

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.12.008
文章编号: 1005-8982 (2019) 12-0036-07

MicroRNA-126 在动脉粥样硬化性脑梗死患者血清中的表达变化及其机制研究

张翠, 司君增, 郑立峰

(莱芜市人民医院 神经内科, 山东 莱芜 271100)

摘要: 目的 观察 microRNA (miR-126) 在动脉粥样硬化性脑梗死 (ACI) 患者血清中的表达变化及其对血管平滑肌细胞增殖和迁移的影响, 并探讨其机制。**方法** 选取 2015 年 11 月—2017 年 11 月莱芜市人民医院发病 7 d 内就诊的 150 例急性脑梗死患者, 分为 ACI 组 110 例 (稳定斑块患者 74 例, 不稳定斑块患者 36 例) 和非动脉粥样硬化性脑梗死 (NACI) 患者 40 例, 同时选择同期 40 例年龄、性别相匹配的健康志愿者作为对照组。实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测 3 组血清 miR-126 的表达, 体外培养人血管平滑肌细胞系 HA-VSMC, 分别转染 miR-126 模拟物、模拟物阴性对照和 miR-126 抑制物、抑制物阴性对照。采用 qRT-PCR 检测 miR-126 的表达; CCK-8 法检测细胞增殖活性; Transwell 迁移实验检测细胞迁移能力; Western blotting 检测基质金属蛋白酶 13 (MMP-13) 蛋白的表达。**结果** ACI 组患者血清 miR-126 表达水平较 NACI 组和对照组降低 ($P < 0.05$), 且不稳定斑块患者血清 miR-126 表达水平低于稳定斑块患者 ($P < 0.05$)。与模拟物阴性对照组比较, miR-126 模拟物组细胞 miR-126 表达水平升高 ($P < 0.05$), 细胞增殖活性和迁移能力下降 ($P < 0.05$), MMP-13 表达升高 ($P < 0.05$); 与抑制物阴性对照组比较, miR-126 抑制物组细胞增殖活性和迁移能力提高 ($P < 0.05$), MMP-13 表达降低 ($P < 0.05$)。**结论** ACI 患者血清 miR-126 表达降低, 并可通过抑制血管平滑肌细胞的增殖和迁移起到抗动脉粥样硬化作用, 其机制可能与下调 MMP-13 的表达有关。

关键词: 梗塞, 大脑中动脉; 动脉粥样硬化; 细胞增殖; 细胞迁移分析

中图分类号: R543.13

文献标识码: A

Changes of serum miR-126 expression in patients with atherosclerosis cerebral infarction and its mechanism

Cui Zhang, Jun-zeng Si, Li-feng Zheng

(Department of Ophthalmology, Laiwu People's Hospital, Laiwu, Shandong 271100, China)

Abstract: Objective To observe the expression of miR-126 in serum in patients with atherosclerosis cerebral infarction (ACI) and its influence on the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells, and to probe the potential mechanism. **Methods** Totally 150 acute cerebral infarction patients consulted in the Department of Neurology in our hospital were selected and divided into ACI group ($n = 110$, including 74 patients with stable plaque and 36 patients with unstable plaque) and the non-atherosclerosis cerebral infarction (NACI) group ($n = 40$). Meanwhile, additional 40 healthy volunteers with matched sex and age were enrolled at the same period into the control group. The serum miR-126 expression levels in each group were detected using quantitative real-time fluorescence PCR (qRT-PCR). Besides, human vascular smooth muscle cell line HA-VSMC was cultured in vitro, and transfected with miR-126 mimics, mimics negative control, miR-126 inhibitor and inhibitor negative control, respectively. The miR-126 expression was detected by qRT-PCR; the cell proliferation activity was examined through

CCK-8 assay; cell migration capacity was detected through Transwell assay; and MMP-13 protein expression was detected by Western blotting. **Results** Serum miR-126 expression level in ACI group was lower than that in NACI group and control group ($P < 0.05$), and that in patients with unstable plaque was lower than that in those with stable plaque ($P < 0.05$). Compared with the cells in the mimics negative control group, the miR-126 expression level in miR-126 mimics group was up-regulated ($P < 0.05$), while cell proliferation activity and migration capacity were distinctly reduced ($P < 0.05$), and MMP-13 expression level was evidently increased ($P < 0.05$). Compared with the cells in inhibitor negative control group, the cell proliferation activity and migration capacity in miR-126 inhibitor group were notably elevated ($P < 0.05$), while MMP-13 expression level was distinctly reduced ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression of miR-126 in serum of patients with ACI decreased, and miR-126 can suppress the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells to resist atherosclerosis, the mechanism of which may be related to the down-regulation of MMP-13 expression.

Keyword: infarction, middle cerebral artery; atherosclerosis; cell proliferation; cell migration assays

脑梗死又称缺血性脑卒中, 其发病率逐年升高, 动脉粥样硬化尤其是颈动脉粥样硬化 (Atherosclerosis, AS) 是脑梗死的主要病因和危险因素^[1]。MicroRNA (miRNA) 在动脉粥样硬化性脑梗死 (atherosclerosis cerebral infarction, ACI) 调控中发挥着重要作用^[2]。研究显示, MicroRNA-126 (miR-126) 在 ApoE (-/-) 小鼠颈动脉粥样硬化斑块中表达降低, 推测其可能参与 AS 的形成过程^[3], 但作用机制尚不清楚。本研究旨在观察 miR-126 在 ACI 患者血清中的表达变化及其对血管平滑肌细胞增殖和迁移的影响, 并探讨其可能的调控机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 11 月—2017 年 11 月莱芜市人民医院发病 7 d 内就诊的 150 例急性脑梗死患者。纳入标准: ①符合第四届全国脑血管病会议修订的诊断标准^[4], 经颅脑 CT 或 MRI 证实; ②第 1 次发生急性脑梗死; ③患者知情同意。排除标准: ①既往有脑血管史; ②合并有心、肝及肾功能不全和肿瘤、自身免疫性疾病等; ③入院前 6 个月有服用降脂药物史。150 例急性脑梗死患者依据新 TOAST 卒中分类标准,

分为 ACI 组 110 例和非动脉粥样硬化性脑梗死 (non atherosclerosis cerebral infarction, NACI) 组患者 40 例。ACI 组: 男性 60 例, 女性 50 例; 年龄 (66.47 ± 7.99) 岁。ACI 组患者又根据颈动脉彩色多普勒超声结果分为稳定斑块患者 74 例和不稳定斑块患者 36 例。NACI 组: 男性 23 例, 女性 17 例; 年龄 (65.99 ± 8.24) 岁。同时选择同期 40 例年龄、性别相匹配的健康志愿者作为对照组, 对照组行彩色多普勒超声检查排除 AS。对照组: 男性 22 例, 女性 18 例; 年龄 (66.11 ± 7.14) 岁。所有受试者采集空腹外周静脉血 10 ml, 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清, -80°C 保存待检。3 组性别、年龄、舒张压 (DBP)、空腹血糖 (FPG) 及高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 等一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而收缩压 (SBP)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG) 及低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。本研究通过医院伦理委员会批准, 患者签署知情同意书。见表 1。

1.2 主要试剂和细胞系

血清 miRNA 提取试剂盒 (美国 Ambion 公司), miR-126 模拟物、模拟物阴性对照、miR-126 抑制物及抑制物阴性对照均购自广州锐博生物

表 1 3 组患者一般资料比较

组别	n	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$)	男 / 女 / 例	SBP / (mmHg, $\bar{x} \pm s$)	DBP / (mmHg, $\bar{x} \pm s$)	FPG / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)
对照组	40	66.11 ± 7.14	22/18	127.21 ± 20.48	78.51 ± 8.17	5.65 ± 0.59
NACI 组	40	65.99 ± 8.24	23/17	$136.47 \pm 23.24^{1)}$	79.67 ± 7.99	5.89 ± 0.89
ACI 组	110	66.47 ± 7.99	60/50	$144.54 \pm 18.74^{1)2)}$	82.71 ± 11.14	6.01 ± 0.95
χ^2/F 值		0.070	0.105	10.81	1.730	2.500
P 值		0.934	0.949	0.000	0.180	0.085

续表 1

组别	n	TC/ (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	TG (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	HDL-C (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	LDL-C (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)
对照组	40	4.68 ± 0.77	1.60 ± 0.69	1.31 ± 0.33	3.05 ± 0.59
NACl 组	40	5.01 ± 0.87 ¹⁾	1.98 ± 0.64 ¹⁾	1.25 ± 0.39	3.49 ± 0.63 ¹⁾
ACI 组	110	5.29 ± 0.80 ¹⁾²⁾	2.49 ± 0.89 ¹⁾²⁾	1.19 ± 0.25	3.79 ± 0.70 ¹⁾²⁾
F 值		10.880	19.790	2.720	18.590
P 值		0.000	0.000	0.068	0.000

注: 1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与 NAcl 组比较, $P < 0.05$

公司, Trizol 试剂及 Lipofectamine™ 2000 购自美国 Invitrogen 公司, RNA 逆转录试剂盒、实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒购自大连宝生生物工程公司, miR-126、U6 引物购自上海吉玛制药有限公司, CCK-8 试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司), Transwell 小室 (美国 Corning 公司), 一抗基质金属蛋白酶 13 (matrix metalloprotein, MMP-13) 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 及二抗均购自美国 Santa Cruz 公司。人血管平滑肌细胞系 HA-VSMC (美国 ATCC 细胞库)。在 DMEM 培养基中培养, 置于 37℃、5% 二氧化碳 CO₂ 的饱和湿度恒温箱培养箱中常规传代培养, 取生长状态良好的对数生长期细胞进行后续实验。

1.3 方法

1.3.1 qRT-PCR 应用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA, 用 miRNA 提取试剂盒提取血清中的 miRNA, 鉴定纯度和含量后, 参照逆转录试剂盒说明书操作, 采用 miR-126 特异性逆转录引物合成 cDNA。以 cDNA 为模板, 按照 qRT-PCR 试剂盒说明书配置反应体系进行 PCR 反应。miR-126 引物序列, 正向引物: 5' -GGCTTCGTACCGTGAGTAAT-3', 反向引物: 5' -GTGCAGGTCCTGAGGT-3'。PCR 反应条件: 95℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 5 s, 60℃ 退火 20 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 40 个循环。以 U6 作为内参基因, 采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 miR-126 相对表达水平。

1.3.2 细胞转染 取对数生长期 HA-VSMC 细胞, 接种于 6 孔细胞板, 常规培养 24 h, 待细胞增长至 50% ~ 60% 密度时, 即可进行细胞转染。采用 Lipofectamine™ 2000 说明书操作, 分别将 miR-126 模拟物、模拟物阴性对照、miR-126 抑制物及抑制物

阴性对照转染至 HA-VSMC 细胞, 转染后 HA-VSMC 细胞分为 miR-126 模拟物组、模拟物阴性对照组、miR-126 抑制物组及抑制物阴性对照组。转染后 24 h, 采用 qRT-PCR 检测各组细胞 miR-126 的表达水平, 评估转染效率。

1.3.3 CCK-8 法 收集转染后 48 h 的 4 组 HA-VSMC 细胞, 以 5 000 个/孔的密度接种于 96 孔细胞板, 每组设 5 个复孔, 参照 CCK-8 试剂盒说明书在避光条件下加入 10 μl CCK-8 反应液后, 置入细胞孵育箱中 37℃ 继续孵育 4 h 后, 在酶标仪上设定波长 450 nm, 检测各孔的光密度 (optical density, OD) 值, 以 OD 值表示细胞的增殖活性。

1.3.4 Transwell 迁移实验 收集转染后 48 h 的各组 HA-VSMC 细胞, 以无血清培养基重悬制备单细胞悬液, 取 0.1 ml 单细胞悬液 (含 1 × 10⁵ 个细胞) 加入 Transwell 小室的上室, 下室加入 0.5 ml 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 放入细胞孵育箱中继续孵育 24 h 后取出小室, 棉签轻轻擦弃小室上室的细胞, 小室膜上的细胞以 95% 乙醇溶液固定, 染色后显微镜下观察, 并随机取 10 个高倍视野计算迁移细胞数, 以穿膜细胞数表示细胞的迁移能力。

1.3.5 Western blotting 收集转染后 48 h 的 4 组 HA-VSMC 细胞, 加入细胞裂解液和蛋白酶 / 磷酸酶抑制剂提取细胞总蛋白质, BCA 法定量蛋白质浓度。取 200 μl 样品上样, 聚丙烯酰胺凝胶电泳电泳分离, 将电泳产物转聚偏二氟乙烯膜, 室温条件下脱脂奶粉封闭 2 h 后, 缓冲液漂洗 3 遍, 分别加入一抗 MMP-13 和 GAPDH, 4℃ 过夜, 缓冲液漂洗 3 遍, 加入相应的二抗, 室温孵育 1 h, 洗膜后 ECL 显影液显影, 采集图片, Image Lab 软件分析条带灰度。

1.4 统计学方法

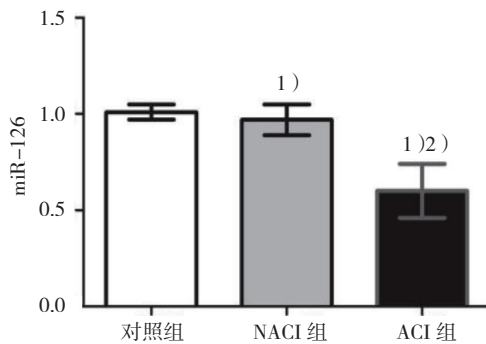
数据分析采用 SPSS 21.0 统计软件。计量资料以

均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验或方差分析, 进一步的两两比较用 SNK- q 检验; 计数资料以构成比表示, 比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清中 miR-126 表达比较

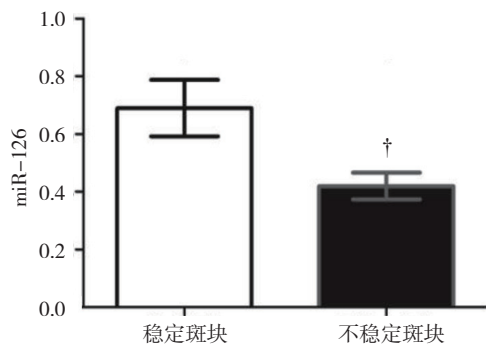
qRT-PCR 结果显示, 对照组、ACI 组和 NACI 组血清中 miR-126 的表达水平分别为 (1.01 ± 0.04) 、 (0.97 ± 0.08) 和 (0.60 ± 0.14) , 3 组血清中 miR-126 表达比较, 差异有统计学意义 ($F = 270.240$, $P = 0.000$); ACI 组血清中 miR-126 的表达水平低于 NACI 组和对照组 ($P < 0.05$), NACI 组和对照组血清中 miR-126 表达比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 1。



1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与 NACI 组比较, $P < 0.05$

图 1 3 组血清 miR-126 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

ACI 组中不稳定斑块和稳定斑块患者血清中 miR-126 表达水平分别为 (0.42 ± 0.08) 和 (0.69 ± 0.17) 。ACI 组中不稳定斑块患者血清中 miR-126 表达水平低于稳定斑块患者 ($t = 9.039$, $P = 0.000$)。见图 2。

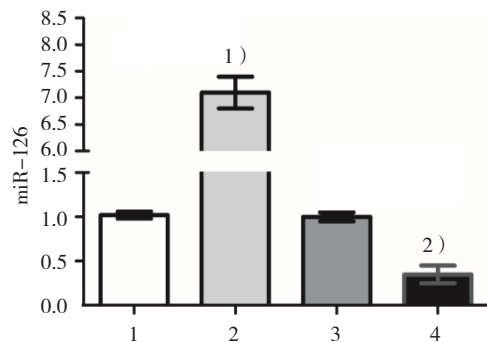


† 与稳定斑块比较, $P < 0.05$

图 2 ACI 组不稳定斑块和稳定斑块患者血清 miR-126 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

2.2 各组 HA-VSMC 细胞 miR-126 表达水平比较

qRT-PCR 结果显示, miR-126 模拟物组、模拟物阴性对照组、miR-126 抑制物组和抑制物阴性对照组 miR-126 表达水平分别为 (7.10 ± 0.30) 、 (1.02 ± 0.04) 、 (0.35 ± 0.10) 和 (1.00 ± 0.05) 。4 组 miR-126 表达水平比较, 差异有统计学意义 ($F = 1158.600$, $P = 0.000$); miR-126 模拟物组 miR-126 表达水平高于模拟物阴性对照组 ($P < 0.05$), miR-126 抑制物组 miR-126 的表达水平低于抑制物阴性对照组 ($P < 0.05$), 说明转染效率较高。见图 3。



1: 模拟物阴性对照组; 2: miR-126 模拟物组; 3: 抑制物阴性对照组; 4: miR-126 抑制物组。1) 与模拟物阴性对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与抑制物阴性对照组比较, $P < 0.05$

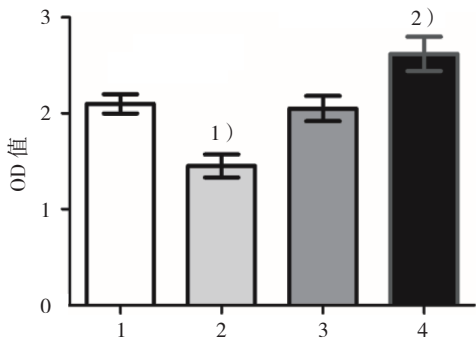
图 3 各组 miR-126 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

2.3 各组 HA-VSMC 细胞增殖活性比较

CCK-8 法结果显示, miR-126 模拟物组、模拟物阴性对照组、miR-126 抑制物组和抑制物阴性对照组细胞 OD 值分别为 (1.45 ± 0.12) 、 (2.10 ± 0.10) 、 (2.62 ± 0.18) 和 (2.05 ± 0.13) 。4 组 OD 值比较, 差异有统计学意义 ($F = 37.300$, $P = 0.000$); miR-126 模拟物组细胞的 OD 值低于模拟物阴性对照组 ($P < 0.05$), miR-126 抑制物组细胞的 OD 值高于抑制物阴性对照组 ($P < 0.05$)。说明上调 HA-VSMC 细胞 miR-126 表达能抑制细胞增殖活性, 而下调 HA-VSMC 细胞 miR-126 表达却能增强细胞增殖活性。见图 4。

2.4 各组 HA-VSMC 细胞的迁移能力比较

Transwell 迁移实验结果显示, miR-126 模拟物组、模拟物阴性对照组、miR-126 抑制物组和抑制物阴性对照组迁移细胞数分别为 (19.20 ± 5.00) 、 (28.10 ± 3.00) 、 (28.00 ± 5.00) 和 (40.50 ± 6.00) 个。4 组迁移细胞数比较, 差异有统计学意义 ($F = 9.690$, $P = 0.005$); miR-126 模拟物组迁移细胞数低于模拟物



1: 模拟物阴性对照组; 2: miR-126 模拟物组; 3: 抑制物阴性对照组; 4: miR-126 抑制物组。1) 与模拟物阴性对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与抑制物阴性对照组比较, $P < 0.05$

图 4 4 组细胞增殖活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

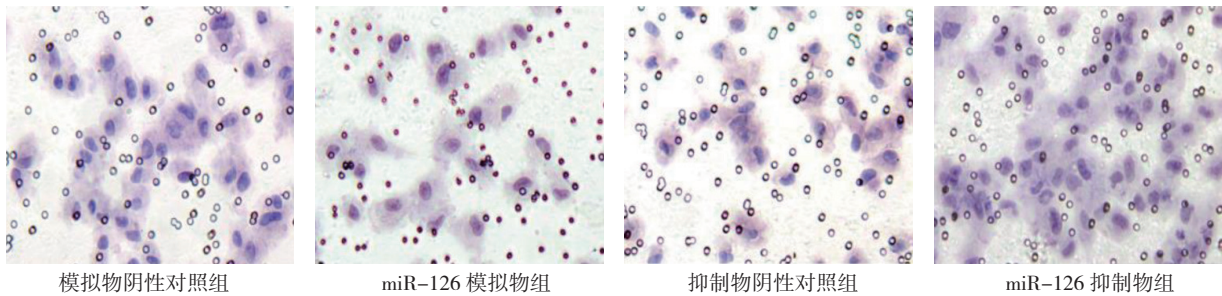
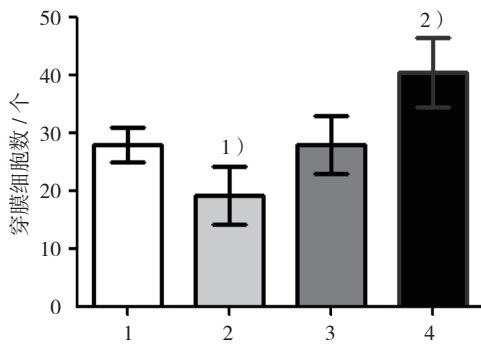


图 5 各组细胞迁移能力 ($\times 200$)



1: 模拟物阴性对照组; 2: miR-126 模拟物组; 3: miR-126 抑制物组; 4: 抑制物阴性对照组。1) 与模拟物阴性对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与抑制物阴性对照组比较, $P < 0.05$

图 6 各组细胞迁移能力比较 ($\bar{x} \pm s$)

阴性对照组 ($P < 0.05$), miR-126 抑制物组迁移细胞数低于抑制物阴性对照组 ($P < 0.05$)。说明上调 HA-VSMC 细胞 miR-126 表达能抑制细胞迁移能力, 而下调 HA-VSMC 细胞 miR-126 表达却能提高细胞迁移能力。见图 5、6。

2.5 miR-126 靶基因的预测

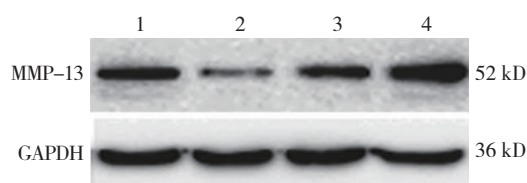
查阅 TargetScan (<http://www.targetscan.org>) 和 miRanda (www.microrna.org) 生物信息学数据库发现, miR-126 与 MMP-13 的 3' UTR 区存在种子序列互补的结合位点。结合相关文献 [5], 推测 MMP-13 可能是 miR-126 的作用靶基因。见图 7。

2.6 各组 HA-VSMC 细胞 MMP-13 蛋白表达比较

Western blotting 结果显示, miR-126 模拟物组、模拟物阴性对照组、miR-126 抑制物组和抑制物阴性对照组 MMP-13 蛋白表达水平分别为 (0.32 ± 0.13)、(0.95 ± 0.15)、(1.69 ± 0.23)、(0.88 ± 0.19) $\mu\text{g/L}$ 。4 组 MMP-13 蛋白表达水平比较, 差异有统计学意义 ($F = 29.560, P = 0.000$); miR-126 模拟物组 MMP-13 蛋白表达水平低于模拟物阴性对照组 ($P < 0.05$), miR-126 抑制物组 MMP-13 蛋白表达水平高于抑制物阴性对照组 ($P < 0.05$)。说明上调 HA-VSMC 细胞 miR-126 表达能抑制细胞 MMP-13 蛋白表达, 而下调 HA-VSMC 细胞 miR-126 表达却能提高细胞 MMP-13 蛋白表达。见图 8。

	Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type	Context++ score	Context++ score percentile	Weighted context++ score	Conserved branch length	PCT
Position 461-468 of MMP13 3' UTR	5' ... AAAGGAAAATGUCUAAUAATA ... 	8mer	-0.03	68	-0.03	0	N/A
hsa-miR-126-5p	3' GCGCAUGGUUUUCAUUAUAC						

图 7 miR-126 和 MMP-13 的 3' UTR 区结合序列



1: 模拟物阴性对照组; 2: miR-126 模拟物组; 3: 抑制物阴性对照组; 4: miR-126 抑制物组

图 8 4 组 MMP-13 蛋白的表达

3 讨论

AS 是多种缺血性心脑血管疾病的基础, 血管内皮细胞损伤和炎症激活、平滑肌细胞增殖和迁移、单核巨噬细胞活化释放炎症介质是 AS 发生、发展的重要过程, 也是 ACI 发生的病理基础^[6]。目前研究证实, 血管平滑肌的异常增殖及迁移在促进 AS 及 ACI 的发生、发展中发挥着重要的作用^[7]。

近年来研究显示, miRNA 在转录后水平调控靶基因的表达, 广泛参与 AS 发病机制的多个环节^[2]。miR-126 是近年来发现与肿瘤、炎症反应及细胞增殖分化等密切相关 miRNA 家族成员之一, 其编码基因定位于染色体 9q34.3, 表皮生长因子样结构域 1 基因的第 7 个内含子中^[8-9]。miR-126 与 AS 的关系引起学者关注。WANG 等^[10] 研究中发现, miR-126 在冠状动脉粥样硬化性心脏病患者血清中表达水平降低, 且在不稳定型心绞痛和急性心肌梗死患者血清中表达水平更低, 推测 miR-126 与 AS 有关。王婷等^[3] 研究中发现, miR-126 在 ApoE(-/-) 小鼠颈 AS 斑块中的表达降低, 认为 miR-126 参与颈 AS 的形成和发展过程。但目前有关 miR-126 在 ACI 患者血清中表达情况及作用机制的研究尚未见报道。本研究中, 笔者通过 qRT-PCR 检测发现, ACI 患者血清中 miR-126 的表达水平低于 NACI 患者和对照组, 而 NACI 患者和健康对照组比较无差异; 进一步统计分析发现, ACI 组中不稳定斑块患者血清中 miR-126 的表达水平低于稳定斑块患者, 提示 miR-126 在 ACI 的发生、发展中发挥着重要的作用。

研究发现, 血管平滑肌细胞的异常增殖和迁移在 AS 的发生、发展中发挥着重要的作用^[7]。miRNA 能通过调控血管平滑肌细胞的增殖、凋亡及迁移参与 AS 的发生、发展。李晓丽等^[11] 研究发现, miR-181b 在颈 AS 患者血清中表达降低, 其可能通过抑制血管平滑肌细胞的增殖和迁移起到抗 AS 的作用。XIE 等^[12] 报道, 上调血管平滑肌细胞中 miR-599 的表达能抑制

血管平滑肌细胞的增殖和迁移能力, 从而干预 AS 的进展。为研究 miR-126 是否也能通过影响血管平滑肌细胞增殖和迁移参与 ACI 的发生、发展, 笔者通过脂质体转染法将 miR-126 模拟物和抑制物分别转染入人血管平滑肌细胞 HA-VSMC 中, 上调或下调细胞中 miR-126 的表达水平。CCK-8 实验和 Transwell 实验显示, 上调 HA-VSMC 细胞中 miR-126 水平能抑制细胞的增殖和迁移能力, 而下调 miR-126 水平却能提高细胞的增殖和迁移能力。证实 miR-126 能通过抑制血管平滑肌细胞的增殖和迁移能力, 起到抗 AS 的作用。

miR-126 抑制血管平滑肌细胞的增殖和迁移能力的下游通路尚不明确。笔者通过生物学信息网站预测 MMP-13 可能是 miR-126 的作用靶基因, 近期 WU 等^[5] 在研究中也发现, miR-126 通过靶向调控 MMP-13, 从而调控骨巨细胞瘤的分化。MMP-13 是基质金属蛋白酶家族重要成员之一。研究证实, MMP-13 与血管平滑肌细胞的增殖、凋亡、迁移、血管收缩及血栓形成等 AS 病变过程有关^[13]。抑制 MMP-13 能减少胶原在颈动脉斑块中的聚集, 甚至增加已形成的斑块的稳定性^[14]。为研究 miR-126 在血管平滑肌细胞中能否也可通过调控 MMP-13 影响细胞的增殖和迁移能力。笔者通过 Western blotting 检测发现, 上调 HA-VSMC 细胞中 miR-126 水平能下调细胞中 MMP-13 表达水平, 而下调 miR-126 水平却能升高细胞中 MMP-13 表达水平, 提示 miR-126 可能通过调控 MMP-13 表达调控血管平滑肌细胞的增殖和迁移。

综上所述, miR-126 在 ACI 患者血清中表达降低, miR-126 能通过抑制血管平滑肌细胞的增殖和迁移, 起到抗 AS 的作用, 其机制可能与下调 MMP-13 的表达有关。

参 考 文 献:

- [1] 陈兰兰, 徐俊, 朱晓峰, 等. 单发性和同侧多发性腔隙性梗死的危险因素和病因学差异 [J]. 国际脑血管病杂志, 2015(6): 444-448.
- [2] KOROLEVA I A, NAZARENKO M S, KUCHER A N. Role of microRNA in development of instability of atherosclerotic plaques [J]. Biochemistry (Mosc), 2017, 82(11): 1380-1390.
- [3] 王婷, 潘旭东, 马爱军, 等. miR-126 在 ApoE-/- 小鼠颈动脉粥样硬化斑块中的表达 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2016, 33(4): 296-298.
- [4] 中华医学会全国第四届脑血管病学术会议. 各类脑血管疾病诊断要点 [J]. 中华神经科杂志, 1996(6): 60-61.

- [5] WU Z, YIN H, LIU T, et al. Mir-126-5p regulates osteoclast differentiation and bone resorption in giant cell tumor through inhibition of MMP-13[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 443(3): 944-949.
- [6] TELLIDES G, POBER J S. Inflammatory and immune responses in the arterial media[J]. *Circ Res*, 2015, 116(2): 312-322.
- [7] DONG X, HU H, FANG Z, et al. CTRP6 inhibits PDGF-BB-induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 844-850.
- [8] CASCIARO M, DI SALVO E, BRIZZI T, et al. Involvement of mir-126 in autoimmune disorders[J]. *Clin Mol Allergy*, 2018, 16: 11.
- [9] 王凤, 徐华英, 杜文婷, 等. miR-126 的临床意义研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(9): 2236-2241.
- [10] WANG X, LIAN Y, WEN X, et al. Expression of miR-126 and its potential function in coronary artery disease[J]. *Afr Health Sci*, 2017, 17(2): 474-480.
- [11] 李晓丽, 曹国良. 动脉粥样硬化患者血清微小 RNA-181b 的异常表达及其作用 [J]. *中华心血管病杂志*, 2015, 43(6): 516-520.
- [12] XIE B D, ZHANG C F, KANG K, et al. miR-599 inhibits vascular smooth muscle cells proliferation and migration by targeting TGF β 2[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): DOI: 10.1371/journal.pone.0141512.
- [13] YANG S W, LIM L, JU S, et al. Effects of matrix metalloproteinase 13 on vascular smooth muscle cells migration via Akt-ERK dependent pathway[J]. *Tissue Cell*, 2015, 47(1): 115-121.
- [14] QUILLARD T, TESMENITSKY Y, CROCE K, et al. Selective inhibition of matrix metalloproteinase-13 increases collagen content of established mouse atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(11): 2464-2472.

(唐勇 编辑)