研究报告

葛根素上调 miR-155-3p 降低内脏脂肪素诱导人脐静脉内皮细胞损伤

周凤华[1],黄志勇[2],张蕾[1],孙学刚[1],贾钰华[1]

(1. 南方医科大学中医药学院,广州 510515;
2. 南方医科大学第三附属医院眼耳鼻咽喉科,广州 510630)

【摘要】 目的 研究葛根素对内脏脂肪素(visfatin)诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC)炎症因子及 miR-155-3p 表达的影响。**方法** 采用 visfatin 干预 HUVEC 建立细胞损伤模型,不同浓度(0.5,1.0,2.0 g/L 葛根素分别干预细胞 24 h,采用 MTT 法检测细胞增殖情况,流式细胞术检测细胞凋亡情况,ELISA 法检测细胞内 CRP 和 NF-κB 的水平,RT-PCR 法检测细胞内 miR-155-3p 水平,western blotting 测髓样分化因子(myeloid differentiation factor 88, MyD88)蛋白水平。**结果** Visfatin 能显著抑制 HUVEC 增殖,并且诱导其凋亡,与对照组相比差异有显著性($P < 0.01$),葛根素中、高浓度组可明显抑制 visfatin 对 HUVEC 细胞损伤作用;此外,葛根素中、高浓度组能显著降低细胞上清 CRP 和 NF-κB 水平,增加细胞内 miR-155-3p 基因表达,与模型组相比差异有显著性($P < 0.01$)。增加 miR-155-3p 水平可显著降低下游 MyD88 蛋白表达,抑制 HUVEC 分泌 CRP 与 NF-κB,与模型组相比差异有显著性($P < 0.05$)。**结论** 葛根素能显著减轻 visfatin 诱导 HUVEC 炎症损伤效应,其机制可能与葛根素上调 miR-155-3p 水平抑制靶基因 MyD88 蛋白表达,从而降低细胞内 CRP 与 NF-κB 水平有关。

【关键词】 人脐静脉内皮细胞;内脏脂肪素;葛根素;miR-155-3p
【中图分类号】Q95-33 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1005-4847(2016)05-0465-05
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2016.05.005

Puerarin alleviates HUVEC injury induced by visfatin through up-regulating miR-155-3p

ZHOU Feng-hua[1], HUANG Zhi-yong[2], ZHANG Lei[1], SUN Xue-gang[1], JIA Yu-hua[1]

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;
2. ENT Department, the Third Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510630)

【Abstract】 Object To study the effect of puerarin on the expression of inflammatory factors and miR-155-3p in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) induced by visfatin. **Methods** The HUVEC cell injury model was established with visfatin. Cell proliferation was measured by MTT assay. Cell apoptosis was detected by flow cytometry. The level of CRP and NF-κB was detected by ELISA, and the expression of miR-155-3p was detected by RT-PCR. The expression of myeloid differentiation factor 88 (MyD88) was identified by western blotting. **Results** Visfatin induced cell proliferation and inhibited apoptosis in HUVEC, meanwhile the expressions of both CRP and NF-κB were significantly increased, compared with that of the control group ($P < 0.01$). Puerarin at moderate and high concentrations obviously reduced the HUVEC injury induced by visfatin, mainly through down-regulating the expression of CRP and NF-κB, as well as up-regulating the level of miR-155-3p in the HUVEC. MiR-155-3p mimic markedly decreased the level of MyD88, CRP and NF-κB in the HUVEC induced by visfatin ($P < 0.05$). **Conclusions** Pueprarin obviously alleviates HUVEC injury induced

[基金项目]国家自然科学基金(No. 81373574、81403339);广东省自然科学基金博士启动项目(No. 2014A030310150);广东省中医药管理局科研项目(No. 20141186);广东省教育部产学研结合项目(2012B091100157);南方医科大学科研启动计划(No. PY2013N014)。
[通讯作者]周凤华(1986-),女,讲师,博士学位,研究方向为缺血性心血管疾病的中医药防治。E-mail: wendyzhou515@126.com

by visfatin, probably related to down-regulating the level of MyD88, CRP, NF-κB, and up-regulating the expression of miR-155-3p in HUVEC.

【Key words】 Human umbilical vein endothelial cells, UVEC; Visfatin; Puerarin; miR-155-3p

Corresponding author: ZHOU Feng-hua. E-mail: wendyzhou515@126.com

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是众多心脑血管疾病的共同病理基础,已成为严重危害人类健康的头号杀手[1],AS 的发病机制一直是心血管疾病研究的热点。内皮是所有心血管危险因素的共同靶点,血管内皮功能损伤是 AS 发生的始动环节,在可见的 AS 斑块出现前很长时间即已存在[2]。研究表明,炎症、氧化应激、血流剪切力的变化等均可直接损伤内皮细胞,导致其通透性增高,血小板和单核细胞等黏附增加,从而诱导 AS 的发生[3,4]。因此,维持血管内皮功能的正常是 AS 防治的根本。

我们前期研究发现,内脏脂肪素(visfatin)在 $ApoE^{-/-}$ 小鼠血清及斑块中表达显著增高[5],可诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC)损伤,可能与上调 IL-6、TNF-α 水平,激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路有关[6,7],提示 visfatin 在 AS 的起始环节即发挥作用。研究表明,miR-155 可直接靶向一氧化氮合酶,从而在血管内皮细胞中发挥重要作用[8],但 visfatin 是否能通过调控 miR-155 水平影响内皮细胞功能尚未见报道。本研究在前期工作基础上主要探讨葛根素对 visfatin 诱导 HUVEC 细胞的干预作用机制,以期进一步揭示 visfatin 诱导内皮损伤的分子机制及中药的防治功效。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞及药物

第二代 HUVEC 细胞(批号 ZQ00446,上海中乔新舟科技公司);葛根素(批号 110752 - 201313,广州市药检所)母液浓度为 0.5 g/mL 先用适量二甲基亚砜(DMSO)溶解后,再用 PBS 稀释。重组人 visfatin(批号 YJ130 - 09,美国 Peprotech 公司)用 PBS 溶解稀释成 100 mg/L 的母液,-20℃保存。

1.1.2 仪器

TSl00-F 型 Eclipse Ti 荧光倒置显微镜(日本 Nikon 公司),ECHO-PLUS 型全自动生化仪(意大利爱康公司),MK3 型酶标定量测定仪、反转录仪及荧光定量 PCR 系统(德国 Thermo 公司),流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司),Image Station 2000MM 多功能成像系统(美国 Kodak 公司)。

1.1.3 试剂

DMEM/F12 培养基、胎牛血清(批号 03/14、F7676,美国 Gibco 公司),MTT 干粉(批号 200-664-3,美国 Sigma 公司),AnnexinV-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(批号 40302ES20,南京凯基生物公司),miR-155-3p mimic(批号 miR10004658-1-2,广州锐博生物公司),CRP 与 NF-κB ELISA 试剂盒(批号 ab99995, ab176647,美国 Abcam 公司),RNAiso Plus、Prime Script™ RT Reagent Kit、SYBR Premix Ex Taq™(批号 9109、RR037A、RR420A,日本 Takara 公司),兔抗髓样分化因子、兔抗 GAPDH(批号 3699、5174S,美国 CST 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞分组

对数生长期细胞分别以 0,25,50,100,200 μg/L visfatin 干预 24 h,再取 100 μg/L visfatin 分别干预 0,3,6,12,24 h,检测细胞增殖及凋亡情况;药物干预分组:对照组,模型组(visfatin 100 μg/L 干预 24 h),葛根素低、中、高浓度组,葛根素干预浓度依次为:0.5,1.0,2.0 g/L,共同孵育 24 h。

1.2.2 MTT 测细胞增殖

HUVEC 以 5×10^4/孔密度接种于 96 孔板,处理后加入 MTT 溶液(浓度为 5g/L)20 μL/孔,于 37℃ 孵育 4 h。吸去孔里的培养基,加入 DMSO 溶液 150 μL/孔,震荡 10 min 充分溶解结晶,酶标仪测 A 值(波长 490 nm)。

1.2.3 流式细胞术测细胞凋亡

细胞干预后离心收集,用 PBS 洗 3 次,每次 5 min,加入 100 μL 1 × binding buffer 重悬细胞,再加入 5 μL annexin V-FITC 和 5 μL PI 染色液,轻轻混匀,室温避光反应 10 min。然后加入 400 μL 1 × binding buffer,混匀,样品立即上流式细胞仪检测(激发波长 488 nm,发射波长 530 nm),计算细胞凋亡指数。

1.2.4 ELISA 测 CRP 与 NF-κB 水平

将细胞制成悬液按照 1×10^5/孔的浓度接种于 96 孔培养板,分为空白对照组,模型组,葛根素低、中、高浓度组,每组设 5 个复孔,各组分别培养 24 h

后,留取细胞上清液,离心 10 min 后,依次加入稀释好的标准品与待测样品各 50 μL 于反应孔,立即加入 50 μL 生物素标记抗体。轻轻混匀,37℃孵育 1 h。甩去板内液体,洗涤 3 次,每孔再加入 80 μL 亲和链酶素-HRP,混匀,并于 37℃孵育 0.5 h,再洗涤 3 次。每孔加入底物 A、B 各 50 μL,轻轻混匀,37℃避光孵育 10 min。迅速加入 50 μL 终止液,立即在 450 nm 波长处测定各孔的 *A* 值并计算 CRP 与 NF-κB 的浓度。

1.2.5 RT-PCR 测 miR-155-3p 水平

提取细胞总 RNA,琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 质量及纯度,紫外分光法测定吸光度(*A*)260/280。cDNA 合成:总反应体系 20 μL 组成为 14 μL 模板 RNA,2 μL enzyme mix,5 × RT 缓冲液 4 μL,42℃反应 60 min,95℃反应 5 min,将合成好的 cDNA 保存于 -20℃备用。定量 PCR:总反应体系 20 μL 由 2 × PCR 反应混合物 10 μL、cDNA 1 μL、miR-155-3p 引物 0.5 μL、20 × SYBR 1 μL 与 H_2O 7.5 μL 组成。95℃反应 10 min,再转向(95℃ 10 s、60℃ 1 min)共 40 个循环。miR-155-3p 与内参 U6 的相对表达量用 $2^{-\triangle\triangle CT}$表示,实验重复 3 次。

1.2.6 Western blotting 测 MyD88 蛋白

细胞分组处理后提取总蛋白,BCA 法进行蛋白定量,然后进行 SDS-PAGE 电泳,蛋白上样量为每孔 35 μg,积层胶和分离胶浓度分别为 5% 和 12%,电泳全程 1.5 h,再进行半干转膜 70 min,5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h,一抗 4℃孵育过夜(1∶2000),二抗 37℃孵育 2 h(1∶5000),ECL 法显色成像,Image Tool 3.0 分析图像光密度值(IA),GAPDH 为内参照。

1.2.7 统计分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析,计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。若符合正态分布采用 one-way ANOVA 分析;若不符合正态分布则采用秩和检验。$P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 Visfatin 致 HUVEC 损伤

25、50 μg/L visfatin 对 HUVEC 增殖未见明显抑制作用,而 100、200 μg/L 能显著抑制 HUVEC 增殖($P < 0.01$,见表 1);100 μg/L visfatin 干预细胞 3、6 h 对增殖无明显影响,干预 12、24 h 可见增殖抑制明显,尤其是 24 h 作用最显著($P < 0.01$,见表 2)。100 μg/L visfatin 干预 24 h 时,细胞凋亡最显著($P < 0.01$)。

表 1 不同浓度 visfatin 对 HUVEC 增殖及凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab. 1 Effect of visfatin at different concentrations on HUVEC proliferation and apoptosis

组别 Groups	浓度 Concentration (μg/L)	吸光度 Proliferation/*A*	凋亡指数 Apoptosis index(AI)
对照组 Control	—	0.92 ± 0.28	4.37 ± 1.25
Visfatin	25	0.82 ± 0.31	6.44 ± 2.63
	50	0.69 ± 0.33 *	8.38 ± 1.92 *
	100	0.51 ± 0.36 **	13.86 ± 3.17 **
	200	0.42 ± 0.27 **	16.55 ± 3.44 **

注:与对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$(表 2 同)。

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. (Tab. 2 is the same).

表 2 Visfatin 干预不同时间对 HUVEC 增殖及凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab. 2 Effect of visfatin at different incubation times on the HUVEC proliferation and apoptosis

组别 Groups	时间 Time/h	吸光度 Proliferation/*A*	凋亡指数 Apoptosis index(AI)
对照组 Control	—	1.03 ± 0.39	4.15 ± 1.53
Visfatin	3	0.89 ± 0.26	5.36 ± 1.98
	6	0.77 ± 0.33	7.21 ± 1.28
	12	0.58 ± 0.31 **	10.44 ± 2.37 **
	24	0.52 ± 0.24 **	13.92 ± 3.82 **

2.2 葛根素对 HUVEC 内 CRP、NF-κB 及 miR-155-3p 水平的影响

与模型组相比,葛根素中、高浓度组细胞增殖抑制明显减轻($P < 0.01$),凋亡指数明显降低($P < 0.01$,见表 3)。模型组细胞上清中 CRP 与 NF-κB 明显升高,而葛根素中、高浓度均能显著降低 CRP 与 NF-κB 水平($P < 0.01$)。模型组 miR-155-3p 水平较对照组明显降低,葛根素中浓度干预后 miR-155-3p 升高,差异有显著性($P < 0.05$),高浓度组差异有显著性($P < 0.01$)。与模型组相比,葛根素低浓度组 HUVEC 增殖与凋亡,以及 CRP、NF-κB、miR-155-3p 水平,差异无显著性($P > 0.05$)。

2.3 激活 miR-155-3p 对 HUVEC 的影响

与模型组相比,葛根素组与 miR-155 mimic 组细胞增殖抑制显著减轻($P < 0.01$),凋亡指数降低($P < 0.01$),组间未见差异($P > 0.05$,见表 4)。与空白组相比,模型组 CRP、NF-κB 与 MyD88 蛋白水平均显著增加,差异均有显著性($P < 0.01$)。miR-155-3p mimic 可显著降低细胞内 CRP、NF-κB 与 MyD88 蛋白表达,与模型组相比差异有显著性($P < 0.05$,图 1)。

表 3 葛根素对 HUVEC 细胞增殖、凋亡及 CRP、NF-κB、miR-155 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab. 3 Effect of puerarin at different concentrations on HUVEC proliferation and apoptosis, CRP, NF-κB and miR-155 level

组别 Groups	吸光度 Proliferation /A	凋亡指数 Apoptosis index(AI)	C 反应蛋白 CRP(ng/L)	核因子-κB NF-κB(ng/L)	miR-155
对照组 Control	0.98 ±0.23	5.28 ±2.15	65.47 ±15.62	82.38 ±9.53	3.74 ±0.68
模型组 Model	0.50 ±0.36	15.06 ±3.06	235.83 ±29.33	332.61 ±21.28	0.95 ±0.38
Puerarin 低 low	0.69 ±0.33	13.28 ±2.90	147.92 ±34.17	240.92 ±14.36	1.62 ±0.47*
Puerarin 中 middle	0.82 ±0.19**	8.31 ±3.29**	105.47 ±22.52**	163.02 ±15.64**	2.81 ±0.54**
Puerarin 高 high	0.89 ±0.22**	7.66 ±2.14**	86.32 ±19.24**	145.42 ±19.02**	3.29 ±0.77**

注:与模型组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$。

Note. Compared with the model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 4 激活 miR-155 对 HUVEC 的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab. 4 Effect of miR-155 activation on the HUVEC activities

组别 Groups	吸光度 Proliferation /A	凋亡指数 Apoptosis index(AI)	C 反应蛋白 CRP(ng/L)	核因子-κB NF-κB(ng/L)	miR-155
对照组 Control	0.95 ±0.27**	5.87 ±1.26**	73.22 ±11.54**	67.51 ±12.85	4.25 ±0.71
模型组 Model	0.43 ±0.21	17.62 ±4.39	259.76 ±24.82	317.54 ±15.01	1.33 ±0.54
葛根素组 Puerarin[a]	0.83 ±0.33**	9.08 ±3.17**	98.45 ±20.74**	152.39 ±19.44**	3.41 ±0.92**
miR-155[b]	0.77 ±0.31**	11.64 ±2.07**	132.56 ±22.52**	193.28 ±13.65*	8.19 ±1.48**

注:[a] 葛根素浓度为 1.0 g/L,[b] miRNA-155-3p mimic 浓度为 50 nmol/L,均干预 24 h,与模型组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$。

Note. Puerarin[a]: 1.0 g/L for 24 h, miR-155; [b] (miRNA-155-3p mimic): 50 nM for 24 h. Compared with the model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

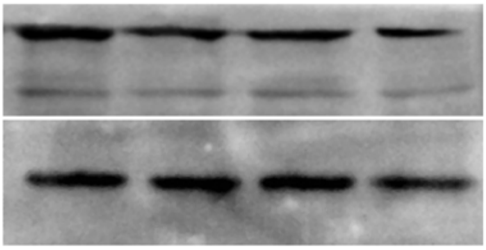

图 1 各组 MyD88 蛋白水平

Fig. 1 MyD88 protein levels in different groups

3 讨论

内皮细胞是血管内膜屏障,易受到各种心血管危险因素的刺激而发生功能和结构异常,其功能障碍是 AS 发生发展的起始环节。一旦内皮细胞功能失衡,大量的脂质和单核细胞就会侵入到内皮,导致炎症和脂纹的形成[9,10]。因此,维持血管内皮细胞功能平衡是 AS 一级预防工作的重要举措。

Visfatin 主要由内脏的白色脂肪组织分泌,冠心病患者血清中 visfatin 水平显著升高,且伴有 CRP 及肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)的升高[11]。前期发现,visfatin 在 $ApoE^{-/-}$ 小鼠血清及斑块中的表达均明显升高,升高的 visfatin 可诱导巨噬细胞表面清道夫受体活化,加速对胆固醇及氧化低密度脂蛋白的吞噬,导致泡沫细胞形成[5]。此外,visfatin 可明显诱导 HUVEC 细胞增殖抑制,上调细胞上清中 TNF-α 及白介素-6(IL-6)水平,诱导细胞炎症损伤,其机制与 visfatin 激活 MAPK 家族中的 ERK1/2、JNK 与 p38 等信号蛋白有关[6,7]。本实验中我们也发现,visfatin 与 HUVEC 共培养后,细胞增殖抑制,凋亡增加,上清中 CRP 与 NF-κB 水平明显升高,进一步证实了 visfatin 具有显著诱导炎症的作用。

CRP 是炎症的敏感性指标之一,CRP 的升高与 AS 的发生发展及预后有密切联系。研究发现,CRP 可直接导致 HUVEC 细胞炎症[12]。CRP 可介导巨噬细胞摄取 LDL,促进泡沫细胞形成。此外, CRP 能促进局部免疫调节障碍,诱导斑块进展及破裂[13]。本实验发现,visfatin 能显著上调 HUVEC 上清中 CRP 水平,促进细胞炎症损伤,葛根素中、高浓度可明显抑制其分泌,拮抗 visfatin 的增殖抑制与诱导凋亡作用。

众所周知,NF-κB 参与炎症、免疫、氧化应激反应的全过程,是重要的核转录因子。NF-κB 可被众多危险因素活化,一旦 NF-κB 被激活可调控血管细胞黏附分子、细胞间黏附分子、E 选择素等生成增多;同时,NF-κB 可抑制细胞凋亡,导致血管平滑肌细胞反应性增生及纤维化,进而促进 AS 斑块形

成[14]。MyD88 是 Toll 样受体信号通路中的一个关键接头分子,可与 NF-κB 特异性结合激活下游炎症相关基因表达,从而激发一系列级联式炎症反应,进一步促进 AS 进展,因而 MyD88/NF-κB 也被认为是抗 AS 的重要环节。本实验也发现,给予 HUVEC 外源性 visfatin 刺激后,细胞内 MyD88 蛋白表达显著增加,上清中的 NF-κB 水平升高,提示 visfatin 诱导 HUVEC 损伤可能与激活 MyD88/NF-κB 炎症通路有关,葛根素可显著降低细胞 MyD88 与 NF-κB 水平,可能是其抗炎作用的部分机制。

微小 RNA(microRNA, miRNA)在调节 AS 病变进程相关的血管壁炎性反应、免疫细胞分化和胆固醇代谢等方面均发挥了重要作用[15]。miR-155-3p 是一个典型的多功能 miRNA,已被证实在免疫反应、炎症、肿瘤发生等过程中均发挥了重要作用。miR-155-3p 在巨噬细胞泡沫化过程中表达上调,可下调清道夫受体表达抑制泡沫细胞形成[16]。TNF-α 可显著上调 HUVEC 内 miR-155-3p 水平,这可能是机体内在有效的负反馈调节机制,通过抑制 MyD88/NF-κB 通路降低内皮炎症,从而减轻 AS 损伤[17]。可以确定的是,miR-155-3p 在 AS 中具有明显的阶段特异性作用,早期可靶向调节集落刺激因子-1 受体表达,从而抑制巨噬细胞增殖;进展期可通过下调 Bcl-6 表达抑制 AS 斑块进展[18]。本实验中,100 μg/Lvisfatin 干预 HUVEC 24 h 能显著降低细胞内 miR-155-3p 表达,而葛根素可有效逆转这种下调作用。增加细胞 miR-155-3p 水平能显著抑制靶基因 MyD88 蛋白表达,降低 NF-κB 与 CRP 水平,从而减轻 visfatin 对 HUVEC 的损伤作用。葛根素对 HUVEC 的保护作用部分是通过上调 miR-155-3p 水平实现的。

参 考 文 献

[1] 中华人民共和国卫生部. 2014 中国卫生统计年鉴[M],北京:中国协和医科大学出版社, 2015, 324.

[2] Lu J, Xiang G, Liu M, et al. Irisin protects against endothelial injury and ameliorates atherosclerosis in apolipoprotein E-Null diabetic mice [J]. Atherosclerosis, 2015, 243(2): 438 – 448.

[3] Shalini V, Pushpan CK, GS, et al. Tricin, flavonoid from Njavara reduces inflammatory responses in hPBMCs by modulating the p38MAPK and PI3K/Akt pathways and prevents inflammation associated endothelial dysfunction in HUVECs [J]. Immunobiology, 2015; pii: S0171 – 2985(15)30067 – X.

[4] Husain K, Hernandez W, Ansari RA, et al. Inflammation, oxidative stress and renin angiotensin system in atherosclerosis [J]. World J Biol Chem, 2015, 6(3): 209 – 217.

[5] Zhou FH, Pan YY, Huang ZY, et al. Visfatin induces cholesterol accumulation in macrophages through up-regulation of scavenger receptor-A and CD36 [J]. Cell Stress Chaperones, 2013, 18: 643 – 652.

[6] 崔小冰,周凤华,万强,等. p38 MAPK 通路在内脏脂肪素诱导 HUVEC 细胞分泌 TNF-α 的作用及定心方含药血清的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(7): 135 – 139.

[7] 万强,周凤华,崔小冰,等. 小檗碱通过 JNK 通路降低内脏脂肪素诱导人脐静脉内皮细胞分泌 IL-6 和 TNF-α 的研究 [J]. 中草药,2015,46(7): 216 – 220.

[8] Shi L, Fleming I. One miR level of control: microRNA-155 directly regulates endothelial nitric oxide synthase mRNA and protein levels [J]. Hypertension, 2012, 60(6): 1381 – 1382.

[9] Pedrigi RM, Poulsen CB, Mehta VV, et al. Inducing persistent flow disturbances accelerates atherogenesis and promotes thin cap fibroatheroma development in D374Y-PCSK9 hypercholesterolemic minipigs [J]. Circulation, 2015; 132(11): 1003 – 1012.

[10] Gu P, Cheng M, Hui X, et al. Elevating circulation chemerin level is associated with endothelial dysfunction and early atherosclerotic changes in essential hypertensive patients [J]. J Hypertens, 2015; 33(8): 1624 – 1632.

[11] Dahl TB, Yndestad A, Skjelland M, et al. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization [J]. Circulation, 2007; 115(8):972 – 980.

[12] Raaz-Schrauder D, Ekici AB, Klinghammer L, et al. The proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells depends on the FcγRIIa genotype [J]. Thromb Res, 2014; 133(3): 426 – 432.

[13] Singh SK, Suresh MV, Prayther DC, et al. C-reactive protein-bound enzymatically modified low-density lipoprotein does not transform macrophages into foam cells [J]. J Immunol, 2008; 180(6): 4316 – 422.

[14] Feaver RE, Gelfand BD, Blackman BR. Human haemodynamic frequency harmonics regulate the inflammatory phenotype of vascular endothelial cells [J]. Nat Commun, 2013; 4: 1525.

[15] Kumar S, Kim CW, Simmons RD, et al. Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRs [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014; 34(10): 2206 – 2216.

[16] 尚菲,曾德意,杨慧,等. MicroRNA155 通过下调清道夫受体表达抑制巨噬细胞泡沫化形成 [J]. 中山大学学报(医学科学版),2012,33(3): 156 – 162.

[17] Wu XY, Fan WD, Fang R, Wu GF. Regulation of microRNA-155 in endothelial inflammation by targeting nuclear factor (NF)-κB P65 [J]. J Cell Biochem, 2014; 115(11): 1928 – 1936.

[18] Wei Y, Zhu M, Corbalán-Campos J, et al. Regulation of Csf1r and Bcl6 in macrophages mediates the stage-specific effects of microRNA-155 on atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2015; 35(4): 796 – 803.

[收稿日期] 2016-03-14