

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.06.003

miR-19 靶向 PTEN 并介导 HMGB1 影响小鼠动脉粥样硬化进程的机制研究*

徐敬轩 张 勛 杨 岩 邓国棋 栾新平[△]

(新疆医科大学第二附属医院神经外科 新疆 乌鲁木齐 830028)

摘要 目的:探究 miR-19 靶向 PTEN 并介导 HMGB1 影响小鼠动脉粥样硬化进程的机制研究。**方法:**SPF 级 C57BL/6J ApoE^{-/-} 雄性小鼠根据研究目的将实验小鼠分为对照组、AS 模型组和 miR-19 抑制剂组。通过 RT-PCR 分析小鼠主动脉组织中 miR-19 的 mRNA 表达。通过蛋白印迹分析小鼠主动脉 PTEN、HMGB1 和 AKT 的蛋白表达。通过荧光素酶活性检测 miR-19a 与 PTEN 的靶向关系。通过组织学和红油 O 染色分析小鼠胸腹主动脉和主动脉窦中的 AS 斑块面积。通过 RT-PCR 分析小鼠主动脉主动脉弓内膜中促炎细胞因子和趋化因子的 mRNA 表达。通过蛋白印迹分析主动脉弓内膜中 ICAM-1 和 VCAM-1 的蛋白表达。**结果:**AS 模型组 miR-19mRNA 表达较对照组升高 ($P<0.05$), miR-19 抑制剂组 miR-19mRNA 表达较 AS 模型组降低 ($P<0.05$)。AS 模型组 PTEN 蛋白表达较对照组降低, HMGB1 和 AKT 蛋白表达较对照组升高 ($P<0.05$), miR-19 抑制剂组 PTEN 蛋白表达较 AS 模型组升高, miR-19 抑制剂组 HMGB1 和 AKT 蛋白表达较 AS 模型组降低 ($P<0.05$)。AS 模型组主动脉和主动脉窦的斑块面积较对照组增加 ($P<0.05$), miR-19 抑制剂组主动脉和主动脉窦的斑块面积较 AS 模型组减少 ($P<0.05$)。AS 模型组 TNF- α 、IL- β 、IL-6 和 CXCL2 的 mRNA 表达较对照组升高 ($P<0.05$), miR-19 抑制剂组 TNF- α 、IL-6、IL- β 和 CXCL2 的 mRNA 表达较 AS 模型组降低 ($P<0.05$)。AS 模型组 ICAM-1 和 VCAM-1 的蛋白表达较对照组升高 ($P<0.05$), miR-19 抑制剂组 ICAM-1 和 VCAM-1 的蛋白表达较 AS 模型组降低 ($P<0.05$)。**结论:**miR-19 通过靶向调控 PTEN 表达激活 HMGB1/PI3K/Akt 信号通路, 这可能会促进 VSMCs 的异常增殖、迁移和炎症反应, 有助于 AS 的进展。

关键词:miR-19; 蛋白酪氨酸磷酸酶基因; 高迁移率族蛋白 B1; 动脉粥样硬化; 小鼠

中图分类号: R-33; R543.5 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2022)06-1013-05

Study on the Mechanism of miR-19 Targeting PTEN and Mediating HMGB1 to Affect the Process of Atherosclerosis in Mice*

XU Jing-xuan, ZHANG Xu, YANG Yan, DENG Guo-qi, LUAN Xin-ping[△]

(Department of Neurosurgery, Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830028, China)

ABSTRACT Objective: To explore the mechanism of miR-19 targeting PTEN and mediating HMGB1 to affect the process of atherosclerosis in mice. **Methods:** SPF grade C57BL/6J ApoE^{-/-} male mice were divided into control group, AS model group and miR-19 inhibitor group. The mRNA expression of miR-19 in mouse aorta tissue was analyzed by RT-PCR. The protein expression of PTEN, HMGB1 and AKT in mouse aorta was analyzed by Western blot. The targeting relationship between miR-19a and PTEN was detected by luciferase activity. The area of atherosclerotic plaque in mouse thoracic and abdominal aorta and aortic sinus was analyzed by histology and red oil O staining. The mRNA expression of proinflammatory cytokines and chemokines in the intima of the aortic arch of the mouse aorta was analyzed by RT-PCR. The protein expression of ICAM-1 and VCAM-1 in the intima of the aortic arch was analyzed by Western blot. **Results:** The expression of miR-19mRNA in the AS model group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and the miR-19mRNA expression in the miR-19 inhibitor group was lower than that in the AS model group ($P<0.05$). The expression of PTEN protein in the AS model group was lower than that in the control group, the expression of HMGB1 and AKT protein was higher than that in the control group ($P<0.05$), and the expression of PTEN protein in the miR-19 inhibitor group was higher than that in the AS model group, the expression of HMGB1 and AKT protein in the miR-19 inhibitor group was lower than that in the AS model group ($P<0.05$). The plaque area of the aorta and aortic sinus in the AS model group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and the plaque area of the aorta and aortic sinus in the miR-19 inhibitor group was lower than that in the AS model group ($P<0.05$). The mRNA expressions of TNF- α , IL- β , IL-6 and CXCL2 in the AS model group were higher than those in the control group ($P<0.05$), and the miR-19 inhibitor group TNF- α , IL-6, IL- β and CXCL2 mRNA expression was lower than that of AS model ($P<0.05$). The protein expression of ICAM-1 and VCAM-1 in the AS model group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and the protein expression of ICAM-1

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2019D01C235)

作者简介:徐敬轩(1980-),男,硕士,主任医师,研究方向:脑血管病相关,电话:13579996797, E-mail: xujingxuan2020@163.com

[△] 通讯作者:栾新平(1958-),男,硕士,主任医师,研究方向:脑血管病相关,电话:13039489302, E-mail: xujingxuan2020@163.com

(收稿日期:2021-08-27 接受日期:2021-09-23)

and VCAM-1 in the miR-19 inhibitor group was lower than that in the AS model group ($P<0.05$). **Conclusion:** miR-19 activates the HMGB1/PI3K/Akt signaling pathway through targeted regulation of PTEN expression, which may promote the abnormal proliferation, migration and inflammatory response of VSMCs, and contribute to the progress of AS.

Key words: miR-19; PTEN; HMGB1; Atherosclerosis; Mice

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R543.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)06-1013-05

前言

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是一种累及动脉的慢性炎症性疾病^[1]。AS 是造成急性心肌梗塞和脑血管意外的原因, 并且占心血管死亡的绝大多数^[2]。据报道, 内皮功能障碍是 AS 进展的核心。氧化低密度脂蛋白 (Oxidized Low Density Lipoprotein, ox-LDL) 被证明通过诱导炎症反应参与 AS 的发病机制^[3]。尽管 AS 治疗的新疗法取得了巨大进步, 但 AS 的显著发病率在全球普遍存在^[4-6]。因此, 非常需要研究支撑 AS 的病理机制并确定用于设计 AS 治疗的新分子靶标。微小 RNA (MicroRNA, miRNA) 是一类小的非编码 RNA, 它们通过诱导信使 RNA (Messenger RNA, mRNA) 降解或翻译抑制来靶向特定 mRNA 的 3' UTR, 从而对基因表达进行调节^[7-9]。miRNA 可调节基因表达并参与多种生物学过程, 包括 AS^[10-11]。大量研究表明 miRNAs 参与心血管疾病的发病机制, 包括心律失常、心力衰竭和 AS^[12-14]。例如, 对血管平滑肌细胞 (Vascular smooth muscle cells, VSMCs) 具有促增殖和抗凋亡作用的 miR-21 可能是 AS 的新治疗靶点。此外, 实验数据显示 miRNA-143 和 miRNA-145, 假定的炎症调节因子, 参与 VSMCs 稳态的调节^[15]。本研究旨在探讨 miR-19 靶向 PTEN 并介导 HMGB1 影响小鼠 AS 进程的机制研究。

1 材料与方 法

1.1 实验小鼠

无特定病原体的 C57BL/6J ApoE^{-/-} 雄性小鼠 (体重 20-25g 克; 年龄 6-8 周大) 购自江苏集萃药康生物科技有限公司。将动物饲养在 20-25 °C、相对湿度 40-50%、光照时间 8:00-18:00 的环境下。期间小鼠科自由获取食物和饮用水。

1.1.1 实验分组 根据研究目的将小鼠分为以下几组: 对照组 (小鼠喂养标准食物, n=15), AS 模型组 (给予 0.25% 胆固醇, 15% 脂肪的高脂肪饮食 12 周诱导小鼠发生 AS, n=15), miR-19 抑制剂组 (在 AS 诱导的第 7 周, 将 miR-19 抑制剂以 7 mg/kg/天的剂量通过尾静脉注射到 ApoE^{-/-} 小鼠体内, 每周两次, 持续 5 周, n=15)。12 周后, 小鼠在安乐死前禁食 12 h, 用 3% 戊巴比妥麻醉安乐死。

1.1.2 医学伦理学问题 所有动物实验程序均按照动物护理措施进行, 并符合中国国家卫生研究院的《实验动物护理和使用指南》。

1.2 实验方法

1.2.1 蛋白质印迹分析 使用蛋白质提取裂解缓冲液 (上海碧云天生物科技有限公司) 从收集组织中分离总蛋白质含量。使用 BCA 蛋白质测定试剂盒 (上海碧云天生物科技有限公司) 定量细胞裂解物的蛋白质浓度。在 10% SDS 凝胶上分离来自不

同组的等量蛋白质。分离后, 将蛋白质转移到硝酸纤维素膜上, 并将膜在室温下在含 5% 脱脂牛奶的 TBST 中孵育。将膜与针对 GAPDH 和 PTEN、HMGB1、ICAM-1 和 VCAM-1 的兔多克隆抗体 (南京建成生物科技有限公司) 以及针对 AKT 和磷酸化 AKT 的兔单克隆抗体 (细胞信号生物技术) 一起孵育。第二天早上, 将膜与二抗 (山羊抗兔 IgG H&L IRDye 800 CW, 美国 LI-COR 公司) 在室温下孵育 1 h。使用 Odyssey 红外图像系统通过光密度测定法对膜进行定量。GAPDH 用作相对蛋白质表达水平标准化的对照。

1.2.2 RNA 提取和实时 PCR 使用 TRIzol 试剂 (南京建成生物科技有限公司) 从小鼠主动脉组织中分离总 RNA。大容量 cDNA 逆转录试剂盒 (美国赛默飞世尔科技有限公司) 根据制造商的说明将提取的 RNA 逆转录为 cDNA。使用 SYBR Green 荧光定量 PCR 系统 (美国赛默飞世尔科技有限公司) 进行实时 PCR, 扩增后, 确定阈值循环 (Ct)。以 18 S rRNA 为内参, 根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各基因表达的倍数变化。根据制造商的方案, 使用 TaqMan MicroRNA 表达检测试剂盒 (美国赛默飞世尔科技有限公司) 量化 miRNA 表达。miRNA 表达水平标准化为 U43 小核 RNA (RNU43) 的表达水平。

1.2.3 AS 病变分析 在高脂饮食 12 周时, 通过腹腔注射戊巴比妥钠麻醉小鼠。用 20 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS) 灌注小鼠心脏。从心脏到髂骨分叉处解剖总主动脉, 并在解剖显微镜下仔细清洁外膜组织。用 10% 福尔马林缓冲液固定 24 h 后。将主动脉纵向打开, 用 0.3% 油红-O 染色 2 h, 在 78% 甲醇中脱色 5 min。在连接到带有微距转换镜头的数码相机的奥林巴斯显微镜下分析斑块。使用 Image-Pro Plus 5.0 软件定量阳性染色面积。每只小鼠的主动脉粥样斑块面积由同一动物的六个切片中阳性染色面积的平均值获得。

1.3 统计分析

使用 SPSS 21.0 软件进行统计分析, 数据表示为平均值 ± 标准偏差 (SD), t 检验用于两组之间的比较, 单向 NOVA 用于三个或更多组之间的比较。P<0.05 则差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RT-PCR 检测 miR-19 表达

AS 模型组 (1.93 ± 0.17) miR-19 mRNA 表达较对照组 (1.04 ± 0.08) 升高 (P<0.05), miR-19 抑制剂组 (0.93 ± 0.01) miR-19 mRNA 表达较 AS 模型组降低 (P<0.05)。

2.2 PTEN、HMGB1 和 AKT 蛋白印迹分析

AS 模型组 PTEN 蛋白表达较对照组降低, HMGB1 和 AKT 蛋白表达较对照组升高 (P<0.05), miR-19 抑制剂组 PTEN 蛋白表达较 AS 模型组升高, HMGB1 和 AKT 蛋白表达较对照组降低 (P<0.05)。(表 1)。

表 1 PTEN、HMGB1 和 AKT 的蛋白表达
Table 1 Protein expression of PTEN, HMGB1, and AKT

Groups	PTEN	HMGB1	AKT
Control group	1.87± 0.15	1.02± 0.01	1.04± 0.05
AS model group	1.14± 0.12	1.96± 0.18	1.96± 0.15
The miR-19 inhibitor group	1.94± 0.17	1.01± 0.01	1.03± 0.03
F	10.733	13.419	9.052
P	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 抑制 miR-19 表达可改善小鼠 AS 的发展 (P<0.05), miR-19 抑制剂组主动脉和主动脉窦的斑块面积较 AS 模型组主动脉和主动脉窦的斑块面积较对照组增加 AS 模型组减少(P<0.05)。(表 2)。

表 2 AS 病变分析
Table 2 Analysis of the A S lesions

Groups	Aorta(%)	Aortae sious(mm ²)
Control group	7.25± 2.41	0.12± 0.03
AS model group	39.68± 7.29	0.54± 0.13
The miR-19 inhibitor group	15.32± 4.22	0.27± 0.08
F	24.296	10.533
P	<0.001	<0.001

2.4 RT-PCR 分析 对照组升高 (P<0.05), miR-19 抑制剂组 TNF-α、IL-6、IL-β 和 AS 模型组 TNF-α、IL-β、IL-6 和 CXCL2 的 mRNA 表达较 CXCL2 的 mRNA 表达较 AS 模型降低(P<0.05)。(表 3)。

表 3 RT-PCR 分析促炎细胞因子和趋化因子的表达
Table 3 RT-PCR analysis of the expression of proinflammatory cytokines and chemokines

Group	TNF-α	IL-β	IL-6	CXCL2
control group	1.05± 0.03	1.02± 0.02	1.08± 0.04	1.03± 0.02
AS model group	1.95± 0.13	1.93± 0.11	1.95± 0.14	1.90± 0.15
The miR-19 inhibitor group	1.02± 0.01	1.04± 0.05	1.12± 0.08	1.07± 0.03
F	10.775	9.251	13.425	11.522
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.5 蛋白印迹分析粘附分子的表达 高 (P<0.05), miR-19 抑制剂组 ICAM-1 和 VCAM-1 的蛋白表达较 AS 模型组 ICAM-1 和 VCAM-1 的蛋白表达较对照组升 达较 AS 模型组降低(P<0.05)。(表 4)。

表 4 粘附分子的蛋白表达
Table 4 Protein expression of the adhesion molecules

Groups	VCAM-1	ICAM-1
control group	1.05± 0.12	1.07± 0.03
AS model group	1.94± 0.18	1.98± 0.17
The miR-19 inhibitor group	1.15± 0.11	1.08± 0.14
F	12.993	9.502
P	<0.001	<0.001

3 讨论

作为一种持续的炎症性血管疾病, AS 仍然是全球死亡和残疾的主要原因。近年来, 据报道, 多种 miRNA 在预防内皮炎

症反应和 AS 病变形成中发挥重要的功能作用, 从而提供对 AS 的保护作用^[16-18]。本研究建立了 AS 小鼠模型, 旨在探究 miR-19 对 AS 进展的影响。

HMGB1 被证实是促进 AS 发生发展的重要介质之一, 通常在人主动脉中表达, 包括内皮细胞、VSMC 和巨噬细胞等。已有研究表明, HMGB1 通过激活丝裂原活化蛋白激酶和进一步激活下游蛋白 c-Fos 和 c-Jun 来增强肺动脉平滑肌细胞的增殖^[19,20]。在 AS 中, 可以在血管中层检测到 HMGB1 表达的异常增加^[21]。miRNA 与 mRNA 的 3'-非翻译区(3'-UTR)结合, 引起翻译抑制或 mRNA 降解, 是 miRNA 发挥生物学功能的重要途径之一^[22,23]。本研究结果显示: HMGB1 在高脂肪饮食诱导的 AS 小鼠模型体内表达升高, 并且通过抑制 miR-19 可抑制 HMGB1 的表达, 进一步研究结果显示: HMGB1 的表达会影响 VSMCs 的增殖和迁移, 从而促进 AS 的进展, 表明 HMGB1 水平及 AS 的进展均可受 miR-19 的调控, 与上述研究结果^[19-21]类似。

miR-19a 是 miR-17-92 簇的关键成员, 被发现在多种疾病和癌症类型中过度表达, 其与不同类型肿瘤细胞的增殖和迁移有关, 例如胃癌细胞和肺癌细胞。最近, miR-19a 在过敏性哮喘发病机制中的作用受到了相当多的关注, 通常在哮喘患者的气道浸润 T 细胞中可观察到 miR-19a 的表达水平升高。此外, miR-19a 通过直接靶向 PTEN 调节 TH2 细胞因子的产生并促进炎症反应, 而该 miRNA 显示出通过抑制 SOCS1 和 A20 来调节 2 型先天淋巴细胞稳态和功能, 包括细胞因子表达。另外, miR-19a 还可通过 TGF- β 受体 2 信号传导增强血管壁平滑肌细胞的增殖和炎症反应。根据上述实验研究, 结果表明, 抑制 miR-19 可显著降低 AS 小鼠 AS 的炎症反应和进展, 并进一步证明 miR-19 介导了 HMGB1 的表达, 与本研究前文结果吻合。PTEN 是多种癌症中的关键肿瘤抑制基因, 其表达在多种类型的肿瘤中被下调。PTEN 是 PI3K/AKT 信号通路的重要负调节因子, 通过磷脂酰肌醇三磷酸 3-磷酸酶(PIP3)的去磷酸化发挥作用。PI3K/AKT 信号通路在调节细胞增殖、分化和凋亡中起着至关重要的作用。最近, PTEN 和 PI3K/AKT 信号通路在 AS 的关键作用而引起了广泛关注^[24,25]。PTEN 蛋白表达和活性已被证明在 AS 小鼠模型中呈降低趋势, 而 PI3K 抑制剂或外源性 PTEN 的给药则显著降低了 AS 模型中的炎症^[26,27]。根据以上研究基础, 本研究发现 miR-19 增加了动脉组织中的 AKT 磷酸化, 同时 PTEN 表达降低。本还证明 PTEN 被鉴定为 VSMCs 中 miR-19a 的靶基因, 且 PTEN 在受 AS 影响的 ApoE^{-/-} 小鼠中下调, 这有助于脂质积累和泡沫细胞的形成, 从而加剧 AS 的进展, 这表明 PTEN 的上调可以缓解 AS。特别是在人类 VSMCs 中, TNF- α 诱导的 CD38 表达受 miRN 直接结合 3'UTR 的调节, 并通过调节 PI3K/AKT 信号传导间接调节, 这些相互作用有可能控制 AS 炎症反应^[28]。

AS 不仅是一种脂质驱动的疾病, 而且还是一种血管壁的慢性低度炎症性疾病, 血管炎症和免疫细胞的激活在 AS 的病理生理学中起着至关重要的作用^[29]。众所周知, AS 伴随着炎症细胞因子的释放, 如 IL-1 β 和 IL-6, 这可以由炎症小体触发, ox-LDL 可诱导 ROS 分泌、炎症反应和内皮细胞凋亡, 从而导致 AS。miRNA 的失调对 AS 发展和进展产生影响。最近的另一

项研究表明 miR-126 增强内皮细胞增殖以抑制 AS 进展, 支持这样一种观点 --miR 可能具有作为逆转 AS 的有价值治疗靶点的潜力^[21,30]。本研究结果表明, 抑制 miR-19 表达降低了 AS 小鼠主动脉弓中 ICAM-1 和 VCAM-1 等粘附分子的表达, 抑制了白细胞与内皮细胞的粘附。据报道, miR-19 通过靶向 IL- β 和 c-Fos 在巨噬细胞和树突细胞的炎症中发挥重要作用。在这里, 我们提供的证据表明 miR-19 是血管炎症的关键调节剂, 抑制 miR-19 可显著抑制 AS 小鼠相关炎症因子(TNF- α 、IL- β 、IL- β)的表达。

综上所述, 本研究表明 miR-19 通过靶向调控 PTEN 表达激活 HMGB1/PI3K/Akt 信号通路促进 VSMCs 的异常增殖、迁移和炎症反应, 从而促进 AS 的发生和进展, 因此在促进 AS 的发展中起重要的作用, 这为 miR-19 对 AS 保护作用的分子机制提供新的视角。

参考文献(References)

- [1] Liu Y, Song JW, Lin JY, et al. Roles of MicroRNA-122 in Cardiovascular Fibrosis and Related Diseases [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2020, 20(5): 463-473
- [2] Gao J, Yang S, Wang K, et al. Plasma miR-126 and miR-143 as Potential Novel Biomarkers for Cerebral Atherosclerosis[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(1): 38-43
- [3] 杨芬, 苏冠华, 程翔. 干预低密度脂蛋白胆固醇是动脉粥样硬化性心血管病防治的根本措施 [J]. *中华心血管病杂志*, 2021, 49(06): 638-642
- [4] Wang Z, Zhang J, Zhang S, et al. MiR 30e and miR 92a are related to atherosclerosis by targeting ABCA1 [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(4): 3298-3304
- [5] Qiao XR, Wang L, Liu M, et al. MiR-210-3p attenuates lipid accumulation and inflammation in atherosclerosis by repressing IGF2 [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2020, 84(2): 321-329
- [6] Qi X, Wang H, Xia L, et al. miR-30b-5p releases HMGB1 via UBE2D2/KAT2B/HMGB1 pathway to promote pro-inflammatory polarization and recruitment of macrophages [J]. *Atherosclerosis*, 2021, 324: 38-45
- [7] Shao M, Yu M, Zhao J, et al. miR-21-3p regulates AGE/RAGE signalling and improves diabetic atherosclerosis[J]. *Cell Biochem Funct*, 2020, 38(7): 965-975
- [8] Yang W, Yin R, Zhu X, et al. Mesenchymal stem-cell-derived exosomal miR-145 inhibits atherosclerosis by targeting JAM-A [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 23: 119-131
- [9] Xu Y, Xu Y, Zhu Y, et al. Macrophage miR-34a Is a Key Regulator of Cholesterol Efflux and Atherosclerosis [J]. *Mol Ther*, 2020, 28(1): 202-216
- [10] Tian S, Yuan Y, Li Z, et al. LncRNA UCA1 sponges miR-26a to regulate the migration and proliferation of vascular smooth muscle cells [J]. *Gene*, 2018, 673: 159-166
- [11] Zheng Z, Zhang G, Liang X, et al. LncRNA OIP5-AS1 facilitates ox-LDL-induced endothelial cell injury through the miR-98-5p/HMGB1 axis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(1): 443-455
- [12] Zhang L, Zhou C, Qin Q, et al. LncRNA LEF1-AS1 regulates the migration and proliferation of vascular smooth muscle cells by targeting

- miR-544a/PTEN axis[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9): 14670-14678
- [13] Jiang X, Liu Z, Qi X. LncRNA BANC1 induced vascular smooth muscle cell proliferation by downregulating miR-34c methylation in atherosclerosis[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2021, 51(4): 924-932
- [14] An JH, Chen ZY, Ma QL, et al. Liraglutide improves atherosclerosis by regulating long non-coding RNA RMRP/miR-128-1-5P/Gadd45g axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(5): 2725-2737
- [15] Jiang L, Qiao Y, Wang Z, et al. Inhibition of microRNA-103 attenuates inflammation and endoplasmic reticulum stress in atherosclerosis through disrupting the PTEN-mediated MAPK signaling [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(1): 380-393
- [16] 梁蕴瑜, 谢平畅, 钟言, 等. 外周血 HCY、PLR 及 hs-CRP 预测原发性高血压患者颈动脉粥样硬化的诊断效能 [J]. *现代生物医学进展*, 2021, 21(16): 3110-3114
- [17] 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
- [18] 李贞贞, 唐海涛, 王怡, 等. miR-29c 通过调控 SIRT1 表达介导动脉粥样硬化氧化应激与炎症反应 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(02): 172-176
- [19] Li Y, Tian L, Sun D, et al. Curcumin ameliorates atherosclerosis through upregulation of miR-126 [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 21049-21059
- [20] 谢瑞敏, 李想, 李强强, 等. HMGB1 对大鼠糖尿病足溃疡炎症的影响及机制分析[J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(13): 2430-2434+2429
- [21] Kake S, Kawaguchi H, Nagasato T, et al. Association Between HMGB1 and Thrombogenesis in a Hyperlipaemia-induced Micro-minipig Model of Atherosclerosis [J]. *In Vivo*, 2020, 34(4): 1871-1874
- [22] de Yebenes VG, Briones AM, 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
- [23] Chen LY, Wang X, Qu XL, et al. Activation of the STAT3/microRNA-21 pathway participates in angiotensin II-induced angiogenesis [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 19640-19654
- [24] Chen WJ, Chen YH, Hsu YJ, et al. MicroRNA-132 targeting PTEN contributes to cilostazol-promoted vascular smooth muscle cell differentiation[J]. *Atherosclerosis*, 2018, 274: 1-7
- [25] Linton MF, Moslehi JJ, Babaev VR. Akt Signaling in Macrophage Polarization, Survival, and Atherosclerosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(11): 2703
- [26] Zheng Y, Lv P, Huang J, et al. GYY4137 exhibits anti-atherosclerosis effect in apolipoprotein E(-/-) mice via PI3K/Akt and TLR4 signalling [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2020, 47(7): 1231-1239
- [27] 张宇, 程赛博, 赵丹丹, 等. 定心方上调 ApoE-/- 小鼠 PTEN 表达抑制动脉粥样硬化形成的分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(24): 111-115
- [28] Liu Y, Chen Y, Tan L, et al. Linc00299/miR-490-3p/AURKA axis regulates cell growth and migration in atherosclerosis [J]. *Heart Vessels*, 2019, 34(8): 1370-1380
- [29] Nienhuis P H, Praagh G, Glaudemans A, et al. A Review on the Value of Imaging in Differentiating between Large Vessel Vasculitis and Atherosclerosis[J]. *J Pers Med*, 2021, 11(3): 236
- [30] Li Y, Tian L, Sun D, Yin D. Curcumin ameliorates atherosclerosis through upregulation of miR-126 [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 21049-21059

(上接第 1027 页)

- [24] Song L, Chen X, Mi L, et al. Icarin-induced inhibition of SIRT6/NF-kappaB triggers redox mediated apoptosis and enhances anti-tumor immunity in triple-negative breast cancer [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(11): 4242-4256
- [25] Luo H, Zhang R. Icarin enhances cell survival in lipopolysaccharide-induced synoviocytes by suppressing ferroptosis via the Xc-/GPX4 axis[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(1): 72-74
- [26] Zhou L, Poon CC, Wong KY, et al. Prenylflavonoid, Icarin, Induces Estrogen Response Element-Independent Estrogenic Responses in a Tissue-Selective Manner[J]. *J Endocr Soc*, 2019, 4(2): 25-26
- [27] Huang Z, Wei H, Wang X, et al. Icarin promotes osteogenic differentiation of BMSCs by upregulating BMAL1 expression via BMP signaling[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(3): 1590-1596
- [28] 路宇仁, 陈映冰, 崔元璐, 等. 淫羊藿苷药理作用研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(17): 209-220
- [29] An S, Wang X, Shi H, et al. Apelin protects against ischemia-reperfusion injury in diabetic myocardium via inhibiting apoptosis and oxidative stress through PI3K and p38-MAPK signaling pathways [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(24): 25120-25137
- [30] Jiang R, Liao J, Yang MC, et al. Lidocaine mediates the progression of cerebral ischemia/reperfusion injury in rats via inhibiting the activation of NF-kappaB p65 and p38 MAPK[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(8): 548-549
- [31] Xie D, Zhao J, Guo R, et al. Sevoflurane Pre-conditioning Ameliorates Diabetic Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury, Via Differential Regulation of p38, and ERK[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 23-25
- [32] 金乾衡, 巨积辉, 侯瑞兴, 等. ERK 通路参与雌二醇减轻皮瓣缺血再灌注损伤的机制研究[J]. *中华手外科杂志*, 2018, 34(5): 375-378