

- [6] ZENG H, ZHENG R, GUO Y, et al. Cancer survival in China, 2003-2005: a population-based study[J]. Int J Cancer, 2015, 136(8): 1921-1930.
- [7] FAIZ Z, HUIJGEN L, ALQETHAMI HJ, et al. Prevalence and prognostic significance of extramural venous invasion in patients with locally advanced esophageal cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2018, 25(6): 1588-1597.
- [8] ZENG J, SU G. High ligation of the inferior mesenteric artery during sigmoid colon and rectal cancer surgery increases the risk of anastomotic leakage: a meta-analysis[J]. World J Surg Oncol, 2018, 16(1): 157-164.
- [9] MALAKORN S, SAMMOUR T, BEDNARSKI B, et al. Three different approaches to the inferior mesenteric artery during robotic D3 lymphadenectomy for rectal cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2017, 24(7): 1923-1930.
- [10] MARI GM, CRIPPA J, COCOZZA E, et al. Low ligation of inferior mesenteric artery in laparoscopic anterior resection for rectal cancer reduces genitourinary dysfunction: results from a randomized controlled trial (highlow trial)[J]. Ann Surg, 2019, 269(6): 1018-1024.
- [11] GURAYA SY. Optimum level of inferior mesenteric artery ligation for the left-sided colorectal cancer. Systematic review for high and low ligation continuum[J]. Saudi Med J, 2016, 37(7): 731-736.
- [12] SINGH D, LUO J, LIU XT, et al. The long-term survival benefits of high and low ligation of inferior mesenteric artery in colorectal cancer surgery: a review and meta-analysis[J]. Medicine, 2017, 96(47): e8520. DOI: 10.1097/MD.00000000000008520.
- [13] TAKAHASHI H, HARAGUCHI N, NISHIMURA J, et al. Laparoscopic lymph node dissection around the inferior mesenteric artery for left-sided colon and rectal cancer[J]. Surg Today, 2018, 48(3): 359-363.
- [14] ZUO ZG, ZHANG XF, WANG H, et al. Prognostic value of lymph node ratio in locally advanced rectal cancer patients after preoperative chemoradiotherapy followed by total mesorectal excision[J]. Medicine, 2016, 95(9): e2988. DOI: 10.1097/MD.0000000000002988.
- [15] CHAND M, SIDDIQUI MR, SWIFT I, et al. Systematic review of prognostic importance of extramural venous invasion in rectal cancer[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(4): 1721-1726.
- [16] YANG Y, WANG G, HE J, et al. High tie versus low tie of the inferior mesenteric artery in colorectal cancer: a meta-analysis[J]. Int J Surg, 2018, 52(4): 20-24.

(收稿日期:2019-03-14,修回日期:2019-09-17)

引用本文:苗树船.微小RNA-211在颅内动脉瘤中差异表达及其对血管平滑肌细胞凋亡影响[J].安徽医药,2021,25(3):528-532.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.03.024.

◇临床医学◇



## 微小RNA-211在颅内动脉瘤中差异表达及其对血管平滑肌细胞凋亡影响

苗树船

作者单位:成都医学院第一附属医院神经外科,四川 成都610000

**摘要:** 目的 探讨微小RNA-211(miR-211)在颅内动脉瘤中的表达变化及其对血管平滑肌细胞凋亡的影响。方法 选取2017年5月至2019年1月成都医学院第一附属医院手术切除的颅内动脉瘤组织50例,同时选取同期该院颅脑外伤病人正常颅内动脉血管组织20例。实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)方法测定颅内动脉瘤中miR-211、B细胞淋巴瘤-2相关X蛋白(Bax)表达变化。在动脉瘤血管平滑肌细胞中转染miR-211模拟物(miR-211 mimics),流式细胞术检测细胞凋亡。生物信息学数据库预测miR-211的靶基因,荧光素酶报告系统鉴定miR-211和Bax的靶向关系。蛋白质印迹法(Western blotting)检测转染miR-211 mimics对细胞中Bax蛋白表达影响。在血管平滑肌细胞中转染miR-211 mimics和Bax过表达载体(pcDNA3.1-Bax),流式细胞术测定凋亡,Western blotting测定Bax蛋白表达。结果 miR-211在颅内动脉瘤中表达下调,Bax在颅内动脉瘤中表达上调。转染miR-211 mimics后的血管平滑肌细胞中miR-211表达水平升高,细胞凋亡率降低[(26.58±2.14)%比(28.41±2.35)%比(13.54±1.17)%, $P<0.05$ ],细胞中Bax蛋白表达水平下降。miR-211靶向抑制血管平滑肌细胞中Bax蛋白表达。pcDNA3.1-Bax提高上调miR-211后的血管平滑肌细胞中Bax蛋白表达水平,促进细胞凋亡[(12.47±1.58)%比(23.71±2.24)%, $P<0.05$ ]。结论 miR-211在颅内动脉瘤中表达下调,miR-211通过靶向Bax抑制血管平滑肌细胞凋亡。

**关键词:** 颅内动脉瘤; bcl-2相关X蛋白质; miR-211; 血管平滑肌细胞; 凋亡

### Differential expression of microRNA-211 in intracranial aneurysms and its effect on vascular smooth muscle cell apoptosis

MIAO Shuchuan

Author Affiliation: Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan 610000, China

**Abstract: Objective** To investigate the expression of microRNA-211 (miR-211) in intracranial aneurysms and its effect on the apoptosis of vascular smooth muscle cells. **Methods** From May 2017 to January 2019, 50 cases of intracranial aneurysm tissues were surgically removed from the First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College. At the same time, 20 cases of normal intracranial artery vascular tissues were selected during the same period. Patients with traumatic brain injury. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) method was used to determine the expression changes of miR-211 and Bcl-2 related X protein (Bax) in intracranial aneurysms. The miR-211 mimics was transfected into aneurysm vascular smooth muscle cells, and apoptosis was detected by flow cytometry. The bioinformatics database predicted the target genes of miR-211, and the luciferase reporter system identified the target relationship between miR-211 and Bax. Western blotting was used to detect the effect of transfection of miR-211 mimics on Bax protein expression in cells. The vascular smooth muscle cells were transfected with miR-211 mimics and Bax overexpression vector (pcDNA3.1-Bax), apoptosis was determined by flow cytometry, and Bax protein expression was determined by Western blotting. **Results** miR-211 was down-regulated in intracranial aneurysms, and Bax was up-regulated in intracranial aneurysms. The expression level of miR-211 in vascular smooth muscle cells transfected with miR-211 mimics increased, and the rate of apoptosis decreased [(26.58±2.14)% vs. (28.41±2.35)% vs. (13.54±1.17)%,  $P<0.05$ ], in cells The expression level of Bax protein decreased. miR-211 targets the inhibition of Bax protein expression in vascular smooth muscle cells. pcDNA3.1-Bax increases the expression of Bax protein in vascular smooth muscle cells after up-regulation of miR-211, and promotes cell apoptosis [(12.47±1.58)% vs. (23.71±2.24)%,  $P<0.05$ ]. **Conclusion** miR-211 is down-regulated in intracranial aneurysms, miR-211 inhibits vascular smooth muscle cell apoptosis by targeting Bax.

**Key words:** Intracranial aneurysm; Bcl-2-Associated X Protein; MiR-211; Vascular smooth muscle cells; Apoptosis

颅内动脉瘤是临床上常见的脑血管疾病之一,其具有极高的致死率和致残率,颅内动脉瘤也是自发性蛛网膜下腔出血发生的重要原因<sup>[1]</sup>。大量研究显示,颅内动脉瘤的发生与血流动力学、后天退行性病变、遗传学等多种因素有关,血管平滑肌细胞凋亡是后天退行性病变中引发颅内动脉瘤的关键之一<sup>[2]</sup>。血管平滑肌细胞具有维持血管平衡及稳定的作用,而血管平滑肌细胞过度凋亡导致血管壁的张力下降,诱导颅内动脉瘤发生<sup>[3]</sup>。微小RNA(miRNA)是在真核生命体内存在、具有多种生物学作用的调控子,其在人类正常生理进程以及疾病发生中发挥诸多功能<sup>[4]</sup>。miRNA参与心脑血管疾病发生,与脑缺血再灌注、高血压、动脉粥样硬化等有关,miRNA有望成为治疗和诊断心脑血管疾病的小分子标志物<sup>[5]</sup>。微小RNA-211(miR-211)参与肿瘤细胞、缺氧心肌细胞等多种细胞的凋亡过程,miR-211在不同的组织或疾病进展中的调控作用不同<sup>[6-7]</sup>。本次实验初步探讨miR-211在颅内动脉瘤中的表达变化及其对血管平滑肌细胞凋亡的影响,以期为颅内动脉瘤的治疗提供资料。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 选取2017年5月至2019年1月成都医学院第一附属医院手术切除的颅内动脉瘤组织50例,同时选取同期该院20例正常颅内动脉血管组织,正常颅内动脉血管组织采集自颅脑外伤病人。标本采集均经过病人和近亲属同意。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。miRNA荧光定量PCR试剂盒miScript SYBR Green PCR Kit、miRNA逆转录试剂盒miScript Reverse Transcription Kit购自德国QIAGEN;互补DNA(cDNA)合成试剂盒RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit购自美

国Thermo;荧光定量PCR试剂盒SYBR Real-Time PCR Kit购自上海吉玛制药技术有限公司;模拟物阴性对照(mimics control)、miR-211模拟物(miR-211 mimics)由纽赫生物科技(上海)有限公司合成;B细胞淋巴瘤-2相关X蛋白(Bax)抗体购自北京义翘神州科技有限公司。

**1.2 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)方法测定颅内动脉瘤中miR-211、Bax表达差异** 取动脉瘤组织和正常颅内动脉血管组织,添加Trizol试剂提取细胞中的总RNA,取1 μL的RNA用于检测浓度和纯度。分别用miScript Reverse Transcription Kit、RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit逆转录合成cDNA,用miScript SYBR Green PCR Kit、SYBR Real-Time PCR Kit进行定量PCR。miR-211内参为U6, Bax内参为β-肌动蛋白(β-actin)。引物序列如下:miR-211正向5'-CTGCTTGACCTGTGACCTGT-3',反向5'-TCTGCAGTAGAGGTGACCA-3'; U6正向5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAT-3',反向5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGT-CAT-3'; Bax正向5'-GGCCACACAGCTCTGAGCAGA-3',反向5'-GCCACGTGGCGTCCCAAAGT-3'; β-actin正向5'-GGACCTGACTGACTACCTC-3',反向5'-TACTCCTGCTTGCTGAT-3'。根据反应的Ct值分析目的基因表达变化,计算方法为 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法。

**1.3 动脉瘤血管平滑肌细胞分离培养**<sup>[8]</sup> 取动脉瘤组织,用眼科剪小心将组织剪碎成1 cm×1 cm×1 cm的组织块,添加Ⅱ型胶原酶(0.1%),置于37℃充分消化,观察组织块表面有白色絮状物出现时将组织块取出,再用眼科剪将组织块剪成1 mm×1 mm×1 mm大小,转移到细胞培养瓶内,组织块之间间隔4 cm,置于37℃,5%二氧化碳培养箱中培养。8 h后,

取出培养瓶,添加10%胎牛血清的DMEM培养基细胞培养液继续培养24 h。观察细胞爬出组织块后的第5天,将组织块弃掉,继续加入细胞培养液3 mL,细胞生长密度为90%时进行传代培养,期间每隔1天换液1次,传代培养细胞消化液用0.25%的胰蛋白酶。分离培养的细胞经过免疫荧光鉴定为血管平滑肌细胞。

**1.4 细胞转染** 血管平滑肌细胞分成Control、miR-NC、miR-211共3组,其中miR-NC、miR-211组分别为转染mimics control、miR-211 mimics后的血管平滑肌细胞,Control为空白对照细胞。细胞转染方法简述如下:取生长状态较好的血管平滑肌细胞,接种到6孔板中,每孔接种 $2 \times 10^5$ 个细胞,观察细胞融合度为70%时可以进行细胞转染。吸取250  $\mu$ L的DMEM将mimics control、miR-211 mimics以及5  $\mu$ L的Lipofectamin 2000转染试剂稀释,然后将上述两种稀释溶液混合,总体积一共为500  $\mu$ L,置于室温中静置20 min。添加上述混合溶液加入到6孔板中,轻轻晃动培养板,培养6 h后,更换细胞培养液,培养24 h后收集细胞用于后续实验。

**1.5 流式细胞术测定细胞凋亡** 取培养2 d以后的Control、miR-NC、miR-211组细胞,用0.25%的胰蛋白酶将细胞消化成单细胞悬浮液,加入磷酸缓冲盐溶液(PBS)溶液将细胞洗涤2次。收集 $5 \times 10^5$ 个细胞,添加结合缓冲液溶液400  $\mu$ L,然后加入膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)溶液5  $\mu$ L,混合均匀以后,放在4  $^{\circ}$ C避光条件孵育15 min;再加入碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)溶液10  $\mu$ L,同样在4  $^{\circ}$ C避光条件孵育15 min。用流式细胞仪检测细胞凋亡变化。

**1.6 miR-211靶基因预测和鉴定** 生物信息学数据库TargetScan显示,miR-211和Bax的3'非翻译区(UTR)端有互补结合位点。分别将野生型(wt)-Bax、突变型(mut)-Bax与miR-211 mimics、mimics control共转染到血管平滑肌细胞中,培养2 d后,用荧光素酶活性检测试剂盒测定各组细胞荧光素酶活性变化。wt-Bax、mut-Bax分别为含有Bax的3'UTR端、含有突变后Bax的3'UTR端的荧光素酶报告载体,荧光素酶报告载体均由吉满生物科技(上海)有限公司构建。

**1.7 蛋白质印迹法(Western blotting)测定Bax蛋白表达** 收集培养2 d后的Control、miR-NC、miR-211组细胞,在细胞中添加PBS溶液将细胞洗涤2次,加入苯甲基磺酰氟(PMSF)浓度为1 mmol/L的蛋白裂解试剂,以移液枪将细胞反复吹打混合后,用细胞刮刀将细胞从培养皿的底部刮下,放在冰上孵育20 min。14 000 g离心15 min,吸取上清,添加

1/4体积的上样缓冲液,在沸水浴中孵育5 min。分别配制10%的分离胶和5%的浓缩胶,每个孔中添加30  $\mu$ g的蛋白样品,在浓缩胶中采用75 V的电压电泳,在分离胶中采用100 V电压电泳。将聚偏二氟乙烯(PVDF)膜裁剪成合适大小,以恒流300 mA转膜60 min。把PVDF膜放在配制好的5%脱脂奶粉溶液中浸泡2 h。然后将PVDF膜置于含有1:600稀释的二抗反应液中,于4  $^{\circ}$ C环境中结合过夜。最后把PVDF膜放在1:2 000稀释的二抗反应液中,在室温中孵育2 h。用电化学发光(Electro-Chemiluminescence, ECL)显色,分析条带的灰度值。以 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)作为内参,分析Bax蛋白表达水平。

**1.8 上调Bax对miR-211影响血管平滑肌细胞凋亡作用** 将miR-211 mimics分别与Bax过表达载体(pcDNA3.1-Bax)、阴性对照载体(pcDNA3.1)共转染到血管平滑肌细胞中,记为miR-211+Bax、miR-211+NC组,按照上述流式细胞术、Western blotting测定细胞凋亡率、Bax蛋白表达水平。pcDNA3.1-Bax为Bax过表达载体,由基尔顿生物科技(上海)有限公司构建合成。

**1.9 统计学方法** 采用SPSS 21.0软件分析实验数据,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据间比较用独立样本 $t$ 检验的方法,多组差异比较用单因素方差分析,多组之间两两比较采用SNK- $q$ 检验的方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 颅内动脉瘤中miR-211、Bax表达水平呈负相关** 颅内动脉瘤中miR-211表达水平低于正常颅内动脉血管[( $0.59 \pm 0.03$ )比( $1.74 \pm 0.10$ )],  $t = 14.13$ ,  $P < 0.001$ ;颅内动脉瘤中Bax mRNA表达水平高于正常颅内动脉血管[( $1.25 \pm 0.05$ )比( $0.45 \pm 0.04$ )],  $t = 9.77$ ,  $P < 0.001$ ;颅内动脉瘤中miR-211表达水平与Bax mRNA表达水平呈负相关( $r = -0.646$ ,  $P < 0.001$ )。miR-211在颅内动脉瘤中低表达,Bax在颅内动脉瘤中高表达。

**2.2 miR-211 mimics抑制血管平滑肌细胞凋亡影响** 与miR-NC组比较,miR-211组血管平滑肌细胞中miR-211表达水平升高,细胞凋亡率降低( $P < 0.05$ ,图1、表1)。miR-211 mimics抑制血管平滑肌细胞凋亡。

**2.3 miR-211和Bax靶向调控作用** miR-211和Bax的3'UTR端有互补结合位点,并且miR-211 mimics和wt-Bax共转染后细胞荧光素酶活性降低( $P < 0.05$ ,图2、表2)。miR-211和Bax互为靶向关系。

**2.4 上调miR-211抑制血管平滑肌细胞中Bax表**

wt Position 358-365 of Bax 3' UTR 5' ...CUUCUGGCCUCCUCCGUCCCUGA...

hsa-miR-211 3' CGUGGGGAAACGACCAGGGACG

mut Position 358-365 of Bax 3' UTR 5' ...CUUCUGGCCUCCUCCAGUGAGCA...

图2 miR-211和B细胞淋巴瘤-2相关X蛋白(Bax)的3'非翻译区(UTR)端结合位点

表1 miR-211 mimics 转染后颅内动脉瘤血管平滑肌细胞中 miR-211 水平和细胞凋亡率比较/ $\bar{x} \pm s$

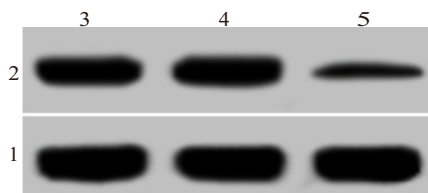
| 组别        | 重复次数 | miR-211                | 细胞凋亡率/%                 |
|-----------|------|------------------------|-------------------------|
| Control 组 | 3    | 1.00±0.12              | 26.58±2.14              |
| miR-NC 组  | 3    | 1.01±0.07              | 28.41±2.35              |
| miR-211 组 | 3    | 2.84±0.23 <sup>①</sup> | 13.54±1.17 <sup>①</sup> |
| F 值       |      | 139.916                | 51.588                  |
| P 值       |      | <0.001                 | <0.001                  |

注:①与 miR-NC 组比较,  $P<0.05$ 。

表2 野生型(wt)、突变型(mut)转染后颅内动脉瘤血管平滑肌细胞荧光素酶活性比较/ $\bar{x} \pm s$

| 组别        | 重复次数 | wt        | mut       |
|-----------|------|-----------|-----------|
| miR-NC 组  | 3    | 1.00±0.10 | 1.00±0.08 |
| miR-211 组 | 3    | 0.60±0.04 | 0.97±0.12 |
| t 值       |      | 6.433     | 0.360     |
| P 值       |      | 0.003     | 0.737     |

达 miR-211 mimics 转染后颅内动脉瘤血管平滑肌细胞中 Bax 蛋白表达水平分别为 Control 组(0.86±0.09)、miR-NC 组(0.88±0.07)、miR-211 组(0.45±0.06) ( $F=31.934$ ,  $P=0.001$ ); 与 miR-NC 组比较, miR-211 组血管平滑肌细胞中 Bax 蛋白水平降低 ( $P<0.05$ , 图3)。上调 miR-211 抑制血管平滑肌细胞中 Bax 表达。



注:1— $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin);2—B细胞淋巴瘤-2相关X蛋白(Bax);3—Control 组;4—miR-NC 组;5—miR-211 组。

图3 Western blotting 检测 miR-211 mimics 对颅内动脉瘤血管平滑肌细胞中 Bax 蛋白表达影响

**2.5 Bax 逆转 miR-211 对血管平滑肌细胞凋亡影响** 与 miR-211+NC 组比较, miR-211+Bax 组血管平滑肌细胞中 Bax 蛋白表达水平升高, 细胞凋亡率升高 ( $P<0.05$ , 图4、表3)。Bax 逆转 miR-211 对血管平滑肌细胞凋亡影响。

### 3 讨论

miRNA 是真核生物体内固有的非编码小分子 RNA, 其在生物体中能够转录后调控靶基因的表达, 影响下游信号转导、蛋白表达<sup>[9]</sup>。miRNA 在进化

表3 pcDNA3.1-Bax 和 miR-211 mimics 共转染后颅内动脉瘤血管平滑肌细胞凋亡率和 B 细胞淋巴瘤-2 相关 X 蛋白 (Bax) 蛋白表达水平比较/ $\bar{x} \pm s$

| 组别            | 重复次数 | 细胞凋亡率/%    | Bax 蛋白    |
|---------------|------|------------|-----------|
| miR-211+NC 组  | 3    | 12.47±1.58 | 0.46±0.05 |
| miR-211+Bax 组 | 3    | 23.71±2.24 | 0.92±0.08 |
| t 值           |      | 7.102      | 8.446     |
| P 值           |      | 0.002      | 0.001     |

上高度保守, 在数量、表达、结构、序列上具有多样性, miRNA 在细胞分化、组织代谢、胚胎发育等过程中发挥强大功能<sup>[10]</sup>。研究报道显示, miRNA 参与肿瘤、心脑血管系统疾病、免疫相关疾病等进展, 这些 miRNA 在疾病发生时表达改变, 并且通过调控细胞凋亡等生物学行为影响疾病进程<sup>[11-12]</sup>。miR-211 参与肿瘤、心脑血管疾病发生, miR-211 通过不同的作用机制影响细胞凋亡<sup>[13-14]</sup>。本次实验表明, miR-211 在颅内动脉瘤中表达下调, miR-211 可能参与颅内动脉瘤发生。

细胞凋亡是机体经过内源性 DNA 内切酶激活, 通过一系列的调控作用而诱发的结束细胞生命的复杂过程<sup>[15]</sup>。正常情况下, 血管平滑肌细胞凋亡是维持血管平衡的重要原因, 血管平滑肌细胞过度凋亡能够降低血管壁承受的张力<sup>[16]</sup>。研究显示, 在颅内动脉瘤组织中发现血管平滑肌细胞过度凋亡, 并且动脉瘤破裂的血管平滑肌细胞凋亡率高于未破裂组, 血管平滑肌细胞凋亡水平增加不仅是诱导颅内动脉瘤发生的重要原因, 也是诱导颅内动脉瘤破裂的重要原因<sup>[17-18]</sup>。本次实验显示, 上调 miR-211 后的颅内动脉瘤血管平滑肌细胞凋亡水平降低, 提示 miR-211 可能具有抗颅内动脉瘤发生的作用。

miRNA 生物学功能多样与其独特的调控机制有关, 其可以结合到靶 mRNA 的 3'UTR 端而抑制其翻译, 并且 miRNA 在不同的组织或病理、生理进程中的靶基因可能不同<sup>[19]</sup>。miR-211 作用广泛, 目前已经在多种组织中发现多个靶基因, miR-211 参与宫颈癌进展与靶向调控 SPARC 有关, miR-211 参与胃癌进展与 SOX4 有关, 而 miR-211 调控心肌细胞凋亡则与靶向调控 Sirt1 有关<sup>[7, 20-21]</sup>。本次实验表明, miR-211 可以靶向负调控血管平滑肌细胞中 Bax 表达。Bax 是一个与细胞凋亡有关的调控蛋白, 其属于 Bcl-2 蛋白家族成员, Bax 在细胞凋亡过程中发挥

促进作用<sup>[22-23]</sup>。本次实验显示,Bax在颅内动脉瘤组织中的表达水平升高,并且Bax表达水平与miR-211水平负相关,上调Bax可以逆转miR-211对血管平滑肌细胞凋亡的抑制作用,这充分证实,miR-211通过靶向调控Bax表达减少颅内动脉瘤血管平滑肌细胞凋亡。

以上表明,miR-211在颅内动脉瘤中低表达,上调其表达可以靶向抑制Bax表达减少血管平滑肌细胞凋亡,miR-211在颅内动脉瘤发生过程中可能发挥抑制作用,目前对于miR-211靶向Bax通过何种具体调控机制影响血管平滑肌细胞凋亡机制还不清楚,在以后实验中会继续探讨。本次实验结果为研究颅内动脉瘤分子发生机制提供了参考,为基因治疗颅内动脉瘤提供了可能。

(本文图1,4见插图3-3)

### 参考文献

- [1] BOURCIER R, LE SCOUARNEC S, BONNAUD S, et al. Rare coding variants in ANGPTL6 are associated with familial forms of intracranial aneurysm [J]. *Am J Hum Genet*, 2018, 102(1): 133-141.
- [2] XU J, ZHANG Y, CHU L, et al. Long non coding RNA HIF1A AS1 is upregulated in intracranial aneurysms and participates in the regulation of proliferation of vascular smooth muscle cells by upregulating TGF  $\beta$ 1 [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(3): 1797-1801.
- [3] LI XG, WANG YB. SRPK1 gene silencing promotes vascular smooth muscle cell proliferation and vascular remodeling via inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway in a rat model of intracranial aneurysms [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(2): 233-244.
- [4] KYUNO D, ZHAO K, BAUER N, et al. Therapeutic targeting cancer-initiating cell markers by exosome miRNA: efficacy and functional consequences exemplified for claudin7 and EpCAM [J]. *Transl Oncol*, 2019, 12(2): 191-199.
- [5] 邹燕, 肖凯强, 何雪梅, 等. miRNAs与血管新生关系的研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 58(10): 106-109.
- [6] KONG Q, QIU M. Long noncoding RNA SNHG15 promotes human breast cancer proliferation, migration and invasion by sponging miR-211-3p [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(2): 1594-1600.
- [7] 钟智伟, 朱伟, 王建安. 脂多糖调控 miR-211/Sirt1 在加重缺氧诱导心肌细胞凋亡中的作用价值[J]. *中华急诊医学杂志*, 2016, 25(4): 460-464.
- [8] 刘明辉. MMP-9在颅内动脉瘤组织中的表达变化及其对血管平滑肌细胞凋亡的影响[J]. *山东医药*, 2017, 57(28): 88-90.
- [9] XU Y L, ZHANG M H, GUO W, et al. MicroRNA-19 restores vascular endothelial cell function in lower limb ischemia-reperfusion injury through the KLF10-dependent TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway in rats [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(11): 9303-9315.
- [10] NOVAKOVIC B, MANSELL T, SAFFERY R. Micromanaging human placental function: differential microRNA expression in fetal-placental endothelial cells of gestational diabetes pregnancies [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(2): 315-319.
- [11] DUFRESNE S, REBILLARD A, MUTI P, et al. A review of physical activity and circulating miRNA expression: implications in cancer risk and progression [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2018, 27(1): 11-24.
- [12] TIAN X, YU C, SHI L, et al. MicroRNA 199a 5p aggravates primary hypertension by damaging vascular endothelial cells through inhibition of autophagy and promotion of apoptosis [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(2): 595-602.
- [13] DÍAZ-MARTÍNEZ M, BENITO-JARDÓN L, ALONSO L, et al. miR-204-5p and miR-211-5p contribute to BRAF inhibitor resistance in melanoma [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(4): 1017-1030.
- [14] PAN J, WANG X, LI D, et al. MSCs inhibits the angiogenesis of HUVECs through the miR-211/Prox1 pathway [J]. *J Biochem*, 2019, 166(1): 107-113.
- [15] CUI R, YE S, ZHONG J, et al. MicroRNA 494 inhibits apoptosis of murine vascular smooth muscle cells in vitro [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(5): 4457-4467.
- [16] LIU Y, JIA L, MIN D, et al. Baicalin inhibits proliferation and promotes apoptosis of vascular smooth muscle cells by regulating the MEG3/p53 pathway following treatment with ox LDL [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(2): 901-913.
- [17] LIU P, SHI Y, FAN Z, et al. Inflammatory smooth muscle cells induce endothelial cell alterations to influence cerebral aneurysm progression via regulation of integrin and VEGF expression [J]. *Cell Transplant*, 2019, 28(6): 713-722.
- [18] 史源, 朱巍. 血管平滑肌细胞表型调控在颅内动脉瘤发生、发展过程中作用的研究进展[J]. *中华神经外科杂志*, 2018, 34(7): 751-754.
- [19] LIAO ZB, TAN XL, DONG KS, et al. miRNA-448 inhibits cell growth by targeting BCL-2 in hepatocellular carcinoma [J]. *Dig Liver Dis*, 2019, 51(5): 703-711.
- [20] QU X, GAO D, REN Q, et al. miR-211 inhibits proliferation, invasion and migration of cervical cancer via targeting SPARC [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(1): 853-860.
- [21] WANG C Y, HUA L, SUN J, et al. MiR-211 inhibits cell proliferation and invasion of gastric cancer by down-regulating SOX4 [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11): 14013-14020.
- [22] FENG D, AMGALAN D, SINGH R, et al. SNAP23 regulates BAX-dependent adipocyte programmed cell death independently of canonical macroautophagy [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(9): 3941-3956.
- [23] HU T, CHONG Y, LU S, et al. miR-339 Promotes Development of Stem Cell Leukemia/Lymphoma Syndrome via Downregulation of the BCL2L1 and BAX Proapoptotic Genes [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(13): 3522-3531.

(收稿日期:2019-12-25,修回日期:2020-03-05)