

微小RNA-146a影响血管平滑肌细胞增殖和凋亡的机制*☆☆

熊 玮¹, 董少红¹, 袁建辉², 刘建军², 徐新云², 李江华¹

Essential role of microRNA-146a in proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells

Xiong Wei¹, Dong Shao-hong¹, Yuan Jian-hui², Liu Jian-jun², Xu Xin-yun², Li Jiang-hua¹

Abstract

BACKGROUND: MicroRNA-146a (miRNA-146a) can mediate the proliferation of immune cells and tumor cells through negative regulation of nuclear factor κ B signaling pathway, but whether miRNA-146a participates in the proliferation or apoptosis of vascular smooth muscle cells (VSMCs) has not been reported.

OBJECTIVE: To investigate the role of miRNA-146a in VSMCs proliferation and apoptosis and to exploit its mechanisms.

METHODS: Artificial synthesized miRNA-146a antisense oligonucleotide (ASO, 50 nmol/L), scramble (control, 50nmol/L) and phosphate buffered saline (normal) were transfected into VSMCs by Lipofectamine 2000 individually.

RESULTS AND CONCLUSION: By the end of 48 hours of transfection, there were significantly lower levels of miRNA-146a mRNA in ASO treated VSMCs compared with that in normal and control VSMCs ($P < 0.01$). Meanwhile, ASO treated VSMCs manifested a lower proliferative ($P < 0.01$) and higher apoptotic ability ($P < 0.05$). The protein level of nuclear factor- κ Bp65 and proliferation cell nuclear antigen in ASO treated VSMCs were remarkably lower than that in normal and control VSMCs ($P < 0.05$). miRNA-146a is capable of promoting proliferation and suppressing apoptosis of VMSCs, which is probably related with the increase in nuclear factor- κ Bp65 expression.

Xiong W, Dong SH, Yuan JH, Liu JJ, Xu XY, Li JH. Essential role of microRNA-146a in proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(20): 3715-3719.
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 微小 RNA-146a 通过负调控核因子 κ B 信号通路介导免疫细胞和肿瘤细胞的增殖, 但是否参与血管平滑肌细胞的增殖或凋亡未见研究报道。

目的: 观察微小 RNA-146a 对血管平滑肌细胞增殖、凋亡的影响及其相关机制。

方法: 采用脂质体 2000 将 50 nmol/L 微小 RNA-146a 反义寡核苷酸转染至大鼠血管平滑肌细胞, 以转染错义链及 PBS 的细胞作为对照。

结果与结论: 微小 RNA-146a 反义寡核苷酸转染 48 h 后, 血管平滑肌细胞增殖减少($P < 0.01$)、凋亡增多($P < 0.05$), 细胞的微小 RNA-146a 水平明显降低($P < 0.01$), 核因子 κ Bp65、增殖细胞核抗原蛋白表达明显降低($P < 0.05$)。说明微小 RNA-146a 可以促进血管平滑肌细胞的增殖, 抑制凋亡, 其机制与增加核因子 κ Bp65 表达有关。

关键词: 微小 RNA-146a; 血管平滑肌细胞; 核因子 κ B; 转染; 增殖; 凋亡

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.20.024

缩略语: miRNA: microRNA, 微小 RNA; VSMC: vascular smooth muscle cell, 血管平滑肌细胞; PCNA: proliferating cell nuclear antigen, 增殖细胞核抗原

熊玮, 董少红, 袁建辉, 刘建军, 徐新云, 李江华. 微小 RNA-146a 影响血管平滑肌细胞增殖和凋亡的机制[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(20): 3715-3719. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类进化保守的非编码小分子RNA, 广泛存在于病毒、植物、线虫和动物体内, 其表达具有组织特异性和时序性, 可在转录后水平负调控基因的表达, 参与细胞增殖、分化、胚胎发育、肿瘤发生以及炎症和免疫应答等生命活动^[1]。目前已经发现600多种miRNA, 调控至少30%以上的基因表达, 形成复杂的调控网络^[2]。血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖和凋亡之间的动态平衡是决定动脉粥样硬化斑块形成和血管介入治疗后再狭窄发生发展的核

心因素^[3], 但关于miRNA与VSMC生物学功能之间关系的研究较少。

实验通过体外转染miRNA-146a反义寡核苷酸, 沉默血管平滑肌细胞中的miRNA-146a, 研究miRNA-146a对VSMC增殖和凋亡的影响。

1 材料和方法

设计: 重复测量, 细胞水平体外实验。

时间和地点: 于2010-06/2011-12在深圳市人民医院临床医学研究中心和深圳市疾病预防控制中心现代毒理学重点实验室共同完成。

材料:

实验动物: SPF级健康雄性8周龄SD大鼠

¹Department of Cardiology, Second Clinical Medical College of Jinan University, Shenzhen People's Hospital, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China; ²Key Laboratory of Modern Toxicology in Shenzhen, Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China

Xiong Wei☆☆, Studying for doctorate, Attending physician, Department of Cardiology, Second Clinical Medical College of Jinan University, Shenzhen People's Hospital, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China
xw1012@sina.com

Corresponding author: Dong Shao-hong, Doctor, Professor, Department of Cardiology, Second Clinical Medical College of Jinan University, Shenzhen People's Hospital, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China
dsh266@medmail.com.cn

Supported by: the Science and Technology Plan of Shenzhen City, No. 201102158*

Received: 2012-03-01
Accepted: 2012-03-19

¹ 暨南大学第二临床医学院 深圳市人民医院心内科, 广东省深圳市 518020; ² 深圳市疾病预防控制中心 深圳市现代毒理学重点实验室, 广东省深圳市 518020

熊玮☆, 男, 1975年生, 广东省深圳市人, 汉族, 暨南大学第二临床医学院在读博士, 主治医师, 主要从事冠状动脉粥样硬化性心脏病及冠状动脉介入后再狭窄防治的研究。xw1012@sina.com

通讯作者: 董少红, 博士, 教授, 暨南大学第二临床医学院 深圳市人民医院心内科, 广东省深圳市 518020 dsh266@medmail.com.cn

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2012)20-03715-05

收稿日期: 2012-03-01
修回日期: 2012-03-19
(20111226024/
WLM · W)

10只, 体质量100~150 g, 购自广东省实验动物中心, 许可证号: SCXK(粤)2008-0002。实验过程中对动物处置方法符合科学技术部2006年发布的《关于善待实验动物的指导性意见》的有关规定^[4]。

试剂和仪器:

试剂及仪器	来源
DMEM 培养基、胰酶、胎牛血清	Gibco 公司
Lipofectamine2000	Invitrogen 公司
RNeasy Mini Kit 试剂盒	Qiagen 公司
All-in-one miRNA qRT-PCR detection kit 试剂盒	Genecopoeia 公司
SYBR Premix Ex Taq 试剂盒	Takara 公司
CCK-8 试剂盒	同仁化学研究所
Annexin V-PE/7-AAD 凋亡试剂盒	凯基生物公司
抗大鼠 α -actin 抗体	博士德公司
抗大鼠核因子 κ Bp65 多克隆抗体	Abcam 公司
抗大鼠增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA)	Santa Cruz 公司
多克隆抗体	
大鼠 miRNA-146a 反义寡核苷酸	吉玛公司
miRNA-146a 下游引物及 U6 引物	生工公司
流式细胞仪	BD Biosciences 公司
ABI PRISM 7900 PCR 仪	Applied Biosystems 公司

方法:

大鼠VSMC的分离培养及鉴定: 将大鼠处死, 体积分数75%乙醇浸泡后无菌操作下取出胸主动脉, 剥离外膜和内膜, 剪成1 mm³大小的组织块铺在培养瓶中, 5 h后翻瓶, 以含体积分数20%胎牛血清的DMEM培养基在37 °C、体积分数5%CO₂的培养箱中进行培养, 7~10 d细胞长到80%~90%融合后进行传代和差速纯化, 免疫荧光法进行VSMC鉴定^[5]。培养成功后以体积分数10%胎牛血清进行培养, 取3~8代细胞进行实验。

miRNA-146a转染: VSMC消化离心后以合适密度接种到培养板, 24 h后细胞融合到60%~70%时按照Lipofectamine2000说明书进行操作, 分成反义寡核苷酸组、对照组及正常组, 分别转染50 nmol/L miRNA-146a反义寡核苷酸、50 nmol/L miRNA-146a错义链及同等剂量PBS, 4~6 h后换成完全培养基, 荧光显微镜观察转染效率。

荧光定量PCR检测 各组细胞 miRNA-146a mRNA的表达: 转染48 h后按照RNeasy Mini Kit

说明书提取RNA, 紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳测定RNA的浓度和纯度, 按照All-in-one miRNA qRT-PCR detection kit操作说明进行反转录, 反应体系为RNA 5 μ L, poly A polymerase 1 μ L, RTase mix 1 μ L, 5 $\times$ reaction buffer 5 μ L, ddH₂O 13 μ L, 反应条件为37 °C 60 min, 85 °C 5 min。

按照SYBR Premix Ex Taq荧光定量PCR试剂盒说明书进行PCR反应, 引物序列为: miRNA-146a上游引物(5'-3')TGA GAA CTG AAT TCC ATG GGT T, miRNA-146a下游引物为通用引物, U6上游引物(5'-3')CTC GCT TCG GCA GCA CA, U6下游引物(5'-3')ACG CTT CAC GAA TTT GCG T。反应体系为: SYBR Premix Ex Taq 10 μ L, 上游引物 0.4 μ L, 下游引物 0.4 μ L, ROX Reference Dye 0.4 μ L, DNA模板 2.0 μ L, ddH₂O 6.8 μ L, 反应条件: 95 °C 10 s, 循环1次; 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 循环40次。miRNA-146a与U6相对表达量用公式 $2^{-(\Delta Ct \text{ sample} - \Delta Ct \text{ control})}$ 计算。

VSMC增殖的检测: 采用细胞计数和CCK-8两种方法检测VSMC增殖。细胞消化离心后以 1×10^4 /孔接种到96孔板, 每组设6个复孔, 24 h后进行转染, 5 h后换成100 μ L完全培养基, 分别在0, 12, 24, 48 h进行检测。细胞计数: 将细胞用2.5 g/L胰酶完全消化下来, 用计数板在显微镜下计数。CCK-8实验则在相同时间点加入10 μ L WST试剂染色, 在37 °C、体积分数5%CO₂培养箱中培养2 h后在酶联免疫检测仪下测定450 nm(参考波长650 nm)的吸光度值。

流式细胞仪检测VSMC凋亡: 细胞消化离心后以 1×10^5 /孔接种到6孔板, 常规转染, 48 h后以不含EDTA的2.5 g/L胰酶消化离心, PBS洗涤细胞, 先后加入500 μ L的Binding Buffer、1 μ L Annexin V-PE及5 μ L 7-AAD, 在1 h内用流式细胞仪检测。

Western blot检测 VSMC中核因子 κ Bp65及PCNA的表达: 转染48 h后常规提取总蛋白, 每孔加入20 μ L蛋白溶液, 电泳分离后转膜, 体积分数5%牛奶封闭2 h, 加入兔抗大鼠核因子 κ Bp65一抗(1:1 000)、PCNA一抗(1:500)及GAPDH一抗(1:1 000), 4 °C孵育过夜, TBST清洗后, 加入羊抗兔二抗(1:6 000)孵育1 h, TBST清洗, 加入ECL发光液100 μ L, 在Image Quant RT ECL冷CCD成像系统进行显影, 用Imagequant TL软件进行半定量分析。

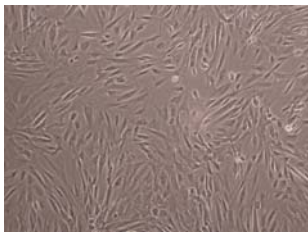
主要观察指标: 荧光显微镜观察miR-146a

反义寡核苷酸转染效率, 荧光定量PCR检测miR-146a mRNA的表达, 细胞计数和CCK-8检测VSMC增殖活性, 流式细胞仪检测VSMC凋亡水平, Western blot检测核因子κBp65、PCNA蛋白水平。

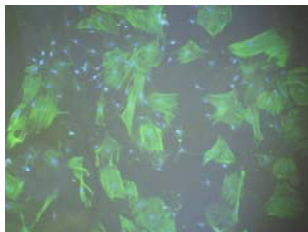
统计学分析: 每次实验至少重复3次以上。所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用SPSS 16.0统计学软件进行分析, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 VSMC培养及鉴定结果 在贴壁3~5 d后, 组织块周围开始有细胞呈放射状萌出, 镜下呈梭形或三角形, 7~10 d细胞达到80%~90%融合, 表现为典型的“谷峰状”生长。用免疫荧光法鉴定细胞中α-actin表达, 呈阳性反应, 纯度达到95%以上, 见图1。



a: The third passage of cultured VSMCs demonstrated valley-peak characteristics under inverted microscope ($\times 100$)

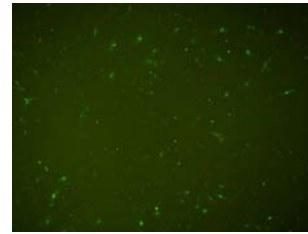


b: The α-actin protein in the cytoplasm of VSMCs was determined by immunofluorescence staining ($\times 200$)

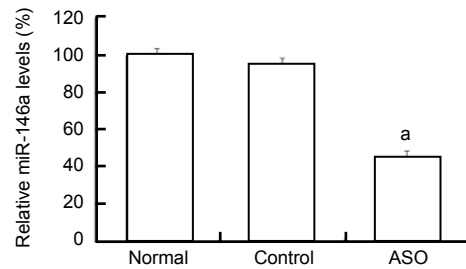
Figure 1 The third passage of cultured vascular smooth muscle cells (VSMCs) and immunofluorescence verification

图1 第3代血管平滑肌细胞的形态及α-actin的表达

2.2 miRNA-146a转染效率及表达 转染miRNA-146a反义寡核苷酸4~6 h后用荧光显微镜观察, 在VSMC胞浆内可见大量颗粒状荧光, 部分荧光呈现细胞轮廓, 表明miRNA-146a反义寡核苷酸已进入VSMC内。为了验证是否干扰成功, 实验采用荧光定量PCR检测了3组细胞miRNA-146a mRNA的水平, 与正常组和对照组相比, 反义寡核苷酸组的miRNA-146a mRNA水平显著下降($P < 0.01$), 表明RNA干扰成功, 见图2。



a: The miRNA-146a ASO labeled by green fluorescence was investigated in fluorescence microscope after transfection 5 h ($\times 200$)



^a $P < 0.01$, vs. control and normal groups

b: The relative levels of miRNA-146a were assayed by real-time PCR, U6 mRNA served as an internal control

Figure 2 The transfection efficiency of microRNA (miRNA)-146a antisense oligonucleotide (ASO) and relative miRNA-146a mRNA levels in cultured vascular smooth muscle cells determined by real-time PCR

图2 微小RNA-146a反义寡核苷酸的转染效率

2.3 miRNA-146a促进VSMC增殖 为了研究沉默miRNA-146a对VSMC增殖的影响, 实验采用细胞计数和CCK-8法检测了3组细胞在转染后0~48 h的增殖率, 见表1, 2。

表1 不同时间点血管平滑肌细胞的数目
Table 1 The number of vascular smooth muscle cells at different time points ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, $\times 10^3$)

Group	Transfection time (h)			
	0	12	24	48
Normal	18.1±1.2	25.4±1.9	30.2±0.8	33.4±0.9
Control	17.4±2.0	24.2±1.6	28.8±1.9	31.6±1.1
ASO	18.2±1.1	21.3±1.2 ^a	23.7±0.6 ^b	25.2±1.0 ^b

ASO: antisense oligonucleotide; ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, vs. normal and control groups

表2 不同时间点血管平滑肌细胞的吸光度值
Table 2 The absorbance values of vascular smooth muscle cells at different time points ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, A)

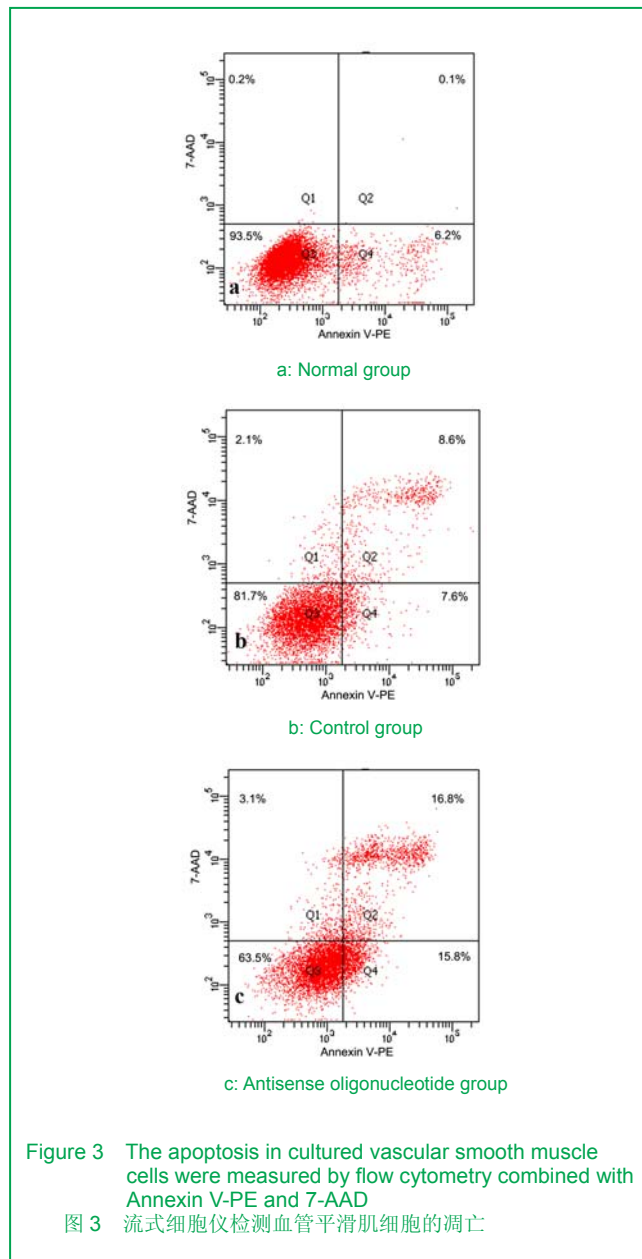
Group	Transfection time (h)			
	0	12	24	48
Normal	0.41±0.01	0.56±0.03	0.91±0.06	1.32±0.07
Control	0.41±0.03	0.54±0.03	0.88±0.09	1.27±0.03
ASO	0.42±0.04	0.48±0.03 ^a	0.63±0.06 ^b	0.86±0.03 ^b

ASO: antisense oligonucleotide; ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, vs. normal and control groups

在0 h时, 3组细胞的细胞数目和吸光度值相比差异

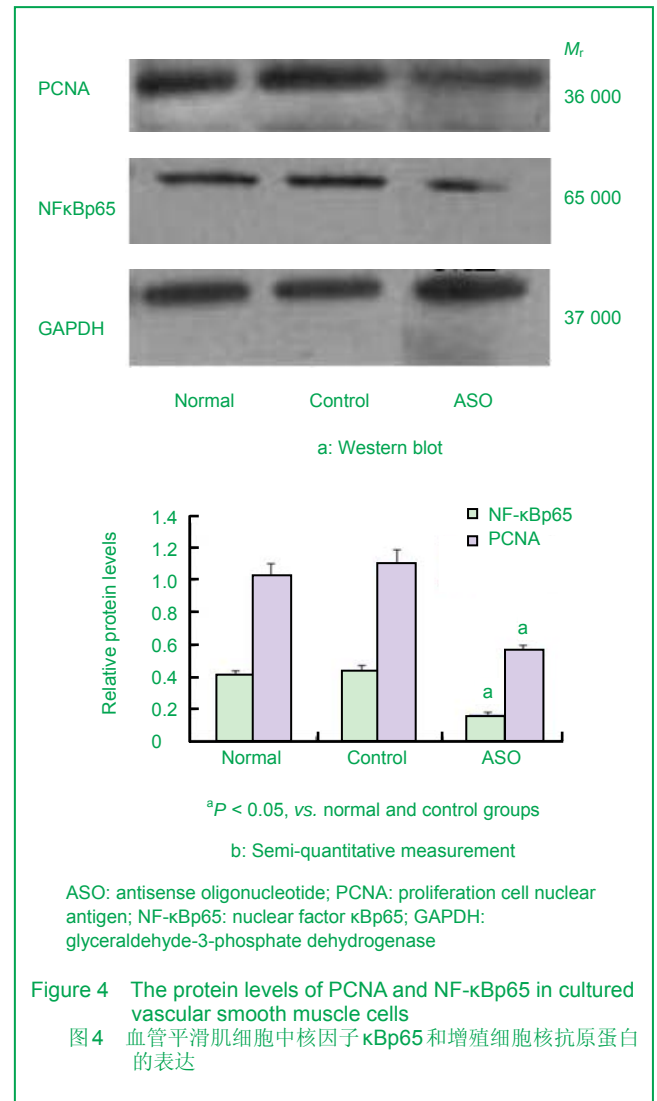
无显著性意义($P > 0.05$), 12 h后各时间点, 反义寡核苷酸组细胞数目和吸光度值明显减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 表明抑制VSMC内的miRNA-146a可以抑制其增殖。

2.4 miRNA-146a抑制VSMC凋亡 在干扰后48 h, 采用Annexin V-PE/7-AAD双染法测定VSMC的凋亡, 正常组与对照组的凋亡率分别为 $(6.2 \pm 1.2)\%$ 和 $(7.6 \pm 1.6)\%$, 反义寡核苷酸组的细胞凋亡率为 $(15.8 \pm 3.8)\%$, 明显高于正常组与对照组($P < 0.05$), 表明miRNA-146a可以抑制VSMC凋亡, 见图3。



2.5 miRNA-146a促进VSMC核因子κBp65和PCNA的表达 将50 nmol/L miRNA-146a反义寡核苷酸转染VSMC后48 h提取蛋白, Western blot检测结果显示, 与正常组和对照组相比, 反义寡核苷酸组VSMC的核因子κBp65和PCNA表达水平明显下降($P < 0.05$), 表明

miRNA-146a可以促进VSMC表达核因子κBp65和PCNA, 从而促使VSMC增殖, 见图4。



3 讨论

目前研究已经发现多个miRNA在VSMC中特异表达, 并通过对VSMC的表型转化、增殖的调节参与动脉粥样硬化斑块和血管再狭窄的形成。MiRNA-145是正常血管壁和VSMC中表达丰度较高的小分子RNA之一, 体内过表达的miRNA-145可以抑制大鼠颈动脉球囊损伤后新生内膜的形成, 减轻血管再狭窄的程度^[6]。与miRNA-145的作用相反, 在体外将外源性的miRNA-221转染人VSMC, 可以导致VSMC的分化标志减少, 显著增加VSMC的增殖和迁移能力^[7]。在大鼠颈动脉再狭窄模型中也发现miRNA-221和miRNA-222水平升高, 敲除miRNA-221和miRNA-222基因在体内外都会出现VSMC增殖减少, 血管再狭窄减轻^[8]。

MiRNA-146是第一个被发现在免疫系统中具有调节作用的miRNA, 在固有免疫和炎症反应中发挥着重要

作用, 参与了自身免疫性疾病、脓毒血症、肿瘤等多种疾病的发展^[9-12]。MiRNA-146家族包括miRNA-146a和miRNA-146b, 分别位于5号和10号染色体上, 两者的成熟序列在3'端存在两个碱基的差异, 两者的功能大致相同, 目前的大多数研究以miRNA-146a为主。MiRNA-146a对免疫和炎症反应的调节是通过作用于Toll样受体信号通路发挥的。脂多糖和白细胞介素1、肿瘤坏死因子 α 等炎症递质通过核因子 κ B依赖的途径可以促进miRNA-146a生成, miRNA-146a与靶细胞表面的肿瘤坏死因子相关因子6和白细胞介素1受体相关激酶1结合, 下调核因子 κ B表达, 参与炎症与免疫反应^[13-14]。

最近, miR-146a在心血管领域中的作用刚刚被发现。有研究发现急性冠脉综合征患者外周血单个核细胞中miRNA-146a水平显著升高; 给予miRNA-146a可以通过T-bet信号通路促进Th1细胞的分化, 并能促进肿瘤坏死因子 α 和核因子 κ Bp65的合成^[15]。在球囊损伤再狭窄的动物模型中也发现miRNA-146a的表达水平显著上调^[16], 但miRNA-146a是否参与VSMC增殖和再狭窄尚未见研究报道。

本实验中, 首先合成了miRNA-146a的反义寡核苷酸, 并在体外成功转染到VSMC中。结果发现, 沉默miRNA-146a后VSMC的生物学行为发生显著改变, 表现为增殖能力下降, 凋亡增加。在自身免疫细胞和肿瘤细胞中, miRNA-146a通过下调肿瘤坏死因子相关因子6和白细胞介素1受体相关激酶1水平, 负调控核因子 κ B信号通路, 避免过度炎症反应的发生^[13-14]。而实验发现, 阻断miRNA-146a后大鼠VSMC增殖减少、凋亡增加, 同时核因子 κ Bp65和PCNA的蛋白水平也相应明显下降, 提示miRNA-146a促进VSMC的增殖, 抑制其凋亡可能与核因子 κ B表达增加有关。在急性冠脉综合征的患者中也发现, miRNA-146a通过上调核因子 κ B促进Th1细胞的增殖和分化^[15], 与本实验的结果一致。导致两种相反结果的原因可能与miRNA-146a的组织特异性有关。在自身免疫性疾病中miRNA-146a继发性升高, miRNA-146a通过下调核因子 κ B以维持免疫和炎症反应平衡, 而在心血管系统中miRNA-146a可能作为始动因素参与疾病的发生发展。然而, miRNA-146a是否在体内促进VSMC增殖以及作用于哪些靶基因目前尚不清楚, 有待进一步研究。

4 参考文献

- [1] Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet*. 2011;12(12):861-874.
- [2] Kaikkonen MU, Lam MT, Glass CK. Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics. *Cardiovasc Res*. 2011;90(3):430-440.

- [3] Curcio A, Torella D, Indolfi C. Mechanisms of smooth muscle cell proliferation and endothelial regeneration after vascular injury and stenting: approach to therapy. *Circ J*. 2011;75(6):1287-1296.
- [4] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guid-ance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30.
中华人民共和国科学技术部.关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.
- [5] Long XP, Zhao YZ, Shi B, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(46):8598-8602.
龙仙萍,赵然尊,石蓓,等.腺病毒介导hRAMP1基因转染血管平滑肌细胞的增殖和凋亡[J].中国组织工程研究与临床康复,2011,15(46):8598-8602.
- [6] Cheng Y, Liu X, Yang J, et al. MicroRNA-145, a novel smooth muscle cell phenotypic marker and modulator, controls vascular neointimal lesion formation. *Circ Res*. 2009;105(2):158-166.
- [7] Davis BN, Hilyard AC, Nguyen PH, et al. Induction of microRNA-221 by platelet derived growth factor signaling is critical for modulation of vascular smooth muscle phenotype. *J Biol Chem*. 2009;284(6):3728-3738.
- [8] Liu X, Cheng Y, Zhang S, et al. A necessary role of miR-221 and miR-222 in vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia. *Circ Res*. 2009;4(4):476-487.
- [9] Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, et al. Function of miR-146a in controlling treg cell-mediated regulation of Th1 responses. *Cell*. 2010;142(6):914-929.
- [10] Nakasa T, Miyaki S, Okubo A, et al. Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Rheum*. 2008;50(5):1284-1292.
- [11] Wang JF, Yu ML, Yu G, et al. Serum miR-146a and miR-223 as potential new biomarkers for sepsis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;394(1):184-188.
- [12] Li Y, Vandenboom TG, Wang Z, et al. miR-146a suppresses invasion of pancreatic cancer cells. *Cancer Res*. 2010;70(4):1486-1495.
- [13] Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, et al. NF- κ B dependent induction of microRNA miR-146a, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(33):12481-12486.
- [14] Bhaumik D, Scott GK, Schokrpur S, et al. Expression of microRNA-146 suppresses NF- κ B activity with reduction of metastatic potential in breast cancer cells. *Oncogene*. 2008;27(42):5643-5647.
- [15] Guo M, Mao X, Ji Q, et al. MiR-146a in PBMCs modulates Th1 function in patients with acute coronary syndrome. *Immunol Cell Biol*. 2010;88(5):555-564.
- [16] Ji R, Cheng Y, Yue J, et al. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of microRNA in vascular neointimal lesion formation. *Circ Res*. 2007;100(11):1579-1588.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 深圳市科技计划项目(201102158)。

作者贡献: 董少红进行实验设计, 实验实施为熊玮、李江华、袁建辉, 实验评估为刘建军、徐新云, 资料收集为熊玮, 熊玮成文, 董少红审校, 熊玮, 董少红对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验中对动物处置符合科学技术部 2006 年发布的《关于善待实验动物的指导性意见》的有关规定。

本文创新性: 传统的观点认为微小 RNA-146a 以负反馈的方式调控核因子 κ B 的表达。实验通过 RNA 干扰的方法沉默血管平滑肌细胞中的微小 RNA-146a, 发现微小 RNA-146a 通过上调核因子 κ B 信号通路促进血管平滑肌细胞增殖、抑制其凋亡。