

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.02.006

截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白通过上调 miR-126 表达抑制人脐静脉内皮细胞的生物活性 *

宋凡倩¹ 高宁宁¹ 孙莉尧¹ 曹志超² 刘平¹ 葛红岩^{1△}

(1 哈尔滨医科大学第一临床学院眼科医院 黑龙江 哈尔滨 150001; 2 哈尔滨医科大学 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨 miR-126 在截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白抑制 HUVEC 细胞生物学活性中的作用。**方法:**体外培养 VEGF 孵化的人脐静脉内皮细胞(VEGF-HUVEC),分别加入 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 0 和 100 $\mu\text{g/mL}$,作用 24、48、72 h 条件下,分别检测 Caspase-3 活性和 miR-126 表达水平。在 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 0 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 时,分别加入 miR-126 mimic 和 miR-126 inhibitor,作用 VEGF-HUVEC 48 h 后,Real-time PCR 检测 miR-126 表达水平,通过检测 Caspase-3 活性来检测细胞凋亡情况。**结果:**在 VEGF-HUVEC 中,当 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 条件下,Caspase-3 水平升高,miR-126 表达水平升高,在 48 h 下达到最高峰。在 VEGF-HUVEC 中,当 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度分别为 100 $\mu\text{g/mL}$ 条件下,加入 miR-126 mimic 后,miR-126 表达升高,Caspase-3 水平升高;加入 miR-126 inhibitor 后,48 h 后检测 miR-126 表达下降,Caspase-3 水平也下降。**结论:**截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白通过上调 miR-126 表达从而促进细胞凋亡、抑制 HUVEC 生物活性,从而抑制角膜新生血管的发生

关键词:rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白;miR-126;HUVEC;角膜新生血管;Caspase-3

中图分类号:R772.23 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)02-225-04

Biological Activities of HUVECS Is Inhibited by Truncated rhtBIGH3-(RGD)₂ Protein though the Up-regulation of miR-126*

SONG Fan-qian¹, GAO Ning-ning¹, SUN Li-yao¹, CAO Zhi-chao², LIU Ping¹, GE Hong-yan^{1△}

(1 Department of ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Harbin, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Clinical, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect of truncated rhtBIGH3 protein in inhibiting the biological activities of HUVECS.

Methods: Human umbilical vein endothelial cells (HUVECS) were cultured with VEGF in vitro, supplemented with 0 $\mu\text{g/mL}$ and 100 $\mu\text{g/mL}$ rhtBIGH3-(RGD)₂ protein. HUVECS were incubated for 24 h, 48 h, 72 h, and testing Caspase-3 activities and miR-126 expression level. Added miR-126 mimic and miR-126 inhibitor when the rhtBIGH3-(RGD)₂ concentration was 0 $\mu\text{g/mL}$ and 100 $\mu\text{g/mL}$, after 48 h, use Real-time PCR testing the miR-126 expression level, and test the apoptosis though the activity of Caspase-3. **Results:** In the VEGF-HUVEC supplemented with 100 $\mu\text{g/mL}$ rhtBIGH3-(RGD)₂ protein, the expression of both Caspase-3 and miR-126 raised, and reach the peak at 48 h. In VEGF-HUVEC, when the final concentration of rhtBIGH3-(RGD)₂ protein was 100 $\mu\text{g/mL}$, after the addition of mimic miR-126, miR-126 and Caspase-3 expression increased, after adding inhibitor 48 h, miR-126 and Caspase-3 expression decreased. **Conclusions:** The truncated rhtBIGH3-(RGD)₂ protein promote apoptosis and inhibit HUVEC activity by increasing miR-126 expression, thus inhibiting corneal neovascularization.

Key words: RhtBIGH3-(RGD)₂ protein; MiR-126; HUVEC; Corneal neovascularization; Caspase-3

Chinese Library Classification(CLC): R772.23 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2017)02-225-04

前言

角膜为无血管、透明的组织,角膜新生血管会导致视力的严重减退。角膜的无血管状态是一个积极主动的过程,是维持角膜透明的基础,是由血管生长因子和抗血管生长因子之间的精确平衡来维持。血管内皮生长因子(vascular endothelial

growth factor,VEGF)是最重要的调控介质之一,其表达变化导致新生血管的发生^[1]。一些 miRNA 通过调控 VEGF 因子的表达,从而调节角膜新生血管的发生。我们先前的实验结果表明^[2]在 A₂O₃ 作用下的 HUVEC 细胞随着 miR-126 表达上调,VEGF 的表达降低,从而抑制新生血管的形成。

BIGH3 蛋白可抑制肿瘤新生血管的发生^[3-4],尤其是蛋白 C

* 基金项目:黑龙江省教育厅面上项目(12541516);国家自然科学基金青年基金项目(81300728)

作者简介:宋凡倩(1991-),女,硕士研究生,主要研究方向:角膜病、白内障的发病及机制,E-mail: 461492513@qq.com

△通讯作者:葛红岩(1979-),女,研究生导师,副主任医师,主要研究方向:角膜病、白内障的发病机制及治疗,

电话:13936268986, E-mail: ge.hongyan@hotmail.com

(收稿日期:2016-10-14 接受日期:2016-10-30)

末端的第四个 FAS1 结构域,具有强大抗新生血管功能^[5-7],可抑制肿瘤的发生。我们先前的实验表明^[9],含双 RGD 结构的截短型 BIGH3 蛋白(rhtBIGH3-(RGD)₂)通过 avb3 整合素作用抑制 HUVECs 细胞的黏附和迁移,促进血管内皮细胞凋亡,抑制新生血管管道的形成,从而抑制体内角膜新生血管的发生。但 miR-126 是否参与截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白抑制人脐静脉内皮细胞生物活性尚不清楚。通过体外培养 VEGF-HUVEC 细胞,VEGF 诱导后的 HUVEC 细胞,细胞处于易发生新生血管化的倾向,以利于作为体外细胞模型来探讨其导致新生血管的活性。本实验在前期实验基础上,正反两方向检测 miR-126 表达水平,探讨其在抑制 HUVEC 生物活性及抑制角膜新生血管中的作用,为阐明截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白抑制角膜新生血管发生机制提供新的理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

人脐静脉内皮细胞(HUVEC)为哈尔滨医科大学生物化学与分子生物学实验室保存,胎牛血清(美国 Gibco 公司),M199 培养基(美国 Gibco 公司)(宝泰克生物科技公司),青霉素(美国 Sigma 公司),链霉素(美国 Sigma 公司),VEGF(R.D,Minneapolis,MN),截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白(本实验室改良及保存),LipofectamineTM2000 转染试剂盒(美国 Invitrogen),TRIzol 试剂(Invitrogen Carlsbad,CA),DNA Marker DL-2000(日本 Takara 公司),Reverse transcriptase Kit(美国 ABI 公司),引物合成(上海生工公司),real-time PCR 检测试剂盒,miR-126 mimic 和 miR-126 inhibitor(上海吉玛公司,中国上海)caspase-3(R.D,Minneapolis,MN),细胞培养板(MA,USA)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人类脐静脉内皮细胞用 M199 培养基和 10% 胎牛血清培养,培养基中含有 100 U/mL 青链霉素,在 37℃,5%CO₂ 培养箱中培养。

1.2.2 设计合成寡核苷酸序列 成熟的 miR-126 序列来自 miRBase 网站,根据基因序列互补原则设计成熟的 miR-126 的 mimic 和 inhibitor 序列,在本实验中应用^[9]的 Has-miR-126 mimic sense 序列是 5'-UCG UAC CGU GAG UAA UAA UGC G-3'; antisense 序列是 5'-CAU UAU UAC UCA CGG UAC GAU U-3'; 阴性对照组 sense 序列 5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT-3';antisense,5'-ACG UGA CAC GUU CGG AGA ATT-3'; Hsa-siR-126 inhibitor:5'-CGC AUU AUU ACU CAC GGU ACG A-3';and micro RNA inhibitro N.C:5'-CAG UAC UUU UGU GUA GUA CAA-3'。

1.2.3 截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白处理 VEGF-HUVEC 细胞和 Caspase-3 活性检测 6 孔板的每孔用 2 mL 含有 10%胎牛血清的 M199 培养基培养 HUVEC(细胞密度为 1×10⁵ 个细胞),加入 VEGF,终浓度为 30 ng/mL,培养在 37℃,5%CO₂ 条件下。在加入截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 0 和 100 μg/mL 浓度时,分别检测作用 24、48、72 h 后,Caspase-3 活性检测;在加入截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 0 和 100 μg/mL 浓度条件下,分别转染 miR-126 mimic 和 miR-126 inhibitor,转染后 48 h,检测 Caspase-3 活性,检测方法参照试剂

盒说明书。

1.2.4 siRNA 转染 在指数生长期的内皮细胞接种于 6 孔板中,密度为 1×10⁵ 个细胞。细胞转染 miR-126 mimic 或 miR-126 inhibitor 寡核苷酸使用高效专业的 siRNA 转染试剂在体积/质量比为 5:1 的比例进行转染,按试剂盒说明,在无血清 M199 培养基转染 6 h 后,细胞在含 10%胎牛血清的培养基中培养。转染都按照制造商的说明进行,对 has-miR-126 mimic,转染阴性对照,has-miR-126 inhibitor 和 has-miR-126 inhibitor N.C 每组使用 1μg 的 DNA 进行转染。

1.2.5 RNA 的提取、cDNA 逆转录和 Real-time PCR 分析用先前方法处理过的人脐静脉内皮细胞的 miR-126 的 mRNA 表达水平,总 RNA 提取试剂用 Trizol,方法参照试剂使用说明。从每个样本中取出 1 μg 的总 RNA 进行逆转录合成完全互补链的 DNA,用 MicroRNA126 和 U6 的颈环引物聚合酶链式反应试剂盒,进行 PCR 反应获取每个样本的 cDNA。miR-126 的表达水平用 miRNA SYBR-Green 实时定量 PCR 试剂盒,选 U6 作为内参。PCR 反应条件为:94℃ 预变 3 分钟。反应继续进行 45 个循环,变性 30 s,94℃,在 60℃ 下退火 30 s,72℃ 合成 35 秒。miR-126 表达水平的倍数改变用 ΔCT 和 2^{-ΔΔCT} 方法计算。

1.3 统计学分析

所有的实验重复三次。数据表示为均数±标准差,并使用 ANOVA 或 t-检验比较分析。统计学显著性差异为 P<0.05。

2 结果

2.1 截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白上调 VEGF 诱导的 HUVEC 细胞 miR-126 的表达

前期实验已经证明^[9]100 μg/mL 截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白对 HUVEC 细胞生物活性的抑制最强。为了进一步验证 miR-126 是否参与截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白抑制 HUVEC 生物活性的过程,我们培养 HUVEC 细胞,加入 VEGF,使其终浓度为 30 ng/mL。加入 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白,终浓度为 0 和 100 μg/mL,作用 24、48、72 h 后,检测 miR-126 的表达水平。结果显示(如图 1):在 VEGF 处理后的 HUVEC,当 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 0 μg/mL 条件下,观察时间内 miR-126 表达水平变化不明显,差异无统计学意义(P>0.05);当 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 100 μg/mL 条件下,24 h 时,miR-126 表达水平就有升高,在 48 h 下达到最高峰,观察时间内,差异具有统计学意义(*,P<0.05;**P<0.01)。

2.2 截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白对 VEGF 诱导的 HUVEC 细胞 Caspase-3 活性的影响

为了进一步验证截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白对 HUVEC 细胞凋亡的影响是否与 Caspase-3 活性有关,我们分别在 VEGF 处理 24、48、72 h 时分别加入 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白,终浓度为 0 和 100 μg/mL 条件下,结果显示(如图 2):在 VEGF 处理的 HUVECS,当 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 0 μg/mL 时,在观察时间内,Caspase-3 活性略有升高,差异无统计学意义(P>0.05);当 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 100 μg/mL 时,24 h 时,Caspase-3 活性升高,在 48 h 下达到最高峰,观察时间内,差异具有统计学意义(*P<0.05;**P<0.01)^[9]。

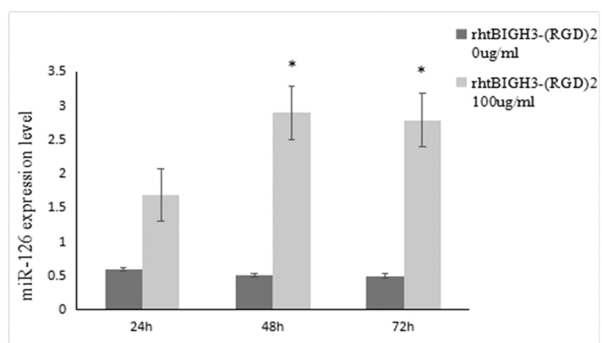


图1 截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白上调 VEGF 诱导的 HUVEC 细胞 miR-126 的表达

Fig.1 Truncated type rhtBIGH3-(RGD)₂ protein raised the expression of miR-126 in HUVEC induced by VEGF

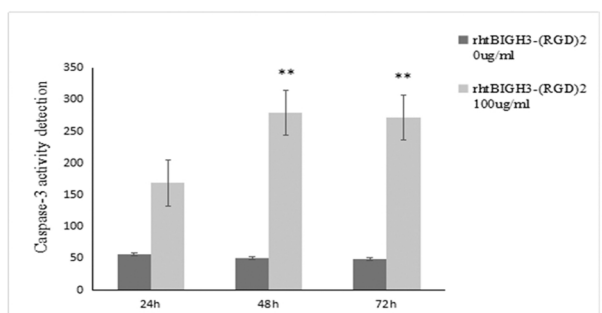


图2 截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白对 VEGF 诱导的 HUVEC 细胞 Caspase-3 活性的影响

Fig.2 Effect of Truncated type rhtBIGH3-(RGD)₂ on the activity of Caspase-3 in HUVEC induced by VEGF

2.3 截短型 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白对 HUVEC 细胞 miR-126 表达的影响

在 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 0 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 时,分别向 HUVEC 细胞中加入 miR-126 mimic 和 miR-126 inhibitor, 48 h 后分别检测 miR-126 的表达和 Caspase-3 活性。当 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度分别为 0, 加入 miR-126 mimic 后, miR-126 表达升高, Caspase-3 活性增强, 加入 miR-126 inhibitor 后, miR-126 表达下降, Caspase-3 活性减弱, 差异有统计学意义(*, $P<0.05$; **, $P<0.01$), 当加入 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度 100 $\mu\text{g/mL}$ 条件下, 加入 miR-126 mimic 后, miR-126 表达升高显著, Caspase-3 活性增强, 加入 miR-126 inhibitor 后, miR-126 表达下降, Caspase-3 活性减弱, 差异具有统计学意义(如图 3, 图 4)(*, $P<0.05$; **, $P<0.01$)。

3 讨论

角膜病是世界三大致盲眼病之一, 中国公民因单眼和双眼角膜病致盲的盲人约四百万, 占眼科致盲眼病的第 2 位^[9]。新生血管是大多数角膜疾病过程中的重要病理改变。新生血管可破坏角膜免疫赦免、继发性角膜水肿、混浊从而影响视力甚至致盲。角膜移植是治疗角膜病致盲的主要方法, 但血管化植床的角膜移植排斥率高达 49%^[10]。目前研究发现, 在 CNV 形成过程中, VEGF 是公认的新生血管形成过程中最重要的细胞因子, Chang 等^[11]实验证明 VEGF 通过与血管内皮细胞上的特异性

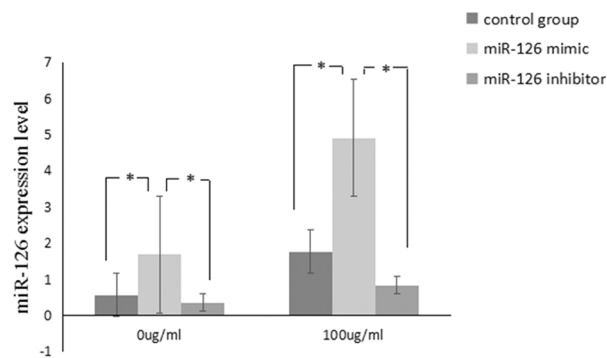


图3 miR-126 mimic 和 miR-126 inhibitor 调节 miR-126 表达
Fig.3 miR-126 mimic and miR-126 inhibitor regulated the expression of miR-126

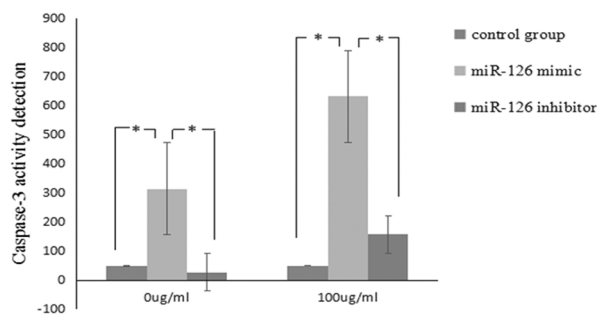


图4 miR-126 mimic 和 miR-126 inhibitor 调节 Caspase-3 活性
Fig.4 miR-126 mimic and inhibitor regulated the activity of Caspase-3

受体结合, 对内皮细胞产生强烈的促分化和趋化作用, 从而促进血管内皮细胞增殖、迁徙、以及成管^[10]。因此, 体外研究一直应用一直人脐静脉内皮细胞模型, 来探讨抑制角膜新生血管的发生。

BIGH3 基因亦称为 beta-igh3 基因 (b-igh3)、TGFB1 基因, 其产物是一个相对分子质量 68KD 的蛋白质, 称为 p68 b-igh3, 是细胞外的一种基质蛋白, 包含一个氨基端的分泌前导信号序列和一个位于密码子 642~644 间的羧基端 RGD 序列, 该序列为精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸结构^[10,12]。RGD 序列作为整合素和其配体相互作用的识别位点, 成为细胞外基质与细胞整合素间结合的强效竞争性拮抗剂, 进而通过封闭整合素的信号转导通路而起到抑制新生血管的作用^[10,13]。RGD 肽具有聚合效应, 重复 RGD 序列的 poly(RGD)要比单肽作用强^[10,14,15]。我们前期^[8]通过定点诱变 PCR 法获得了含有 RGDGRD 膜序的 BIGH3 基因, 通过 PCR 法, 克隆其自第四个 FAS1 结构开始的 C 末端, 构建其原核表达载体, 表达纯化其有活性的含 RGDGRD 结构域 BIGH3 的 C 末端段蛋白 - rhtBIGH3-(RGD)₂, 并且改良 BIGH3 蛋白制成的滴眼液对兔角膜新生血管的抑制作用明显强于野生型 BIGH3 蛋白^[10,16]。

miR-126 是一个很短的非编码 RNA 分子, 是迄今为止发现的唯一的内皮细胞特异性表达的 miRNA, 它在血管生成、肿瘤生长和侵袭、血管炎症过程中发挥重要作用^[17]。

miR-126 基因位于 EGFL-7 (epidermal growth factor like domain protein, Multiple 7) 的第 7 和第 8 外显子之间的内含子区域, 因而其表达与 EGFL-7 具有一致性^[17]。研究表明, 在体内维持血管内皮细胞和血管完整性方面, miR-126 发挥着重要

的积极的调节作用^[18,20]。我们前期研究结果显示 A₂O₃ 通过上调 miR-126 表达来抑制 VEGF 蛋白表达,从而抑制 HUVEC 的生物活性。

在本次实验中,我们发现在 VEGF-HUVEC 中,当 rht-BIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 100 μg/mL 条件下,Caspase-3 活性和 miR-126 表达升高,在 48 h 时达到最高峰。在 VEGF 处理的 HUVEC 中,加入 miR-126 mimic 后,miR-126 表达升高,Caspase-3 水平也升高;而加入 miR-126 inhibitor 后,miR-126 表达下降,Caspase-3 水平也下降,表明 miR-126 参与了 VEGF 诱导的新生血管,与调节细胞凋亡有关。随后,我们从正反两方面继续研究,当 rhtBIGH3-(RGD)₂ 蛋白终浓度为 100 μg/mL 条件下,当在 VEGF-HUVEC 中,加入 miR-126 mimic 后,miR-126 表达升高显著,Caspase-3 水平也升高;而加入 miR-126 inhibitor 后,miR-126 表达下降显著,Caspase-3 水平也下降。此结果说明 miR-126 确实参与由 rhtBIGH3- (RGD)₂ 蛋白抑制 VEGF-HUVEC 新生血管的发生,是通过调节细胞促凋亡因子 Caspase-3 来完成的。回顾我们前期研究结果^[8],截短型 rht-BIGH3-(RGD)₂ 蛋白通过上调 miR-126 表达从而导致 HUVEC 细胞 Caspase-3 水平升高,导致细胞凋亡,抑制 HUVECS 生物活性,从而抑制角膜新生血管的发生。

角膜新生血管的发生是一个多步骤、多基因协同完成的复杂过程。多种基因共同控制血管内皮细胞的增生、迁移和分化,所以研究各个基因的调控机制及各机制之间的关系变得越来越重要。未来的研究方向将致力于阐明血管性 microRNA 家族成员在活体的应用,将对防治角膜新生血管、提高角膜移植手术的成功率,防盲、治盲都具有极其重要的现实意义^[17]。

参考文献(References)

- [1] CA R Melietp. Angiogenesis in health and disease [J]. Nat Med, 2003, 9(6): 1873-1878
- [2] Hongyan Ge, Zhong-jing Han, Pei Tian, et al. VEGFA Expression is inhibited by arsenic trioxide in HUVECs through the Upregulation of Ets-2 and miRNA-126[J]. Plos One, 2015, 10(8): 1-18
- [3] Bae,JS, Lee SH, Kim JE, et al. Betaig-H3 supports keratocyte adhesion, migration, and proliferation through alpha3beta1 integrin[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2002, 294(5): 940-948
- [4] Skonier J, Neubauer M, Madisen L, et al. cDNA cloning and sequence analysis of beta ig- h3, a novel gene induced in a human adenocarcinoma cell line after treatment with transforming growth factor-beta[J]. DNA Cell Biol, 1992, 11(7): 511-522
- [5] Ge Hong-yan, Cao Wen-ping, Leng Fei, et al. Modified BIGH3 with an RGDRGD Motif Promotes Human Corneal Epithelial Cell Adhesion and Migration In Vitro [J]. Current Eye Research, 2008, 33(3): 215-223
- [6] Kim JE, Kim SJ, Lee BH, et al. Identification of motifs for cell adhesion within the repeated domains of transforming growth factor-beta-induced gene, betaig-h3[J]. J Biol Chem, 2000, 275(40): 30907-30915
- [7] Hye-Nam Son, Ju-Ock Nam, Soyoun Kim, et al. Multiple FAS1 domains and the RGD motif of TGFBI act cooperatively to bind αvβ3 integrin, leading to anti-angiogenic and anti-tumor effects [J]. BBA, 2013, 1833(10): 2378-2388
- [8] Ge Hong-yan, Tian Pei, Guan Li-nan, et al. A C-terminal fragment BIGH3 protein with an RGDRGD motif inhibits corneal neovascularization in vitro and in vivo [J]. Experimental Eye Research, 2013, 112(5): 10-20
- [9] Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor[J]. J Mol Med, 1999, 77(7): 527-543
- [10] 杨章晖,葛红岩,刘平.抑制角膜新生血管的研究[J].国际眼科杂志, 2015, 15(12): 2071-2075
- Yang Zhang-hui, Ge Hong-yan, Liu Ping. The Research of the Inhibition in the Corneal Neovascularization[J]. International Journal of Ophthalmology, 2015, 15(12): 2071-2075
- [11] Chang JH, Gabison EE, Kato T, et al. Corneal neovascularization[J]. Curr Opin Ophthal, 2001, 12(4): 242-249
- [12] Poulson R, Forbes SJ, Hodivala-Dilke K, et al. Bone marrow contributes to renal parenchymal turnover and regeneration [J]. J Pathol, 2001, 195(2): 229-235
- [13] Hersel U, Dahmen C, Kessler H. RGD modified polymers: biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond[J]. Biomaterials, 2003, 24(24): 4385-4415
- [14] Hahnfeldt P, Panigrahy D, Folkman J, et al. Tumor development under angiogenic signaling: a dynamical theory of tumor growth, treatment response, and postvascular dormancy [J]. Cancer Res, 1999, 59(19): 4770-4775
- [15] Liu Ping, Li Hua, Zhang Hong, et al. Inhibition Of corneal neovascularization by liposome mediated plasmid encoding endostatin with RGD sequence[J]. Chin Ophthal Res, 2010, 28(1): 19-22
- [16] Ge Hong-yan, Xiao Nan, Yin Xiu-li, et al. Comparison of the antiangiogenic activity of modified RGDRGD-endostatin to endostatin delivered by gene transfer in vivo rabbit neovascularization model[J]. Molecular Vision, 2011, 17(208-09): 1918-1928
- [17] 程帅帅,张红.miR126 对角膜新生血管的影响[J].东南大学学报(医学版), 2015, 34(5): 828-831
- Cheng Shuai-shuai, Zhang Hong. Effects of the Corneal Neovascularization by miR126 [J]. J Southeast Univ (Med Sci Ed), 2015, 34(5): 828-831
- [18] Wang S, Aurora AB, Johnson BA, et al. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis[J]. Dev Cell, 2008, 15(2): 261-271
- [19] Fish JE, Santoro MM, Morton SU, et al. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity[J]. Dev Cell, 2008, 15(2): 272-284
- [20] Kuhnert F, Mancuso MR, Hampton J, et al. Attribution of vascular phenotypes of the murine Egf7 locus to the microRNA miR-126[J]. Development, 2008, 135(24): 3989-3993