

本文引用: 徐倩, 姜志胜. 动脉粥样硬化机制研究的新认识[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(11): 921-931. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.11.001.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-11-0921-11

· 专家论坛 ·

动脉粥样硬化机制研究的新认识

徐倩^{1,2,3}, 姜志胜^{1,2,3}

1. 南华大学心血管疾病研究所, 2. 动脉硬化化学湖南省重点实验室, 3. 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, 湖南省 121 人才工程第一层次人选, 首批湖南省高校科技创新团队带头人, 湖南省高校学科带头人, 南华大学副校长, 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, 国际动脉粥样硬化学会中国分会主席, 《中国动脉硬化杂志》主编。主要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 280 余篇, 其中 SCI 收录 160 余篇; 获国家教学成果二等奖和省部级科技成果一、二等奖及教学成果一、二等奖, 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 20 余本; 多次担任全国及国际性学术会议主席。



[摘要] 动脉粥样硬化是一种主要累及大、中等动脉的慢性血管性病变, 涉及多种复杂的因素。近年来, 动脉粥样硬化领域涌现了诸如炎症、肠道菌群、细胞焦亡、铁死亡、自噬、铜死亡、外泌体和非编码 RNA 等多个研究热点, 该文旨在综述这些方向的研究进展, 以期对动脉粥样硬化的发生机制和相关疾病的诊疗提供新的思路。

[关键词] 动脉粥样硬化; 炎症; 肠道菌群; 程序性细胞死亡; 外泌体; 非编码 RNA

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

New insights into the mechanisms of atherosclerosis

XU Qian^{1,2,3}, JIANG Zhisheng^{1,2,3}

1. Institute of Cardiovascular Disease, University of South China, 2. Key Laboratory for Arteriosclerosis of Hunan Province, 3. Hunan International Scientific and Technological Cooperation Base of Arteriosclerotic Disease, Hengyang, Hunan 421001, China

[ABSTRACT] Atherosclerosis is a chronic vascular disease primarily affecting large and medium-sized arteries, involving multiple complex pathogenic factors. In recent years, numerous research trends in atherosclerosis, such as inflammation, gut microbiota, pyroptosis, ferroptosis, autophagy, cuproptosis, exosome and non-coding RNA have emerged. This article aims to review the recent advancements in these research directions, with the hope of opening new avenues for the mechanism of atherosclerosis and the treatment of diseases related to atherosclerosis.

[KEY WORDS] atherosclerosis; inflammation; gut microbiota; programmed cell death; exosome; non-coding RNA

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是多种心脑血管疾病的共同病理基础, 主要表现为脂质沉积、免疫细胞浸润与炎症反应, 其病程可经历脂质条纹、纤维斑块、粥样斑块, 甚至斑块内出血、破裂、形

[收稿日期] 2024-04-14

[修回日期] 2024-05-14

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81670429, 91839103); 湖南省重点研发计划(2020SK2105)

[作者简介] 徐倩, 博士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化病因发病学及糖脂代谢紊乱分子机制研究与防治, E-mail: Xu-qian12022@163.com。通信作者姜志胜, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化病因发病学及心肌缺血损伤的细胞分子机制与防治, E-mail: zsjiang2005@163.com。

成血栓等过程。在病变的发展过程中,多种因素和机制的相互交织使其更具复杂性,给 As 相关疾病的诊治带来了巨大挑战。因此,深入研究 As 的发病机制,对探索新型诊疗策略具有重要意义和价值。近年来,国内外学者在炎症、肠道菌群、细胞焦亡、铁死亡、自噬、铜死亡、外泌体、非编码 RNA 等方面探索了 As 形成与发展的新机制,本文就这些方面进行综述,以期 As 的机制研究和干预策略打开新的思路(图 1)。有关经典的脂代谢紊乱与 As 的发生发展及其干预所带来的效应已有大量的研究和综述报告,限于篇幅,本文不做介绍。

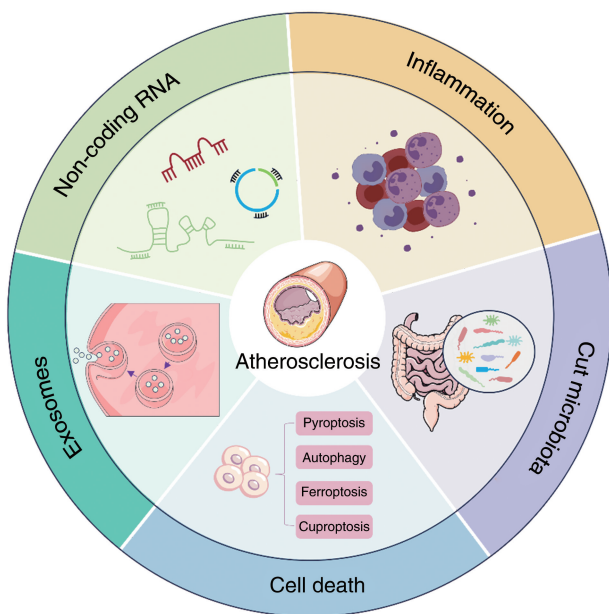


图 1. 近几年 As 领域的几个研究热点

Figure 1. Recent hotspots in the field of As in recent years

1 炎症与 As

As 是一种慢性、进行性的血管炎性病变,通常表现为动脉壁内脂质的积累和炎症反应,后者已被许多研究证明参与病变形成和发展的全过程,并且除了炎症本身对 As 相关疾病的进展造成影响外^[1],还与多种致 As 的病理因素如脂质蓄积、氧化应激等相互交织,从而造成了病变形成过程的复杂性。尽管当前已有很多针对 As 炎症的相关治疗,但疗效不佳,这促使研究者们更深入探索炎症与 As 的关系。

以往研究发现很多炎症标志物如 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、黏附分子、Copeptin (抗利尿激素前体的一种 C-末端肽)^[2]等的水平对于 As 具有较强的预测

功能。近来,免疫反应中的补体系统也被报道参与调控 As 进程,在高脂饮食喂养 LDLR^{-/-}小鼠所致 As 模型中,单核细胞来源的巨噬细胞可通过表达补体因子 H (complement factor H, CFH) 激活补体 C3 以促进炎症。当 CFH 缺乏时, C3 依赖性斑块坏死可受到有效抑制,提示 CFH 通过调节巨噬细胞内 C3 水平在炎症性 As 病理进程中发挥关键作用^[3]。这一发现不仅解析了补体系统与 As 的关系,也为后续研究提供了新的方向。除此之外,一些新的炎症相关基因被发现可调控 As 进展。髓源性生长因子 (myeloid-derived growth factor, MYDGF) 是由炎症细胞 (包括骨髓来源的单核细胞和巨噬细胞) 产生的一种分泌性蛋白质^[4], 早期研究发现 MYDGF 可促进肠道 L 细胞合成和分泌胰高血糖素样肽 1^[5], 缓解血管内皮细胞 (vascular endothelial cell, VEC) 炎症等^[6]。最新研究发现在下肢 As 患者及 As 小鼠中,血清 MYDGF 水平明显下降,且炎症细胞特异性 MYDGF^{-/-}可加重 As; 进一步骨髓移植恢复或过表达 MYDGF 的炎症细胞均可改善上述现象从而抑制 As 进展^[7]。这提示骨髓移植关键基因编辑的炎症细胞可能成为 As 干预的新思路。此外,在 ApoE^{-/-}小鼠中,利钠肽受体 C (natriuretic peptide receptor C, NPRC), 一个被发现与冠心病显著关联的基因,在 As 斑块中表达上调,且其缺失可通过抑制炎症、氧化应激和细胞凋亡减轻 As^[8], 这提示靶向 NPRC 可能成为 As 干预的一种新策略。除此之外,双皮质素样激酶 1 (doublecortin-like kinase 1, DCLK1)^[9]、锌指蛋白家族转录因子 Gata6^[10]等也可能是靶向 As 中炎症的潜在靶点。

总之,这些研究提示除传统的炎症标志物外,很多新的基因也可通过调控炎症从而影响 As 进展。考虑在评估 As 炎症情况时,一些非经典可调控 As 炎症的基因也应被纳入范围内。因此,深入探索炎症反应的机制及其干预新策略对心血管健康至关重要。

2 肠道菌群及其代谢产物与 As

肠道菌群是指寄居于宿主肠道内并与宿主共生的多种微生物群落的集合。以往研究发现肠道菌群失调主要与消化道疾病密切相关,近来研究表明肠道菌群失调会影响 As 的进展。

有报道,As 患者肠道表现出更高丰度的肠杆菌科和链球菌属^[11],并且这些菌属参与几种重要心血管健康分子的代谢与运输。这提示肠道菌群失调与 As 密切相关,其中的机制值得深究。如前文所

述,炎症反应是 As 发生发展的基础。在冠心病患者的粪便中,乳螺科和反刍球菌科丰度明显下调,而这两种菌科有些成员可通过产生丁酸来抗炎^[12]。当把 Caspase-1^{-/-}小鼠粪便中的促炎菌群移植到 LDLR^{-/-}小鼠中时,后者血浆促炎细胞因子水平升高,且 As 形成加速^[13]。补充脆弱拟杆菌也可通过恶化炎症加速 As 进展^[14]。另一方面,当肠道菌群失调后,会产生内毒素并进入门静脉激活 NLRP3 炎症小体^[15]。而当给予花生皮提取物(peanut skin extract,PSE)后发现其可调节肠道微生物区系的群落组成,降低促炎细胞因子肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)和 IL-6 的水平从而延缓 As 的进展^[16]。这些结果提示肠道菌群失调引起炎症可能是参与 As 的一个重要机制。高胆固醇血症是引起 As 的另一重要因素。当抗生素诱导肠道菌群失调时,机体会出现相应的高胆固醇血症,从而引起相关的心血管疾病^[17]。而当给予乳酸杆菌和双歧杆菌时可降低胆固醇水平^[18]。NPC1L1 为胆固醇吸收所必需的蛋白质,在高脂喂养 ApoE^{-/-}小鼠所致 As 模型中,乳螺科的乳杆菌_UCG-008 和罗斯氏菌属均可上调其表达,而予以一种可改善冠状动脉 As 的口服抗肿瘤药物羟基脲可逆转这一现象^[19]。这提示改善肠道菌群稳态对于高胆固醇血症所致的 As 有重要治疗价值。进一步研究发现,肠道菌群代谢产物同样参与 As 进展,氧化三甲胺(trimethylamine-N-oxide,TMAO)可通过升高细胞活性氧(reactive oxygen species,ROS)水平刺激炎症引起 As^[20],而吡啶-3-丙酸^[21]可抑制 As。这提示肠道菌群代谢产物的平衡值得考虑。

目前关于肠道菌群与 As 的研究已成为热点,许多问题有待探索和解答。例如,肠道菌群失调是 As 发生的直接原因,或者仅仅与该病变的形成和发展存在共同的影响因素?哪些种属的肠道菌群失调与 As 的产生具有确切的相关性?其机制是什么?此外,一些研究已经发现,通过改变饮食、使用益生菌或抗生素等手段可以调整肠道菌群的组成,从而对 As 产生一定的拮抗作用^[22]。但最佳调整策略和安全性等问题仍需更深入研究。

3 细胞死亡与 As

细胞死亡是一种正常的生命现象,根据其机制不同,细胞死亡方式也存在差异,常见的有细胞凋亡、焦亡、自噬、铁死亡、铜死亡等。然而不同的细胞死亡方式在疾病过程中可能发挥不同的作用。

在 As 斑块中发现了这些细胞死亡方式的存在,但其具体机制如何、或者这些细胞死亡方式是否受控于同一信号,目前尚不清楚。通过探索不同细胞死亡方式在 As 中的作用机制,可望为 As 的机制研究和干预打开新的视角。

3.1 细胞焦亡与 As

细胞焦亡是一种依赖炎性半胱天冬酶和 GSDM 蛋白家族的新型程序性细胞死亡方式,表现为细胞不断肿胀直至破裂,细胞内容物释放从而引起强烈炎症反应的过程^[23]。近来相关研究表明,细胞焦亡可发生于 As 的多种细胞,例如内皮细胞、巨噬细胞和平滑肌细胞(smooth muscle cell,SMC),并且影响疾病的进展。

内皮细胞作为血管壁的屏障,其功能受损对于 As 的发展至关重要。近期报道,高 IQGAP1(调节线粒体功能的重要支架蛋白)表达可诱导内皮细胞焦亡,从而加速 As 形成^[24]。当予以通心络时,内皮细胞焦亡和 As 模型小鼠斑块面积减少,As 进展延缓^[25]。这提示调节内皮细胞焦亡可能是抗 As 的新策略。巨噬细胞是 As 进展中重要的效应细胞。As 的独立危险因素高同型半胱氨酸血症可通过诱导内质网应激、扰乱钙离子稳态等促进巨噬细胞焦亡,从而加速 As 进展^[26]。而芹菜素可通过抑制巨噬细胞焦亡延缓 As 的进展^[27]。这提示巨噬细胞焦亡在 As 进展中发挥重要作用。此外,有报道,高脂喂养的 ApoE^{-/-}小鼠巨噬细胞中嗅觉受体 2(olfactory receptor 2,OLFR2)表达增高,且可通过激活 NLRP3 激活下游 Caspase-1 从而释放 IL-1 β ,加剧 As 的进展,此现象在人巨噬细胞中也同样存在^[28],提示小鼠 OLFR2 的人类直系同源嗅觉受体 OR6A2 可能是 As 干预的重要靶点。血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell,VSMC)作为 As 的重要成分细胞。最近研究发现人巨细胞病毒通过在炎症条件下促进 VSMC 的增殖、侵袭,同时抑制 VSMC 的焦亡,可能促进 As 的进展^[29]。这提示确定 As 的致病因素,可能提高治疗效果。

尽管细胞焦亡与 As 关系的研究取得了一定进展,但在 As 发生发展中的影响程度及其深入的机制尚未确定,是否与其他细胞死亡方式存在相互作用及其对 As 病变形成的影响仍未得到很好的解答。

3.2 铁死亡与 As

铁死亡是一种由铁依赖的脂质过氧化物积累所导致的新程序性细胞死亡^[30]。铁离子稳态失衡尤其是作为铁死亡重要环节的铁离子超载与 As 密切相关。在 FPN 突变致非转铁蛋白结合血清铁

(non-transferrin bound serum iron, NTBI) 升高从而导致铁超载的小鼠模型中, 小鼠 As 斑块面积明显增加且脂质过氧化显著^[31]。在高脂喂养 ApoE^{-/-} 小鼠所致 As 模型中, 血清和主动脉组织中铁含量明显增加, 铁死亡抑制剂 Fer-1 使铁蓄积减少, 溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11) 和谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 下降, As 缓解^[32]。这些数据为铁死亡参与 As 进展提供了支持。但铁死亡如何参与 As 的进展仍待探索。

Xc^{-/-} 系统 (由轻链亚基 SLC7A11 和重链亚基 SLC3A2 组成) 是细胞内谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 合成的限速性原料半胱氨酸的重要转运体, GSH 是细胞内最主要的抗氧化分子。当 Xc^{-/-} 系统失衡, 细胞就会失去其抗氧化能力从而表现为脂质过氧化, 继而诱发细胞死亡^[33]。研究发现, 在吸烟患者颈动脉斑块巨噬细胞中, FPN 和 SLC7A11 明显下降, hepcidin 上调。以香烟焦油处理高脂喂养的 ApoE^{-/-} 小鼠, As 斑块和坏死核面积明显增加, 且斑块中巨噬细胞和体外焦油处理的巨噬细胞均出现铁死亡现象, 其机制可能与 FPN/SLC7A11 轴失调有关。此外, 体外巨噬细胞过表达 SLC7A11 可减轻焦油致巨噬细胞显著增加的亚铁离子蓄积、脂质过氧化和 GSH 耗竭^[34]。这提示 SLC7A11 可能成为吸烟所致 As 的干预新靶点。GPX4 是一种重要的铁离子调节因子, 能利用 GSH 将脂质过氧化物还原为无害的脂质醇, 从而保护细胞免受脂质过氧化的毒害^[35]。过表达 GPX4 可减少高脂喂养的 ApoE^{-/-} 小鼠脂质过氧化和 As 损伤^[36]。而 GPX4 敲除可促进巨噬细胞形成泡沫细胞以及加速细胞内胆固醇积累^[37]。提示 GPX4 可能是 As 形成的关键因子。此外, ACSL4^[38]、Nrf2^[39] 等铁死亡关键分子与 As 关系的研究也为 As 形成机制的探索提供了新的思路。

除经典途径外, 一些非经典的途径如非编码 RNA、维生素 D 受体等也可通过调控铁死亡参与 As 进展^[40-41]。关于铁死亡与 As 关系的研究为 As 新的干预策略提供了潜在的靶点。但铁死亡在 As 动脉内壁中的分布、与其他细胞死亡机制的相互作用、如何影响斑块的形成和不稳定性等方面值得更深入的研究。

3.3 自噬与 As

自噬是 1957 年发现的一种程序性细胞死亡方式^[42], 在哺乳动物细胞中存在三种亚型, 即巨自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬 (chaperone mediated autophagy, CMA), 主要处理细胞内受损或多余的细

胞质蛋白或细胞器, 从而维持细胞的动态平衡。在 As 斑块中, 自噬现象普遍存在, 这一点可被斑块中存在多种自噬触发因素如 ROS、低密度脂蛋白和炎症介质等所佐证^[43]。然而自噬的程度不同, 对疾病的影响也不相同。过去的一些研究发现自噬主要是促进 As 进展^[44-45], 而近来的一些研究揭示了促进自噬可延缓 As 的进展, 并且主要聚焦于巨噬细胞, 这也为靶向巨噬细胞自噬干预 As 提供了理论依据。

近来报道, 当给予自噬抑制剂氯喹处理时, 小鼠 As 病变会加重, 而当给予花萼素处理时可通过调节 KLF2/MLKL 信号通路促进自噬并抑制炎症, 从而延缓小鼠 As 的进展^[46], 这提示适度的自噬可发挥抗 As 作用。自噬相关 14 (autophagy-related 14, ATG14) 是自噬体与溶酶体融合的重要调节因子。人和小鼠 As 斑块中均存在自噬功能受损且 ATG14 表达下调, 而上调 ATG14 可通过抑制炎症来逆转斑块中巨噬细胞的自噬功能受损从而延缓 As 进展^[47]。氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 是致 As 的关键因素, 其可被内皮下巨噬细胞表面的清道夫受体识别并吞噬造成脂质负荷, 从而触发 As 过程中的炎症反应。研究发现, ox-LDL 处理可损害巨噬细胞自噬功能并诱导炎症, 而磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, PE) 处理可通过诱导自噬减轻炎症小体的形成, 从而缓解炎症^[48]。这提示促进 As 中巨噬细胞自噬来减少炎症对疾病进展的影响可能是干预 As 的一种新策略。近年来, CMA 与 As 的关系引起了密切关注, 其主要是通过针对性介导细胞代谢过程中的关键蛋白质降解从而参与疾病的进展^[49]。在不同病程的 As 小鼠模型中, CMA 的标志物溶酶体相关膜蛋白 2A (lysosome-associated membrane protein 2A, LAMP-2A) 的表达随着 As 不断进展逐渐减少, 并且在人体尸检标本中也观察到了同样的现象, 巨噬细胞特异性敲除 LAMP-2A 可加速 As 斑块形成, 其具体机制可能与激活 NLRP3 所介导的炎症有关^[50]。这提示在考虑针对巨自噬的相关干预策略时, 也应该加以考虑 CMA。干预策略的优化 (例如对自噬和炎症的联合干预) 有望为 As 的防治带来新的机遇。

综上, 自噬在 As 进展中存在双面作用, 在 As 早期适当的自噬可延缓疾病的进展, 而在晚期过度的自噬会加速疾病的恶化。但自噬程度的量化方法, 自噬的量是否与刺激因素的强度相关, 以及利用数据建模来评估自噬的程度与 As 的关系等均有待深入研究。

3.4 铜死亡与 As

铜死亡是继铁死亡之后的又一金属离子依赖性死亡。主要表现为过量的铜离子与线粒体三羧酸循环中硫辛酰化蛋白直接结合,导致硫辛酰化蛋白的异常聚集和呼吸链复合体中铁硫簇蛋白的丢失,从而引起蛋白质毒性应激反应,最终导致细胞死亡^[51]。

近来相关研究显示铜离子稳态失衡与 As 发展密切相关。Kuzan 等^[52]发现尸检标本主动脉组织中铜含量降低,并且这一现象与 As 严重程度和年龄负相关。在高胆固醇喂养所致的 As 家兔模型中,As 血管壁和心脏、肝脏等多器官中铜含量降低,并且主动脉中铜含量与 As 严重程度负相关,但血清和肾脏中出现较高的铜含量^[53]。这可能因为组织中存在铜还原或者血清铜输送至组织受阻,但具体原因还有待于进一步探索。此外,调控铜死亡的相关分子也参与 As 疾病的进展。一种铜转运蛋白 ATP7A 可将细胞内铜释放到细胞外,而细胞外的铜具有促进低密度脂蛋白氧化的能力。在 LDLR^{-/-}小鼠 As 模型中,巨噬细胞 ATP7A 表达上调,干扰其表达可减弱细胞介导的低密度脂蛋白氧化^[54]。后者过量的积累是致 As 的关键因素。这提示铜离子缺乏可致 As。在饮食中补充适量的铜可减少 As 病变的形成^[55]。但值得注意的是,当补充高剂量的饮食铜时,喂食高胆固醇的家兔主动脉中出现高铜浓度,且表现出更明显的 As 易感性^[56-57]。在晚期人类 As 斑块内膜中总铜水平增加^[58],氧化铜纳米颗粒沉积可致人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)死亡^[59]。而用铜离子螯合剂四硫钼酸盐可减轻这一影响^[60]。此外,在 As 斑块中,也观察到如 FDX1、SLC31A1 等铜死亡相关分子表达明显上调^[61],且使用铜络合剂和铜离子载体抑制剂可延缓小鼠 As 的进展^[62]。这说明铜离子蓄积和铜死亡增加均可致 As。但铜离子含量在 As 发展过程中的动态变化以及铜死亡调控 As 的发生发展机制有待于进一步探索。

4 外泌体与 As

外泌体是一种由细胞衍生的脂质双层微囊泡,可携带多种生物活性分子,如蛋白、RNA、DNA、聚糖及代谢产物等^[63],甚至近年来在外泌体中检测到细胞器如线粒体等^[64]。外泌体传递信号主要是通过靶向受体细胞释放其携带内容物,进而发挥重要的细胞间通讯作用。

外泌体与 As 发生发展密切相关,可通过多种机制影响病变进展。多数研究聚焦于其所携带的非编码 RNA 参与 As 过程中受体细胞的凋亡、增殖、迁移和炎症等多个生物学过程(表 1)。然而,外泌体所携带的“货物”不同,其生物学作用差异很大。ox-LDL 处理的巨噬细胞可衍生出装载 lncRNA-GAS5 或 miR-186-5p 的外泌体,前者上调内皮细胞凋亡相关基因 p53、Caspase-3 等的表达,促进内皮细胞凋亡^[65]。后者通过靶向 SHIP2 促进 As 中 SMC 的存活和迁移^[66]。ox-LDL 处理的巨噬细胞还可衍生含 miR-146a 的外泌体,可通过诱导氧化应激来促进中性粒细胞胞外陷阱(neutrophil extracellular trap, NET)的形成从而加剧 As^[67]。值得注意的是,在相同的刺激下,同种细胞可分泌携带不同生物活性分子的外泌体而发挥作用,但这些生物活性分子是否具有外泌体结构选择性或受体细胞靶向特异性,目前尚不清楚。另一方面,在尼古丁的作用下,巨噬细胞可衍生出带有 miR-21-3p 的外泌体,其通过降低磷酸酶和张力同源物(phosphatase and tension homologue, PTEN)的表达促进 VSMC 的增殖和迁移,从而促进 As 的进展^[68]。此外,尼古丁的刺激可引起单核细胞衍生带有 miR-155 的外泌体,并通过核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路诱导内皮细胞功能障碍^[69]。说明在相同刺激下,不同细胞可产生包含不同“货物”的外泌体,但这些外泌体是否存在调控交点尚待进一步探索。此外,来自 As 斑块外的一些细胞也可分泌外泌体并通过循环系统作用于病变从而影响相关疾病的进程。最近有报道,睡眠剥夺可通过循环中带 miR-182-5p 的外泌体诱导内皮细胞炎症从而促进 As 的进展^[70]。在肥胖情况下,内脏脂肪会分泌带有 miR-27b-3p 的外泌体,通过抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor α , PPAR α) 促进内皮细胞炎症从而促进 As 的进展^[71]。说明 As 的发生发展过程可能遭受来自多种细胞所携带的外泌体的影响,探索这些外泌体产生的调控交点及其对细胞功能的调控作用有望为 As 疾病的治疗带来新的机遇。

此外,外泌体在一定程度上可作为生物标志物,例如,血浆外泌体 miR-150 的含量可以预测血管炎症和 As 的发生^[72],不稳定斑块患者循环中的 CD11b⁺/CD66⁺微囊泡水平可用于评估斑块易损性、识别无症状斑块破裂高危人群等^[73]。外泌体还有作为纳米材料的潜力,Mei 等^[74]利用“All in One”工程策略包封出来的 Ldlr-MS2 纯化外泌体在治疗 As

过程中表现出较大优势。但目前外泌体的稳定性及其分类、分离和纯化的规范化仍面临较大挑战，有待深入探索和突破。

表 1. 外泌体对 As 病变进展的影响
Table 1. Effects of exosomes on the progression of As lesions

来源	携带“货物”	效应细胞	机制	生物学效应	参考文献
巨噬细胞	lncRNA GAS5 ↑	巨噬细胞、内皮细胞	上调凋亡相关基因 p53、Caspase-3、Caspase-7 和 Caspase-9 的表达	促巨噬细胞和内皮细胞凋亡	[65]
巨噬细胞	miR-186-5p ↑	VSMC	抑制 SHIP2 介导的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路	促 VSMC 存活和迁移	[66]
巨噬细胞	miR-146a ↑	中性粒细胞	靶向 SOD2 促进 ROS 和中性粒细胞 NET 释放	促进 As 进展	[67]
巨噬细胞	miR-21-3p ↑	VSMC	降低 PTEN 的表达	促 VSMC 增殖和迁移,加速 As 进展	[68]
单核细胞	miR-155 ↑	内皮细胞	下调 BCL2、MCL1、TIMP3、BCL6 表达,激活 NF-κB 通路	促内皮细胞功能障碍和 As 进展	[69]
血液循环	miR-182-5p ↓	内皮细胞	上调 MYD88 和激活 NF-κB/NLRP3 通路	促内皮细胞炎症和 As 进展	[70]
内脏脂肪组织	miR-27b-3p ↑	内皮细胞	下调 PPARα 激活 NF-κB 通路	促内皮细胞炎症和 As 进展	[71]
巨噬细胞	miR-150 ↑	内皮细胞	降低 c-Myb 的表达	促内皮细胞迁移	[72]

5 非编码 RNA 与 As

长链非编码 RNA(long non-coding RNA,lncRNA) 是一类由基因转录而成但不编码蛋白质的 RNA 分子,主要分为基础结构型和调控型,后者如 miRNA、lncRNA 和 circRNA 等已被证明与 As 密切相关,并且参与调控影响 As 的多种因素(表 2)。值得注意的是,这些调控型非编码 RNA 并不总是单独发挥其对目标基因转录、转录后、翻译等层面上的调控,它们之间也存在很强的交互调控网络。lncRNA、circRNA 都可作为 miRNA 分子海绵,影响其对下游靶基因表达的调控。

5.1 miRNA 与 As

miRNA 是一类由 18~25 个核苷酸组成的内源性非编码单链 RNA 分子,来源于形成独特发夹结构的转录本,参与转录后基因表达调控。越来越多的研究发现,miRNA 与 As 疾病存在密切联系,并参与调控 As 相关的主要细胞的功能。有报道,miR-217 可通过降低一氧化氮(nitric oxide,NO)产生促进内皮障碍和升高血压从而加重 As 病变,另一方面,miR-217 还可能是血管老化的生物标志物^[75]。这提示调控 miR-217 水平可能是 As 这一与年龄高度相关的病变的重要干预策略。还有报道,miR-181a-5p 和 miR-181a-3p 可通过靶向目标基因激活 NF-κB,促进内皮炎症从而加速 As 进展^[76]。这些研究表明,内皮细胞可遭受多因素引起的损伤从而促进 As 形成

和发展。另一些 miRNA 如 miR-21^[77]、miR146b-5p^[78] 等主要通过调控 SMC 的表型转换、增殖和迁移从而参与 As 进展。在 As 斑块和 ox-LDL 处理的 SMC 中 miR-22-3p 表达减少,抑制其表达可加速 As 进展,而使用其模拟物可阻止 SMC 增殖、迁移和侵袭^[79]。miRNA 还参与调控 As 过程中巨噬细胞的多种生物功能。脂质体包裹外源性的 miR-146a 可减少巨噬细胞炎症因子释放和减少脂质摄取及泡沫细胞形成^[80]。miR-199a-5p 可抑制小鼠原代巨噬细胞中 ATP 结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1,ABCA1)的表达和胆固醇的流出^[81]。抑制 miR-652-3p 可改善巨噬细胞胆固醇积累和脂质代谢紊乱^[82]。还有多种 miRNA 可通过不同的机制调控巨噬细胞功能,对 As 的发生发展带来重要影响。此外,血液中的一些 miRNA 也可作为亚临床颈动脉 As 的诊断生物标志物^[83]。

5.2 lncRNA 与 As

lncRNA 是一类长度超过 200 nt 的非编码 RNA 分子,因其无编码蛋白的功能,曾一度被认为是转录“垃圾”。随着高通量测序技术的兴起,发现该类 RNA 在多种疾病中表达异常,且参与调控疾病进展^[84-85]。近来报道,在人和小鼠 As 样本中很多 lncRNA 表达异常。lncRNA MAARS 在 As 病变内膜巨噬细胞中明显上调,且其表达水平随着 As 病变的消退而减少,敲除 lncRNA MAARS 可减少 LDLR^{-/-}小鼠 As 病变形成,其机制可能与减少巨噬细胞凋亡和增加血管壁的

胞葬作用有关^[86]。当巨噬细胞凋亡时,其胞葬作用发生缺陷从而导致斑块坏死和结构不良重构,进而诱发易损斑块^[87]。这提示干预或阻断 lncRNA-MAARS 的表达可能在一定程度上能降低斑块破裂发生的风险。但其进一步的机制(例如是否影响纤维帽的形成、坏死核心的增加等)有待于更深入探讨。lncRNA MIAT 在晚期 As 患者病变内膜 SMC 中表达上调,参与 SMC 的增殖、迁移和促炎巨噬细胞样表型转换过程,而干扰、下调 lncRNA MIAT 可抑制人颈动脉 SMC 的增殖和迁移,促进凋亡,参与 As 进展和斑块稳定性调控^[88]。这些结果提示 lncRNA MIAT 可能是 As 斑块稳定性的另一个潜在干预靶点。另有报道,lncRNA_FGF7-5 和 lncRNA GLRX3 可通过直接靶向 miR-2681-5p 调控下游目标基因的表达,减少内皮细胞凋亡进而延缓 As 的进展^[89]。lncRNA-Gpr137b-ps 在小鼠晚期 As 斑块中明显上调,而干扰其表达可通过激活巨噬细胞自噬从而延缓疾病进展^[90]。此外,lncRNA JPX 和 lncRNA GAS5 等亦参与 As 进展^[91-92]。

5.3 circRNA 与 As

circRNA 是一类由共价键相连的具有环状结构的单链非编码 RNA,其生物学功能广泛,主要包括 RNA 配体、miRNA 海绵、蛋白质海绵、反义环状分子、先天免疫激活/抑制因子、蛋白质翻译和生物学标志物等^[93]。近来研究发现,在 As 时会出现 circRNA 谱表达异常,并影响疾病进展。circ-Sirt1 在人 As 肾动脉内膜中表达下降,抑制其表达可促进 VSMC 中

NF- κ B 核转位和炎症表型,而过表达时可逆转这一现象^[94]。提示 circ-Sirt1 可能是 VSMC 稳态的重要调控因素。此外,circCOL1A1 和 Hsa_circ_0001402 等也可通过影响 VSMC 多方面的功能从而参与 As 进展^[95-96],说明 VSMC 是 circRNA 的重要效应细胞。另一方面,内皮细胞功能也受 circRNA 的调控。circ_0086296 在人和小鼠 As 主动脉内皮细胞中表达上调,并可诱导 As 斑块形成,将其敲除可减轻 ox-LDL 处理的内皮细胞的运动和成管能力,而过表达时则呈现完全相反的结果。其机制与 miR-576-3p/IFIT1/STAT1 反馈环路密切相关^[97]。内皮细胞特异性过表达 circSQSTM1 可减弱 ApoE^{-/-}小鼠 As 的进展,其机制与上调 Sirt1 减轻炎症、抑制氧化应激、促进自噬的功能有关^[98]。这些结果提示 circ_0086296、circSQSTM1 可能是 As 干预的潜在新靶点。此外,还有 circNMD3、circCHFR 等多种 circRNA 可通过影响内皮细胞功能参与 As 进展^[99-100]。这为靶向 circRNA 异常所致 As 的治疗提供了新的证据支持。最近 Liu 等^[101]基于自动选择元路径和对比学习构建了一种新异质网络模型(基于 circRNA 的相似性、疾病的相似性和已知的关联构建的模型),即 MPCLCDA 模型,可以有效预测潜在 circRNA-疾病关联,为 circRNA 的研究开拓了新的视野。

总之,高通量测序技术的使用为研究非编码 RNA 调控网络和功能提供了极大便利和开辟了新思路,为 As 相关疾病的治疗带来新的希望。

表 2. 非编码 RNA 对 As 病变进展的影响

Table 2. Influence of non-coding RNA on the progression of As lesions

非编码 RNA	表达	机制	生物学效应	参考文献
miR-217	↑	下调 eNOS 激活因子网络,包括 VEGF 和 apelin 受体通路,导致 eNOS 表达减少	促进内皮细胞功能障碍、血管老化和 As 进展	[75]
miR-181a-5p、miR-181a-3p	↓	分别靶向 TAB2 和 NEMO 促进 NF- κ B 激活	促进内皮细胞炎症和 As 进展	[76]
miR-21	↑	上调 MMP-1 的表达,下调 RECK 的表达	促进 VSMC 表型由收缩型转变为合成型,促进异常重塑和内膜增生	[77]
miR-146b-5p	↑	下调 BAG1 和 MMP-16	抑制 VSMC 的增殖和迁移,延缓 As 进展	[78]
miR-22-3p	↓	靶向 HMGB2	促进 VSMC 增殖、迁移和侵袭,加速 As 进展	[79]
miR-146a	外源性 ↑	下调 ICAM-1、促炎细胞因子、TNF- α 和 IL-1 β 的表达	减少脂质摄取和泡沫细胞形成,抑制血管炎症	[80]
miR-199a-5p	↑	靶向 ABCA1	抑制胆固醇外流	[81]
miR-652-3p	↑	靶向 TP53	促进巨噬细胞胆固醇积累和脂质代谢紊乱,加速 As 进展	[82]
lncRNA MAARS	↑	靶向 HuR/ELAVL1	促进巨噬细胞凋亡和减少血管壁的胞葬作用,加速 As 进展	[86]
lncRNA MIAT	↑	抑制 KLF4 转录,调控 EGR1/ELK1/ERK 通路	促进 VSMC 增殖、凋亡和表型转化,以及巨噬细胞的促炎特性,促 As 斑块不稳定	[88]

续表

非编码 RNA	表达	机制	生物学效应	参考文献
lncRNA_FGF7-5、 lncRNA GLRX3	↓	与 miR-2681-5p 结合共同促进 ERCC4 的表达	促进内皮细胞凋亡和 As 进展	[89]
lncRNA Gpr137b-ps	↑	靶向 HSC70, 干扰 HSC70 与 G3BP 结合, 上调氨基酸诱导的 mTORC1 信号通路	巨噬细胞自噬受损, As 病变增加, 坏死核增加, 脂质积累增加	[90]
lncRNA JPX	↑	整合 p65 和 BRD4 形成染色质重塑复合物, 激活 SASP 基因转录	促进 VSMC 衰老, 促 As 进展	[91]
lncRNA GAS5	↑	抑制 miR-193-5p, 上调 SRSF10 表达	损害内皮细胞自噬, 促进 As 进展和斑块不稳定	[92]
circ-Sirt1	↓	与 NF-κB p65 相互作用并隔离 TNF-α 诱导的核易位, 与 miR-132/212 结合, 干扰 Sirt1 mRNA 从而上调 Sirt1 的表达	促进 VSMC 炎症表型和新生内膜增生	[94]
circCOL1A1	↑	靶向 miR-30a-5p, 上调 SMAD1, 从而抑制 TGF-β 信号通路	促进 VSMC 表型转换	[95]
hsa_circ_0001402	↓	海绵吸附 miR-183-5p, 上调 FKBPL 和 BECN1 表达	抑制 VSMC 增殖和迁移, 激活 VSMC 自噬, 减轻新生内膜增生	[96]
circ_0086296	↑	海绵吸附 miR-576-3p, 促进 IFIT1-STAT1 表达	促进内皮细胞损伤, 促 As 进展	[97]
circSQSTM1 (hsa_circRNA_075320)	↑	胞质中海绵吸附 miR-23b-3p 来缓解 Sirt1; 胞核中靶向 eIF4A3, 促 FOXO1 mRNA 的高效核输出, 直接激活 Sirt1 启动子	减轻内皮细胞炎症, 抑制氧化应激, 促进自噬, 延缓 As 进展	[98]
circNMD3	↓	海绵吸附 miR-498, 下调 BAMBI 表达	抑制 ox-LDL 诱导的 HUVEC 损伤	[99]
circCHFR	↑	海绵吸附 miR-15b-5p, 上调 GADD45G 表达	促进细胞凋亡和促炎细胞因子分泌, 促 As	[100]

6 小 结

As 是一种由多种因素所导致的以血管壁斑块形成为特征的慢性炎症性病变。近年来的大量研究从多层面、多角度提供了很多新认识和新干预思路, 但 As 的机制研究和相关疾病的治疗仍未取得重大突破, As 相关性疾病仍是人类的头号杀手。在引起 As 的诸多因素中, “炎症”始终贯穿其中, 但基于抗炎治疗的效果却差强人意, 这体现了 As 发生发展机制的复杂性和不同因素影响下相同反应的结果异质性, 例如, 在人巨细胞病毒参与的 As 中, 抑制 VSMC 焦亡会促进 As 进展, 而在高脂喂养的 ApoE^{-/-}小鼠中, 抑制 VSMC 焦亡可缓解 As^[102]。说明对 As 疾病要因人因时综合干预。另一方面, As 的发生发展与机体的“稳态”和血管壁的“微环境”异常变化密切相关。本文综述的各种因素作为这一“稳态”和“微环境”的重要组成部分, 构成了一个庞大而复杂的内部调节网络, 它们之间既可互相作用, 又可通过其他途径影响 As 的形成和发展。对其关键环节、关键分子作用的阐明有助于靶向开发更好的诊断方法和更有效的治疗手段, 推动人类健康水平的进一步提升。

[参考文献]

[1] 董亚兰, 胡德胜. 动脉粥样硬化的炎症应答特征及运用[J]. 中

国动脉硬化杂志, 2022, 30(4): 304-312.
DONG Y L, HU D S. Characteristics and application of inflammatory response in atherosclerosis [J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(4): 304-312.
[2] SCHILL F, PERSSON M, ENGSTRÖM G, et al. Copeptin as a marker of atherosclerosis and arteriosclerosis [J]. Atherosclerosis, 2021, 338: 64-68.
[3] KISS M G, PAPAC-MILIČEVIĆ N, PORSCH F, et al. Cell-autonomous regulation of complement C3 by factor H limits macrophage efferocytosis and exacerbates atherosclerosis [J]. Immunity, 2023, 56(8): 1809-1824.
[4] KORF-KLINGEBIEL M, REBOLL M R, KLEDE S, et al. Myeloid-derived growth factor (C19orf10) mediates cardiac repair following myocardial infarction [J]. Nat Med, 2015, 21(2): 140-149.
[5] WANG L, LI Y, GUO B, et al. Myeloid-derived growth factor promotes intestinal glucagon-like peptide-1 production in male mice with type 2 diabetes [J]. Endocrinology, 2020, 161(2): bqaa003.
[6] MENG B, LI Y, DING Y, et al. Myeloid-derived growth factor inhibits inflammation and alleviates endothelial injury and atherosclerosis in mice [J]. Sci Adv, 2021, 7(21): eabe6903.
[7] XU J, MA H, SHI L, et al. Inflammatory cell-derived MYDGF attenuates endothelial LDL transcytosis to protect against atherogenesis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2023, 43(11): e443-e467.
[8] CHENG C, ZHANG J, LI X, et al. NPRC deletion mitigated atherosclerosis by inhibiting oxidative stress, inflammation and apoptosis in ApoE knockout mice [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 290.
[9] HUANG Z, SHEN S, HAN X, et al. Macrophage DCLK1 promotes atherosclerosis via binding to IKKβ and inducing inflammatory responses [J]. EMBO Mol Med, 2023, 15(5): e17198.

- [10] WU W, BAO W, CHEN X, et al. Endothelial Gata6 deletion reduces monocyte recruitment and proinflammatory macrophage formation and attenuates atherosclerosis through Cmpk2-Nlrp3 pathways [J]. *Redox Biol*, 2023, 64: 102775.
- [11] JIE Z, XIA H, ZHONG S L, et al. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 845.
- [12] LIU H, CHEN X, HU X, et al. Alterations in the gut microbiome and metabolism with coronary artery disease severity[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 68.
- [13] BRANDSMA E, KLOOSTERHUIS N J, KOSTER M, et al. A proinflammatory gut microbiota increases systemic inflammation and accelerates atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2019, 124(1): 94-100.
- [14] SHI G, LIN Y, WU Y, et al. *Bacteroides fragilis* supplementation deteriorated metabolic dysfunction, inflammation, and aorta atherosclerosis by inducing gut microbiota dysbiosis in animal model[J]. *Nutrients*, 2022, 14(11): 2199.
- [15] TREMBLAY A, BÉLANGER M P, DHALIWAL R, et al. Impact of a multidisciplinary intervention on physical fitness, physical activity habits and the association between aerobic fitness and components of metabolic syndrome in adults diagnosed with metabolic syndrome[J]. *Arch Public Health*, 2020, 78: 22.
- [16] XU M, LV C, WANG H, et al. Peanut skin extract ameliorates high-fat diet-induced atherosclerosis by regulating lipid metabolism, inflammation reaction and gut microbiota in ApoE^{-/-} mice[J]. *Food Res Int*, 2022, 154: 111014.
- [17] KAPPEL B A, DE ANGELIS L, PUETZ A, et al. Antibiotic-induced gut microbiota depletion exacerbates host hypercholesterolemia [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 187: 106570.
- [18] RERKSUPPAPHOL S, RERKSUPPAPHOL L. A randomized double-blind controlled trial of *Lactobacillus acidophilus* plus *Bifidobacterium bifidum* versus placebo in patients with hypercholesterolemia[J]. *J Clin Diagn Res*, 2015, 9(3): KC01-KC04.
- [19] YANG X Y, YU H, FU J, et al. Hydroxyurea ameliorates atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice by potentially modulating Niemann-Pick C1-like 1 protein through the gut microbiota[J]. *Theranostics*, 2022, 12(18): 7775-7787.
- [20] ZHOU S, XUE J, SHAN J, et al. Gut-flora-dependent metabolite trimethylamine-N-oxide promotes atherosclerosis-associated inflammation responses by indirect ROS stimulation and signaling involving AMPK and SIRT1[J]. *Nutrients*, 2022, 14(16): 3338.
- [21] XUE H, CHEN X, YU C, et al. Gut microbially produced indole-3-propionic acid inhibits atherosclerosis by promoting reverse cholesterol transport and its deficiency is causally related to atherosclerotic cardiovascular disease[J]. *Circ Res*, 2022, 131(5): 404-420.
- [22] 王安璐, 李秋忆, 徐浩, 等. 肠道菌群与动脉粥样硬化的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(2): 93-98.
- WANG A L, LI Q Y, XU H, et al. Association between gut microbiota and atherosclerosis[J]. *Chin J Arterioscler*, 2020, 28(2): 93-98.
- [23] MAN S M, KARKI R, KANNEGANTI T D. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases[J]. *Immunol Rev*, 2017, 277(1): 61-75.
- [24] AN C, SUN F, LIU C, et al. IQGAP1 promotes mitochondrial damage and activation of the mtDNA sensor cGAS-STING pathway to induce endothelial cell pyroptosis leading to atherosclerosis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 123: 110795.
- [25] JIANG X, MA C, GAO Y, et al. Tongxinluo attenuates atherosclerosis by inhibiting ROS/NLRP3/Caspase-1-mediated endothelial cell pyroptosis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 304: 116011.
- [26] ZHANG S, LV Y, LUO X, et al. Homocysteine promotes atherosclerosis through macrophage pyroptosis via endoplasmic reticulum stress and calcium disorder[J]. *Mol Med*, 2023, 29(1): 73.
- [27] WENG X, LUO X, DAI X, et al. Apigenin inhibits macrophage pyroptosis through regulation of oxidative stress and the NF-κB pathway and ameliorates atherosclerosis[J]. *Phytother Res*, 2023, 37(11): 5300-5314.
- [28] ORECCHIONI M, KOBIYAMA K, WINKELS H, et al. Olfactory receptor 2 in vascular macrophages drives atherosclerosis by NLRP3-dependent IL-1 production[J]. *Science*, 2022, 375(6577): 214-221.
- [29] MA G, YU Z, NAN F, et al. HCMV-IE2 promotes atherosclerosis by inhibiting vascular smooth muscle cells' pyroptosis [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1177391.
- [30] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [31] VINCHI F, PORTO G, SIMMELBAUER A, et al. Atherosclerosis is aggravated by iron overload and ameliorated by dietary and pharmacological iron restriction[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(28): 2681-2695.
- [32] BAI T, LI M, LIU Y, et al. Inhibition of ferroptosis alleviates atherosclerosis through attenuating lipid peroxidation and endothelial dysfunction in mouse aortic endothelial cell[J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 160: 92-102.
- [33] CONRAD M, SATO H. The oxidative stress-inducible cystine/glutamate antiporter, system x(c)⁻: cystine supplier and beyond[J]. *Amino Acids*, 2012, 42(1): 231-246.
- [34] BAO X, LUO X, BAI X, et al. Cigarette tar mediates macrophage ferroptosis in atherosclerosis through the hepcidin/FPN/SLC7A11 signaling pathway[J]. *Free Radic Biol Med*, 2023, 201: 76-88.
- [35] YANG W S, STOCKWELL B R. Ferroptosis: death by lipid peroxidation[J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(3): 165-176.
- [36] GUO Z, RAN Q, ROBERTS L J 2nd, et al. Suppression of atherogenesis by overexpression of glutathione peroxidase-4 in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44(3): 343-352.
- [37] ZHOU J, WU S, CHEN X, et al. Macrophage Gpx4 deficiency aggravates foam cell formation by regulating the expression of scavenger receptors, ABCA1, and ABCG1[J]. *Cell Biol Int*, 2023, 47(9): 1589-1599.
- [38] ZHOU Y, ZHOU H, HUA L, et al. Verification of ferroptosis and pyroptosis and identification of PTGS2 as the hub gene in human coronary artery atherosclerosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 171: 55-68.
- [39] XU J, HAN X, XIA N, et al. IL-37 suppresses macrophage ferroptosis to attenuate diabetic atherosclerosis via the NRF2 pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2023, 25(6): 289.
- [40] RONG J, LI C, ZHANG Q, et al. Hydroxysafflor yellow A inhibits endothelial cell ferroptosis in diabetic atherosclerosis mice by regulating miR-429/SLC7A11[J]. *Pharm Biol*, 2023, 61(1): 404-415.
- [41] HU Y, GU X, ZHANG Y, et al. Adrenomedullin, transcriptionally regulated by vitamin D receptors, alleviates atherosclerosis in mice through suppressing AMPK-mediated endothelial ferroptosis [J].

- Environ Toxicol, 2024, 39(1): 199-211.
- [42] CLARK S L J R. Cellular differentiation in the kidneys of newborn mice studies with the electron microscope[J]. J Biophys Biochem Cytol, 1957, 3(3): 349-362.
- [43] ZHU L, WU G, YANG X, et al. Low density lipoprotein mimics insulin action on autophagy and glucose uptake in endothelial cells[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 3020.
- [44] CAI X, SHE M, XU M, et al. GLP-1 treatment protects endothelial cells from oxidative stress-induced autophagy and endothelial dysfunction[J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(12): 1696-1708.
- [45] MAO J, YANG R, YUAN P, et al. Different stimuli induce endothelial dysfunction and promote atherosclerosis through the Piezo1/YAP signaling axis[J]. Arch Biochem Biophys, 2023, 747: 109755.
- [46] MA C, WU H, YANG G, et al. Calycosin ameliorates atherosclerosis by enhancing autophagy via regulating the interaction between KLF2 and MLKL in apolipoprotein E gene-deleted mice[J]. Br J Pharmacol, 2022, 179(2): 252-269.
- [47] ZHANG H, GE S, NI B, et al. Augmenting ATG14 alleviates atherosclerosis and inhibits inflammation via promotion of autophagosome-lysosome fusion in macrophages[J]. Autophagy, 2021, 17(12): 4218-4230.
- [48] HAO T, FANG W, XU D, et al. Phosphatidylethanolamine alleviates ox-LDL-induced macrophage inflammation by upregulating autophagy and inhibiting NLRP1 inflammasome activation[J]. Free Radic Biol Med, 2023, 208: 402-417.
- [49] YANG Q, WANG R, ZHU L. Chaperone-mediated autophagy[J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1206: 435-452.
- [50] QIAO L, MA J, ZHANG Z, et al. Deficient chaperone-mediated autophagy promotes inflammation and atherosclerosis[J]. Circ Res, 2021, 129(12): 1141-1157.
- [51] TSVETKOV P, COY S, PETROVA B, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins[J]. Science, 2022, 375(6586): 1254-1261.
- [52] KUZAN A, WUJCZYK M, WIGLUSZ R J. The study of the aorta metallomics in the context of atherosclerosis[J]. Biomolecules, 2021, 11(7): 946.
- [53] LI H, ZHAO L, WANG T, et al. Dietary cholesterol supplements disturb copper homeostasis in multiple organs in rabbits: aorta copper concentrations negatively correlate with the severity of atherosclerotic lesions[J]. Biol Trace Elem Res, 2022, 200(1): 164-171.
- [54] QIN Z, KONANIAH E S, NELTNER B, et al. Participation of ATP7A in macrophage mediated oxidation of LDL[J]. J Lipid Res, 2010, 51(6): 1471-1477.
- [55] LAMB D J, REEVES G L, TAYLOR A, et al. Dietary copper supplementation reduces atherosclerosis in the cholesterol-fed rabbit[J]. Atherosclerosis, 1999, 146(1): 33-43.
- [56] LAMB D J, AVADES T Y, FERNS G A. Biphasic modulation of atherosclerosis induced by graded dietary copper supplementation in the cholesterol-fed rabbit[J]. Int J Exp Pathol, 2001, 82(5): 287-294.
- [57] 王甜, 吴鸿飞, 戴敏, 等. 铜过载介导动脉粥样硬化的作用及机制研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(8): 719-727.
- WANG T, WU H F, DAI M, et al. Research progress on the role and mechanism of copper overload mediating atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2024, 32(8): 719-727.
- [58] STADLER N, LINDNER R A, DAVIES M J. Direct detection and quantification of transition metal ions in human atherosclerotic plaques: evidence for the presence of elevated levels of iron and copper[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(5): 949-954.
- [59] ZHANG J, ZOU Z, WANG B, et al. Lysosomal deposition of copper oxide nanoparticles triggers HUVEC cells death[J]. Biomaterials, 2018, 161: 228-239.
- [60] HE H, ZOU Z, WANG B, et al. Copper oxide nanoparticles induce oxidative DNA damage and cell death via copper ion-mediated P38 MAPK activation in vascular endothelial cells[J]. Int J Nanomedicine, 2020, 15: 3291-3302.
- [61] CUI Y, CHEN Y, GAN N, et al. A novel cuproptosis-related diagnostic gene signature and differential expression validation in atherosclerosis[J]. Mol Biomed, 2023, 4(1): 21.
- [62] WEI H, ZHANG W J, MCMILLEN T S, et al. Copper chelation by tetrathiomolybdate inhibits vascular inflammation and atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Atherosclerosis, 2012, 223(2): 306-313.
- [63] 罗宇霖, 袁渊, 罗茂. 细胞外囊泡微小RNA在动脉粥样硬化中的作用研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(2): 157-164, 170.
- LUO Y L, YUAN Y, LUO M. Research progress on the role of extracellular vesicle microRNA in atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(2): 157-164, 170.
- [64] D'ACUNZO P, KIM Y, UNGANIA J M, et al. Isolation of mitochondria-derived mitovesicles and subpopulations of microvesicles and exosomes from brain tissues[J]. Nat Protoc, 2022, 17(11): 2517-2549.
- [65] CHEN L, YANG W, GUO Y, et al. Exosomal lncRNA GAS5 regulates the apoptosis of macrophages and vascular endothelial cells in atherosclerosis[J]. PLoS One, 2017, 12(9): e0185406.
- [66] REN L, CHEN S, YAO D, et al. OxLDL-stimulated macrophage exosomes promote proatherogenic vascular smooth muscle cell viability and invasion via delivering miR-186-5p then inactivating SHIP2 mediated PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Mol Immunol, 2022, 146: 27-37.
- [67] ZHANG Y G, SONG Y, GUO X L, et al. Exosomes derived from oxLDL-stimulated macrophages induce neutrophil extracellular traps to drive atherosclerosis[J]. Cell Cycle, 2019, 18(20): 2674-2684.
- [68] ZHU J, LIU B, WANG Z, et al. Exosomes from nicotine-stimulated macrophages accelerate atherosclerosis through miR-21-3p/PTEN-mediated VSMC migration and proliferation[J]. Theranostics, 2019, 9(23): 6901-6919.
- [69] WANG C, LIU C, SHI J, et al. Nicotine exacerbates endothelial dysfunction and drives atherosclerosis via extracellular vesicle-miRNA[J]. Cardiovasc Res, 2023, 119(3): 729-742.
- [70] LI X, CAO Y, XU X, et al. Sleep deprivation promotes endothelial inflammation and atherogenesis by reducing exosomal miR-182-5p[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2023, 43(6): 995-1014.
- [71] TANG Y, YANG L J, LIU H, et al. Exosomal miR-27b-3p secreted by visceral adipocytes contributes to endothelial inflammation and atherogenesis[J]. Cell Rep, 2023, 42(1): 111948.
- [72] ZHANG Y, LIU D, CHEN X, et al. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration[J]. Mol Cell, 2010, 39(1): 133-144.
- [73] SARLON-BARTOLI G, BENNIS Y, LACROIX R, et al. Plasmatic level of leukocyte-derived microparticles is associated with unstable

- plaque in asymptomatic patients with high-grade carotid stenosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(16): 1436-1441.
- [74] MEI R, WAN Z, LI Z, et al. "All-in-One" exosome engineering strategy for effective therapy of familial hypercholesterolemia[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14(45): 50626-50636.
- [75] DE YÉBENES V G, BRIONES A M, MARTOS-FOLGADO I, et al. Aging-associated miR-217 aggravates atherosclerosis and promotes cardiovascular dysfunction[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(10): 2408-2424.
- [76] SU Y, YUAN J, ZHANG F, et al. MicroRNA-181a-5p and microRNA-181a-3p cooperatively restrict vascular inflammation and atherosclerosis[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(5): 365.
- [77] ALSHANWANI A R, RICHES-SUMAN K, O'REGAN D J, et al. MicroRNA-21 drives the switch to a synthetic phenotype in human saphenous vein smooth muscle cells[J]. *IUBMB Life*, 2018, 70(7): 649-657.
- [78] SUN D, XIANG G, WANG J, et al. miRNA 146b-5p protects against atherosclerosis by inhibiting vascular smooth muscle cell proliferation and migration[J]. *Epigenomics*, 2020, 12(24): 2189-2204.
- [79] WANG Y, YANG Y, ZHANG T, et al. LncRNA SNHG16 accelerates atherosclerosis and promotes ox-LDL-induced VSMC growth via the miRNA-22-3p/HMGB2 axis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 915: 174601.
- [80] HO D, LYND T O, JUN C, et al. MiR-146a encapsulated liposomes reduce vascular inflammatory responses through decrease of ICAM-1 expression, macrophage activation, and foam cell formation[J]. *Nanoscale*, 2023, 15(7): 3461-3474.
- [81] ARANDA J F, PÉREZ-GARCÍA A, TORRECILLA-PARRA M, et al. Role of miR-199a-5p in the post-transcriptional regulation of ABCA1 in response to hypoxia in peritoneal macrophages[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 994080.
- [82] LIU H, ZUO C, CAO L, et al. Inhibition of miR-652-3p regulates lipid metabolism and inflammatory cytokine secretion of macrophages to alleviate atherosclerosis by improving TP53 expression[J]. *Mediators Inflamm*, 2022, 2022: 9655097.
- [83] WITARTO B S, VISUDDHO V, ALDIAN F M, et al. Blood-based circulating microRNAs as diagnostic biomarkers for subclinical carotid atherosclerosis: a systematic review and Meta-analysis with bioinformatics analysis[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2023, 17(10): 102860.
- [84] DOU R, HAN L, YANG C, et al. Upregulation of LINC00501 by H3K27 acetylation facilitates gastric cancer metastasis through activating epithelial-mesenchymal transition and angiogenesis[J]. *Clin Transl Med*, 2023, 13(10): e1432.
- [85] 谭珍妮, 吕春美, 邹海林. lncRNA NEAT1 通过调节 miR-27b-3p/SP1 轴对心房颤动大鼠心肌纤维化的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2023, 31(8): 668-676.
- TAN Z N, LÜ C M, ZOU H L. Effect of lncRNA NEAT1 on myocardial fibrosis in rats with atrial fibrillation by regulating miR-27b-3p/SP1 axis[J]. *Chin J Arterioscler*, 2023, 31(8): 668-676.
- [86] SIMION V, ZHOU H, HAEMMIG S, et al. A macrophage-specific lncRNA regulates apoptosis and atherosclerosis by tethering HuR in the nucleus[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6135.
- [87] KAVURMA M M, RAYNER K J, KARUNAKARAN D. The walking dead: macrophage inflammation and death in atherosclerosis[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2017, 28(2): 91-98.
- [88] FASOLO F, JIN H, WINSKI G, et al. Long noncoding RNA MIAT controls advanced atherosclerotic lesion formation and plaque destabilization[J]. *Circulation*, 2021, 144(19): 1567-1583.
- [89] WU J J, JIN J, LI Y H, et al. LncRNA FGF7-5 and lncRNA GLRX3 together inhibits the formation of carotid plaque via regulating the miR-2681-5p/ERCC4 axis in atherosclerosis[J]. *Cell Cycle*, 2023, 22(2): 165-182.
- [90] QU W, ZHOU X, JIANG X, et al. Long noncoding RNA Gpr137b-ps promotes advanced atherosclerosis via the regulation of autophagy in macrophages[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2023, 43(11): e468-e489.
- [91] GU J, CHEN J, YIN Q, et al. lncRNA JPX-enriched chromatin microenvironment mediates vascular smooth muscle cell senescence and promotes atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2024, 44(1): 156-176.
- [92] FAN Y, ZHANG Y, ZHAO H, et al. lncRNA-GAS5 upregulates the splicing factor SRSF10 to impair endothelial autophagy, leading to atherogenesis[J]. *Front Med*, 2023, 17(2): 317-329.
- [93] LIU C X, CHEN L L. Circular RNAs: characterization, cellular roles, and applications[J]. *Cell*, 2022, 185(12): 2016-2034.
- [94] KONG P, YU Y, WANG L, et al. circ-Sirt1 controls NF-kappaB activation via sequence-specific interaction and enhancement of SIRT1 expression by binding to miR-132/212 in vascular smooth muscle cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(7): 3580-3593.
- [95] YE M, NI Q, WANG H, et al. CircRNA circCOL1A1 Acts as a sponge of miR-30a-5p to promote vascular smooth cell phenotype switch through regulation of Smad1 expression[J]. *Thromb Haemost*, 2023, 123(1): 97-107.
- [96] LIN J J, CHEN R, YANG L Y, et al. Hsa_circ_0001402 alleviates vascular neointimal hyperplasia through a miR-183-5p-dependent regulation of vascular smooth muscle cell proliferation, migration, and autophagy[J]. *J Adv Res*, 2024, 60: 93-110.
- [97] ZHANG M, ZHU Y, ZHU J, et al. circ_0086296 induced atherosclerotic lesions via the IFIT1/STAT1 feedback loop by sponging miR-576-3p[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27(1): 80.
- [98] CHEN Z, WANG R, ZHU Y, et al. A novel circular RNA, circSQSTM1, protects the endothelial function in atherosclerosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2023, 209(Pt 2): 301-319.
- [99] XIU J, YANG Z, SUI Y, et al. CircNMD3 relieves endothelial cell injury induced by oxidatively modified low-density lipoprotein through regulating miR-498/ BMP and activin membrane-bound inhibitor (BAMBI) axis[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(5): 12558-12571.
- [100] LI Y, WANG B. Circular RNA circCHFR downregulation protects against oxidized low-density lipoprotein-induced endothelial injury via regulation of microRNA-15b-5p/growth arrest and DNA damage inducible gamma[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(2): 4481-4492.
- [101] LIU W, TANG T, LU X, et al. MPCLCDA: predicting circRNA-disease associations by using automatically selected meta-path and contrastive learning[J]. *Brief Bioinform*, 2023, 24(4): bbad227.
- [102] LI Y, NIU X, XU H, et al. VX-765 attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice by modulating VSMCs pyroptosis[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 389(1): 111847.