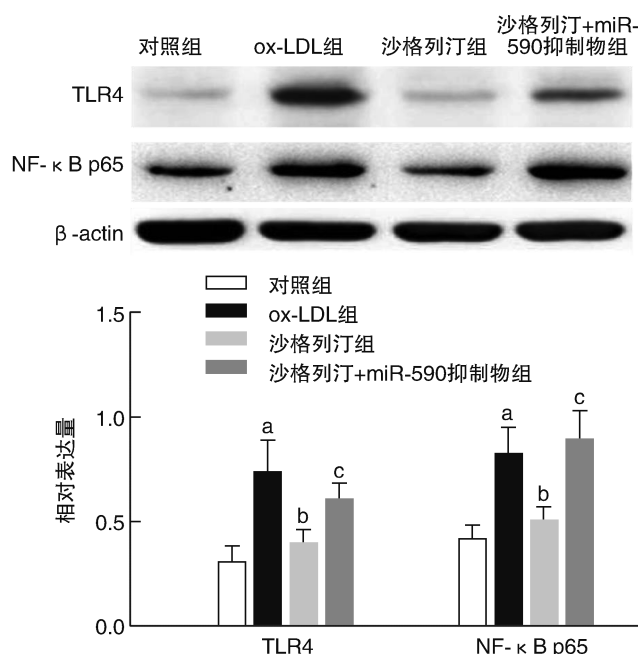


图 2. 沙格列汀调控 ox-LDL 处理后 HUVEC 中 TLR4 和 NF- κ B p65 的表达量 ($n=5$) a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 ox-LDL 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与沙格列汀组比较。

Figure 2. Regulatory effect of saglptin on TLR4, NF- κ B p65 expression in HUVEC after ox-LDL treatment ($n=5$)

表 1. HUVEC 培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1 和 VCAM-1 的含量 ($\mu\text{g/g}$, $n=5$)

Table 1. Contents of TNF- α , IL-1 β , ICAM-1, VCAM-1 in culture media of HUVEC ($\mu\text{g/g}$, $n=5$)

分 组	TNF- α	IL-1 β	ICAM-1	VCAM-1
对照组	2.31 \pm 0.52	1.67 \pm 0.36	13.12 \pm 1.95	8.28 \pm 1.42
ox-LDL 组	6.64 \pm 0.96 ^a	4.05 \pm 0.62 ^a	20.39 \pm 3.85 ^a	17.72 \pm 2.86 ^a
沙格列汀组	3.89 \pm 0.64 ^b	2.44 \pm 0.47 ^b	15.62 \pm 2.88 ^b	11.12 \pm 2.07 ^b
沙格列汀 + miR-590 抑制物组	5.28 \pm 0.81 ^c	3.29 \pm 0.58 ^c	18.26 \pm 3.61 ^c	15.25 \pm 2.52 ^c

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 ox-LDL 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与沙格列汀组比较。

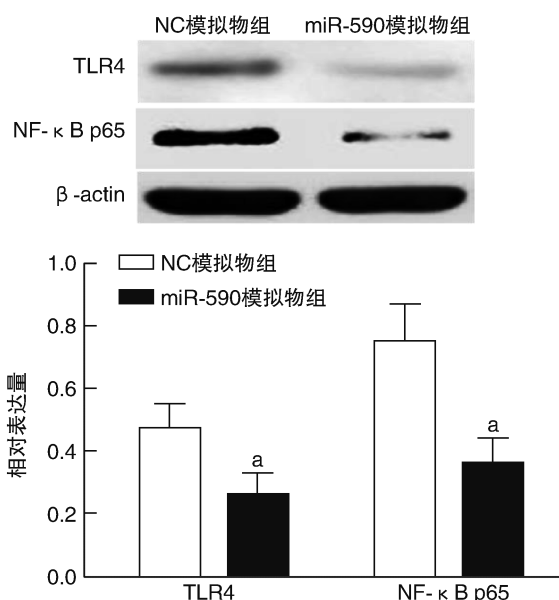


图 3. miR-590 模拟物调控 HUVEC 中 TLR4、NF- κ B p65 的表达量 ($n=5$) a 为 $P < 0.05$, 与 NC 模拟物组比较。

Figure 3. Regulatory effect of miR-590 mimics on TLR4, NF- κ B p65 expression in HUVEC ($n=5$)

表 2. miR-590 模拟物调控 HUVEC 培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1 和 VCAM-1 的含量 ($\mu\text{g/g}$, $n=5$)

Table 2. Regulatory effect of miR-590 mimics on content of TNF- α , IL-1 β , ICAM-1, VCAM-1 in culture media of HUVEC ($\mu\text{g/g}$, $n=5$)

分 组	TNF- α	IL-1 β	ICAM-1	VCAM-1
NC 模拟物组	2.95 \pm 0.57	1.88 \pm 0.32	12.85 \pm 2.26	8.68 \pm 1.37
miR-590 模拟物组	1.77 \pm 0.32 ^a	1.21 \pm 0.23 ^a	8.24 \pm 1.41 ^a	5.06 \pm 0.74 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与 NC 模拟物组比较。

表 3. miR-590 抑制物调控 HUVEC 培养基中 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1 的含量比较 ($\mu\text{g/g}$, $n=5$)

Table 3. Regulatory effect of miR-590 inhibitors on content of TNF- α , IL-1 β , ICAM-1, VCAM-1 in culture media of HUVEC ($\mu\text{g/g}$, $n=5$)

分 组	TNF- α	IL-1 β	ICAM-1	VCAM-1
NC 抑制物组	3.01 \pm 0.41	1.73 \pm 0.34	12.19 \pm 1.39	9.15 \pm 1.26
miR-590 抑制物组	4.27 \pm 0.64 ^a	2.38 \pm 0.42 ^a	18.35 \pm 2.44 ^a	13.25 \pm 1.94 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与 NC 抑制物组比较。

3 讨 论

ox-LDL 引起的血管内皮细胞损伤是动脉粥样硬化发生过程中的重要病理生理变化, 血管内皮细胞损伤后单核巨噬细胞在损伤局部大量浸润, 吞噬 ox-LDL 后形成泡沫细胞并导致粥样斑块的形

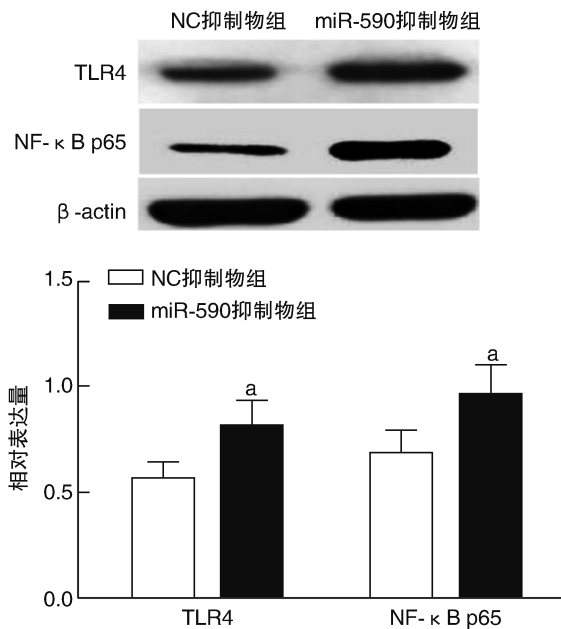


图4. miR-590抑制物调控HUVEC中TLR4、NF-κB p65的表达量($n=5$) a为 $P<0.05$,与NC抑制物组比较。

Figure 4. Regulatory effect of miR-590 inhibitors on TLR4, NF-κB p65 expression in HUVEC ($n=5$)

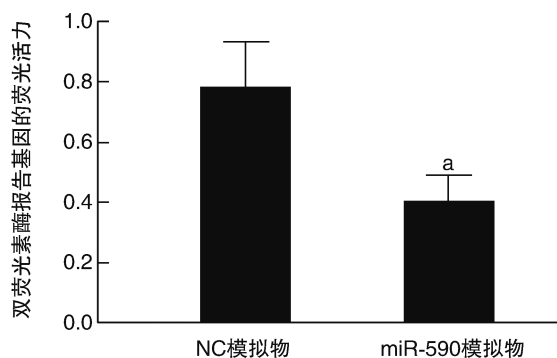


图5. miR-590靶向TLR4 mRNA的3'UTR($n=5$) a为 $P<0.05$,与NC模拟物比较。

Figure 5. miR-590 target 3'UTR of TLR4 mRNA ($n=5$)

成^[9-10]。在动脉粥样硬化的防治中,抑制ox-LDL诱导的血管内皮细胞损伤是重要的靶点^[11-12]。沙格列汀是特异性的DPP-4抑制剂,为治疗2型糖尿病的新型降糖药物。新近的研究证实沙格列汀具有内皮细胞及心肌细胞保护作用^[5-8],本实验将沙格列汀用于ox-LDL诱导内皮细胞损伤的干预,旨在发挥其细胞保护作用。ox-LDL组细胞的增殖活性明显低于对照组,说明ox-LDL处理引起了HUVEC损伤;在ox-LDL处理的基础上加用沙格列汀,沙格列汀组细胞的增殖活性明显高于ox-LDL组,说明沙格列汀对ox-LDL诱导的HUVEC损伤具有保护作用。

ox-LDL引起内皮细胞损伤的机制复杂,其中miR-590/TLR4/NF-κB通路介导的炎症反应在ox-LDL引起内皮细胞损伤中发挥了重要作用。Yang等^[4]的实验表明,在ox-LDL引起内皮细胞损伤的过程中miR-590表达受到抑制、TLR4/NF-κB通路发生活化,而过表达miR-590能够通过抑制TLR4/NF-κB通路的活化来减轻ox-LDL引起的内皮细胞损伤。TLR4/NF-κB是调节炎症反应的重要信号通路^[13-14],该通路活化后能够通过NF-κB的转录活性增加TNF-α、IL-1β、ICAM-1、VCAM-1等多种炎症细胞因子的表达和分泌,进而促进炎症反应激活^[15-17]。在本研究中,ox-LDL组细胞中miR-590的表达明显降低,而TLR4、NF-κB的表达及TNF-α、IL-1β、ICAM-1、VCAM-1的含量明显增多,结果与Yang等^[4]的实验结果一致,表明ox-LDL能够引起HUVEC中TLR4/NF-κB通路介导的炎症反应被激活。在沙格列汀干预后,细胞中miR-590的表达明显增加,TLR4、NF-κB p65的表达量及TNF-α、IL-1β、ICAM-1、VCAM-1的含量明显减少,说明沙格列汀对ox-LDL引起的miR-590/TLR4/NF-κB通路激活具有抑制作用,进而推测沙格列汀可能通过该抑制作用来介导内皮保护作用。

为了验证上述推测,本实验在沙格列汀干预的同时转染了miR-590的抑制物以抑制沙格列汀对miR-590表达的上调作用,在转染miR-590的抑制物后观察到,沙格列汀增加细胞增殖活性并降低TLR4、NF-κB p65表达及TNF-α、IL-1β、ICAM-1、VCAM-1含量的作用发生了逆转,提示沙格列汀能够通过上调miR-590来发挥对ox-LDL诱导内皮细胞损伤的保护作用。miR-590发挥生物学作用的方式是结合靶基因mRNA的3'UTR并在转录后水平抑制基因表达,为了进一步验证miR-590在HUVEC中对TLR4/NF-κB通路的靶向调节作用,本研究分别将miR-590的模拟物和抑制物转染进入HUVEC,在转染后观察该通路的表达及通路细胞因子的分泌可知:miR-590的模拟物能够抑制TLR4、NF-κB p65的表达及下游细胞因子的分泌,miR-590的抑制物能够增加TLR4、NF-κB p65的表达及下游细胞因子的分泌,表明miR-590能够在HUVEC中靶向抑制TLR4/NF-κB通路,结合沙格列汀通过上调miR-590减轻ox-LDL诱导内皮细胞损伤的效应提示,沙格列汀通过miR-590/TLR4/NF-κB通路发挥内皮细胞保护作用。

综上所述,沙格列汀能够通过miR-590/TLR4/NF-κB通路减轻ox-LDL诱导的HUVEC损伤,miR-

590 对 HUVEC 中 TLR4/NF- κ B 通路的激活及下游细胞因子的分泌具有靶向抑制作用,沙格列汀通过上调 miR-590 的表达抑制 TLR4/NF- κ B 通路的激活,进而对 ox-LDL 诱导的 HUVEC 损伤发挥保护作用。

[参考文献]

- [1] Lin F, Pei L, Zhang Q, et al. Ox-LDL induces endothelial cell apoptosis and macrophage migration by regulating caveolin-1 phosphorylation [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6683-6692.
- [2] Lara-Guzmán OJ, Gil-Izquierdo Á, Medina S, et al. Oxidized LDL triggers changes in oxidative stress and inflammatory biomarkers in human macrophages[J]. *Redox Biol*, 2018, 15: 1-11.
- [3] Fu Z, Zhou E, Wang X, et al. Oxidized low-density lipoprotein-induced microparticles promote endothelial monocyte adhesion via intercellular adhesion molecule 1 [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2017, 313(5): 567-574.
- [4] Yang L, Gao C. MiR-590 inhibits endothelial cell apoptosis by activating the TLR4/NF- κ B pathway in atherosclerosis [J]. *Yonsei Med J*, 2019, 60(3): 298-307.
- [5] Wang H, Zhou Y, Guo Z, et al. Sitagliptin attenuates endothelial dysfunction of Zucker diabetic fatty rats; implication of the antiperoxynitrite and autophagy [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2018, 23(1): 66-78.
- [6] Wu C, Hu S, Wang N, et al. Dipeptidyl peptidase4 inhibitor sitagliptin prevents high glucose-induced apoptosis via activation of AMP activated protein kinase in endothelial cells[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(6): 4346-4351.
- [7] Tang ST, Zhang Q, Tang HQ, et al. Effects of glucagon-like peptide-1 on advanced glycation endproduct-induced aortic endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats; possible roles of Rho kinase- and AMP kinase-mediated nuclear factor κ B signaling pathways[J]. *Endocrine*, 2016, 53(1): 107-16.
- [8] Ibrahim MA, Geddawy A, Abdel-Wahab S. Sitagliptin prevents isoproterenol-induced myocardial infarction in rats by modulating nitric oxide synthase enzymes[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 15(829): 63-69.
- [9] Wang Y, Liu J, Chen X, et al. Dysfunctional endothelial-derived microparticles promote inflammatory macrophage formation via NF- κ B and IL-1 β signal pathways[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(1): 476-486.
- [10] Di Pietro N, Formoso G, Pandolfi A. Physiology and pathophysiology of oxLDL uptake by vascular wall cells in atherosclerosis[J]. *Vascul Pharmacol*, 2016, 84:1-7.
- [11] Markstad H, Edsfeldt A, Yao Mattison I, et al. High levels of soluble lectinlike oxidized low-density lipoprotein receptor-1 are associated with carotid plaque inflammation and increased risk of ischemic stroke[J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(4): e009874.
- [12] Zhang C, Adamos C, Oh MJ, et al. oxLDL induces endothelial cell proliferation via Rho/ROCK/Akt/p27kip1 signaling; opposite effects of oxLDL and cholesterol loading [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2017, 313(3): 340-351.
- [13] Ma SC, Hao YJ, Jiao Y, et al. Homocysteine-induced oxidative stress through TLR4/NF κ B/DNMT1 mediated LOX1 DNA methylation in endothelial cells[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6): 9181-9188.
- [14] Xiong XY, Liu L, Wang FX, et al. Toll-like receptor 4/MyD88-mediated signaling of hepcidin expression causing brain iron accumulation, oxidative injury, and cognitive impairment after intracerebral hemorrhage[J]. *Circulation*, 2016, 134(14): 1025-1038.
- [15] Zeng X, Guo R, Dong M, et al. Contribution of TLR4 signaling in intermittent hypoxia-mediated atherosclerosis progression[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 106.
- [16] Obi AT, Andraska E, Kanthi Y, et al. Endotoxaemia-augmented murine venous thrombosis is dependent on TLR-4 and ICAM-1, and potentiated by neutropenia[J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117(2): 339-348.
- [17] Al-Ofi EA, Anumba DO. Ligands of toll-like receptors 2/4 differentially alter markers of inflammation, adhesion and angiogenesis by monocytes from women with pre-eclampsia in co-culture with endothelial cells[J]. *J Reprod Immunol*, 2017, 121: 26-33.

(此文编辑 许雪梅)