

在高血压动脉重建中 microRNA-21 对血管平滑肌细胞细胞外基质表达的调控作用

沈宝荣, 姚庆苹, 吴广亮, 齐颖新, 姜宗来

(上海交通大学 力学生物学研究所, 上海 200240)

摘要: **目的** 探讨在高血压动脉重建中 microRNA-21 (miR-21) 对血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的调控作用及其机制。 **方法** 建立腹主动脉缩窄型大鼠高血压模型, 大鼠分为假手术对照组、高血压 2 周组和高血压 4 周组; 对体外培养的大鼠主动脉 VSMCs 施加频率为 1.25 Hz 周期性张应变, 加载幅度分别为 0% (静态对照组)、5% (正常张应变组)、15% (模拟高血压状态的高张应变组), 加载持续时间均为 12 h。采用 Western blotting 和 Real time RT-PCR 技术, 分别检测动脉和细胞样品 ECM 以及 miR-21 的表达。用 miR-21 特异干扰片段抑制培养的 VSMCs miR-21 表达, 然后检测 VSMCs 的 ECM、miR-21 和 Smad 7 表达变化。 **结果** 与假手术对照组相比, 高血压 2 周组胸主动脉 ECM 和 miR-21 的表达显著上升; 高血压 4 周组胸主动脉的 I 型胶原、III 型胶原和 miR-21 表达显著上升。与静态对照组和 5% 张应变组相比, 15% 张应变组 VSMCs 的 I 型胶原表达无显著变化, 而 III 型胶原表达显著升高, Smad 7 表达显著下降, 周期性张应变增强 VSMCs 的 miR-21 表达。干扰 miR-21 降低周期性张应变状态下 VSMCs 的 miR-21 表达以及 III 型胶原蛋白水平表达, 上调 VSMCs 的 Smad 7 表达。 **结论** 高血压血管重建导致大鼠胸主动脉 ECM 和 miR-21 高表达。周期性高张应变可诱导 VSMCs 的 miR-21 高表达, 再通过其调节 Smad 7 蛋白, 进而调控 VSMCs 的 ECM, 尤其是 III 型胶原的表达, 参与高血压血管重建。

关键词: 周期性张应变; 血管平滑肌细胞; 细胞外基质; 血管重建; 高血压

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.3871/j.1004-7220.2015.01.001.

Regulating effect of microRNA-21 on the expression of extracellular matrix of vascular smooth muscle cells under vascular remodeling of hypertension

SHEN Bao-rong, YAO Qing-ping, WU Guang-liang, QI Ying-xin, JIANG Zong-lai

(Institute of Mechanobiology & Medical Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: **Objective** To investigate the regulating effect and mechanism of microRNA-21 (miR-21) on extracellular matrix (ECM) of vascular smooth muscle cells (VSMCs) by vascular remodeling of hypertension. **Methods** By narrowing the abdominal aorta in rats, the hypertension models were established and divided into 2-week hypertension group and 4-week hypertension group, and sham-operated group was also established as control. VSMCs from the rat aorta were subjected to 0% (static), 5% (normal) and 15% (hypertensive) elongation strain at a constant frequency of 1.25 Hz and duration of 12 hours, respectively. The expressions of Smad 7 and ECM were detected by Western blotting, and the expression of miR-21 was examined by Real-time RT-PCR. Finally, miR-21 siRNA was used to study the role of miR-21 in the mechanical strain-induced expression of ECM,

miR-21 and Smad 7. **Results** Compared with the sham-operated group, ECM and miR-21 in thoracic aorta of 2-week hypertension group were significantly elevated. Collagen I, collagen III and miR-21 in thoracic aorta of 4-week hypertension group were significantly elevated. Compared with the static and 5% strain groups, the protein expression of collagen I in VSMCs did not show significant change, but the protein expression of collagen III was significantly elevated and Smad 7 expression was significantly decreased in 15% strain group. The cyclic strain also enhanced miR-21 expression in VSMCs. miR-21 inhibitor effectively decreased the expression of miR-21 in VSMCs and protein level of collagen III, while enhanced Smad 7 expression under the static and 15% strain. **Conclusions** The vascular remodeling of hypertension causes the high expressions of ECM and miR-21. The cyclic strain induces the high expression of miR-21, which via Smad 7 results in enhancing the expression of ECM, collagen III especially, in VSMCs under vascular remodeling of hypertension.

Key words: Cyclic strain; Vascular smooth muscle cells (VSMCs); Extracellular matrix (ECM); Vascular remodeling; Hypertension

高血压血管重建是高血压的主要病理表现之一,也是导致心脑血管等终末靶器官损害的重要原因,主要表现为血管细胞形态和功能发生异常,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)表达异常。大量研究表明,血流动力学因素在血管重建中发挥重要作用。血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)是血管壁主要细胞之一,分泌多种 ECM,主要承受血管周期性张应变的作用。高血压患者血管壁的周向张应变可增加 14% ~ 18%^[1]。然而,高血压状态下的周期性高张应变如何调控 VSMCs 的 ECM 表达,以及高血压血管重建发生发展的力学生物学机制目前还不清楚。microRNAs (miRs) 是一种进化上非常保守的内源性非编码 RNA,近年来引起广泛关注。miR-21 在很多组织细胞中均有表达,在心血管系统疾病中发挥重要作用。miR-21 通过抑制 sprouty homologue 1 调控丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK),从而抑制心肌间质纤维化^[2]。miR-21 在内膜损伤诱导的新生内膜形成中起重要作用,抑制 thrombospondin-1 (TSP-1) 诱导的 VSMCs 增殖和迁移^[3]。但是 miR-21 是否参与周期性高张应变诱导 VSMCs 的 ECM 表达及其力学生物学机制,目前鲜有报道。

本研究首先建立腹主动脉缩窄型大鼠高血压模型,观察体内情况下高血压对大鼠胸主动脉 ECM 和 miR-21 表达的影响;然后,模拟高血压条件下动脉的周期性高张应变状态,对体外培养的大鼠主动脉 VSMCs 加载不同幅度的周期性张应变,进而研究周期性张应变影响 ECM 表达的机制,以明确高血压动脉高张应变作用下 miR-21 和 VSMCs 的 ECM 变化

趋势以及它们之间的关系,为探讨高血压血管重建机制提供一些力学生物学数据。

1 材料和方法

1.1 腹主动脉缩窄型大鼠高血压模型的建立^[4]

雄性 SD 大鼠,体重 200 g 左右,腹腔注射 1% 的戊巴比妥钠(1 mL/100 g 体重)麻醉后,打开腹腔,双侧肾主动脉上方游离出腹主动脉后,先剥离腹主动脉周围的组织,采用 3-0 型手术丝线将腹主动脉与 6 号针头一起结扎后,抽出针头,待腹主动脉血流通畅以后,关闭腹腔。手术组大鼠术后饲养 2 和 4 周(w),即高血压 2 w 组和 4 w 组。正常对照组大鼠进行假手术,即除不结扎腹主动脉外,其余处理均同手术组。术后,大鼠分笼饲养于控温控湿环境下,每笼 1 ~ 2 只,自由饮水进食。取材时采用颈动脉插管法测量血压,方法如下:大鼠以 1% 戊巴比妥钠溶液麻醉后,暴露右颈总动脉(right carotid artery, RCA)并游离;结扎 RCA 远心端,待血管充盈后,用动脉夹夹闭其近心端使之形成动脉盲管。将肝素钠溶液润过的动脉留置针(外径 0.7 mm)小心插入血管约 3 mm 后轻轻抽出内芯针头,剩余的外管继续往里推直到动脉夹处停止,结扎插管以防脱落,将其与压力探头三通管相连接,固定探头。松开颈总动脉上的动脉夹,显示血压波形,随后开始采集血压波形数据。压力探头与多通道生理信号记录仪相连,将血压数值波形传输给计算机实现实时监控。打开生理信号记录仪自带软件 BSL PRO 3.6.7,设置参数、采样频率(200 点/s)和采样时间(3 min)。测得假手

术组平均血压为(130.9 ± 13.70) mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 而术后 2 w 组为(194.5 ± 25.40) mmHg, 术后 4 w 组为(165.6 ± 2.1) mmHg, 说明高血压大鼠模型建立成功, 可用于后续实验。

1.2 细胞周期性张应变加载

应用 Flexercell 4000T 细胞周期性张应变加载装置, 对 VSMCs 进行张应力加载^[5]。原代 VSMCs 采用组织贴块法培养^[5], 具体步骤如下: SD 大鼠麻醉处死后, 取胸主动脉, 置于含有 10% 小牛血清的 DMEM 培养液中, 用眼科剪将其剪成 1 mm² 大小的组织块, 均匀铺展在细胞培养瓶中, 倒置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 2 ~ 3 h, 待组织块贴壁牢固后, 正置培养瓶。以后, 隔天换液, 4 ~ 7 d 后, 可见组织块的周围有细胞爬出, 待细胞长到融合状态, 便可以传代培养。取第 4 ~ 8 代且纯度 > 95% 的 VSMCs 用于后续实验。以每孔 2 × 10⁵ 个细胞密度种植于 Bioflex 6 孔培养板里, 当细胞达到 70% ~ 80% 融合时换成无血清 DMEM 培养液, 细胞同步化 24 h 后, 应用 Flexercell 细胞应变加载系统, 对 VSMCs 施加不同幅度周期性张应变, 加载频率 1.25 Hz, 加载时间均为 12 h。本实验根据施加的周期性张应变的幅度, 将实验分为 3 组: 静态组、5% 正常张应变组和 15% 高张应变组。

1.3 Western blotting 检测

取血管组织样品用液氮研磨, 加 2 × 上样缓冲液裂解。取张应变加载或受其他刺激结束后的细胞样品, 也分别加 2 × 上样缓冲液, 在冰上裂解 30 min。待组织和细胞样品充分裂解后, 再分别 12 000 r/min 离心, 收集裂解液上清进行电泳。本实验采用 SDS-PAGE 电泳, 具体步骤如下: 10% ~ 12% 的 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白, 电压 60 ~ 100 V, 蛋白上样量 10 ~ 20 μg; 半干式电转仪恒压 15 V, 转膜 50 min; 含 5% 脱脂奶粉的 TBST 室温封闭 1 h; 用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 按比例稀释一抗, 一抗浓度如下: Collagen I (Santa Cruz Biotechnology, 1 : 500), Collagen III (Santa Cruz Biotechnology, 1 : 500), Smad 7 (Epitomics, 1 : 500) 和 GAPDH (Santa Cruz Biotechnology, 1 : 600), 放置于湿盒中, 4 °C 反应过夜; 次日, 1 × TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min; 二抗 (碱性磷酸酶标记) 同样用 1 × TBST 按 1 : 500 ~ 1 : 1 000 的比例稀释后室温反应 2 h; 1 × TBST 洗膜 3 次, 每

次 5 min; 加 NBT/BCIP 显色液膜上显色; 扫描后使用一维分析软件 Quantity One (BIO-RAD 公司) 进行图像灰度分析。

1.4 RT-PCR 检测

取血管组织和张应变加载结束时的细胞, 分别用 TRIzol 法提取组织和细胞总 RNA, 步骤如下: 每 1 mL TRIzol 提取液加 0.2 mL 氯仿, 用手振荡 15 s, 室温静置 2 ~ 3 min。提前预冷离心机至 4 °C, 12 000 g 离心 15 min。将上层水相移入一个新的 EP 管中, 每管加入 0.5 mL 异丙醇, 室温静置 10 min。4 °C, 12 000 g 离心 10 min。离心结束后小心吸掉上清, 再加入 75% 冰乙醇 1 mL 洗涤, 4 °C, 7 500 g 离心 5 min。真空干燥离心后的 RNA, 加适量的 DEPC 处理水溶解, 分光光度计测定 OD₂₆₀ 和 OD₂₈₀ 读值, OD₂₆₀/OD₂₈₀ > 1.9 表示 RNA 纯度较高无污染。计算 RNA 浓度。逆转录和 PCR 过程应用 miR-21 特异性反转录和 PCR 试剂盒 (上海吉玛制药技术有限公司), 具体步骤参照试剂盒说明书。

1.5 RNA 干扰技术

由上海吉玛生物制药公司设计并化学合成 miR-21 siRNA (siRNA: 5'-UCAACAUCAGUCUGAUAAGCUA-3'; NC: 5'-CAGUACUUUUGUGUAGUACAA-3')

静态培养下 VSMCs 的 miR-21 干扰实验, 分为对照组和 miR-21 干扰组。张应变加载条件下的 miR-21 干扰实验, 同样分为对照组和 miR-21 干扰组。用 6 孔 Bio-Flex 细胞培养板进行 RNA 干扰, 步骤如下: ① 取 250 μL opti-MEM 加入 100 nmol siRNA / NC, 轻轻混匀, 作为 Mix1 溶液; ② 取 250 μL opti-MEM 加入 5 μL Lipofectamine™ 2000, 轻轻混匀, 混匀后室温放置 5 min, 作为 Mix2 溶液; ③ 将上述 Mix1 和 Mix2 溶液混合均匀, 作为 Mix3 溶液并在室温放置 20 min; ④ 用基础培养 DMEM 将 6 孔细胞培养板内 VSMCs 漂洗 2 次, 每孔预留 500 μL DMEM。加入 Mix 溶液, 混匀后置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养; ⑤ 6 h 后每孔补加 1 mL DMEM, 之后继续置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱培养。18 h 后, 将 Bio-Flex 6 孔板在 Flexercell 周期性张应变加载系统中进行力学加载, 加载时间为 12 h, 加载幅度为 15%, 频率为 1.25 Hz, 12 h 后取样。

1.6 统计学方法

所有实验独立重复至少3次。各组间实验数据以均数±标准差表示。两组数据间的差异采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 高血压大鼠胸主动脉 ECM 表达增加

为了观察高血压对大鼠胸主动脉 ECM 表达的影响,Western blotting 检测胶原纤维的表达。与假手术对照组相比,高血压 2 w 组和 4 w 组 I 型胶原和 III 型胶原都显著上升 ($P < 0.05$),表明高血压诱导了大鼠主动脉 ECM 的高表达(见图 1)。

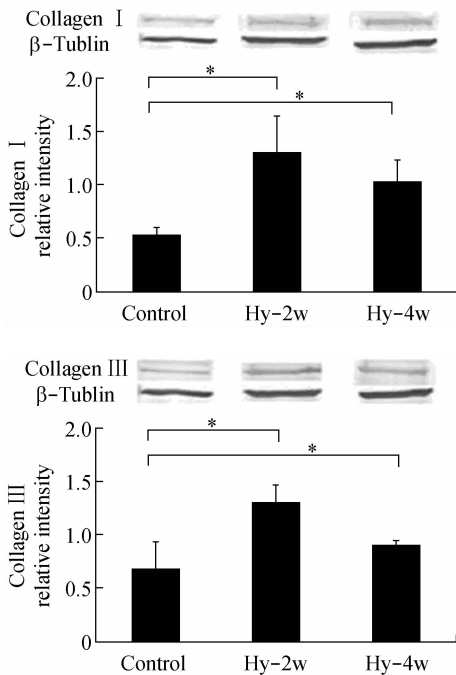


图1 腹主动脉缩窄型高血压使胸主动脉 ECM 表达增加 ($n=4, *P < 0.05$)

Fig.1 Hypertension induced by narrowing the abdominal aorta increased the expression of ECM

2.2 高血压大鼠胸主动脉 miR-21 表达增加

为了观察高血压对大鼠胸主动脉 miR-21 表达的影响,采用 Real time RT-PCR 检测 miR-21 表达。与假手术对照组相比,高血压 2 w 组和 4 w 组胸主动脉 miR-21 的表达均显著上调,且高血压 4 w 组 miR-21 表达高于 2 w 组 ($P < 0.05$),表明高血压促进大鼠胸主动脉 miR-21 的表达,且有随高血压进程而增加的趋势(见图 2)。

趋势(见图 2)。

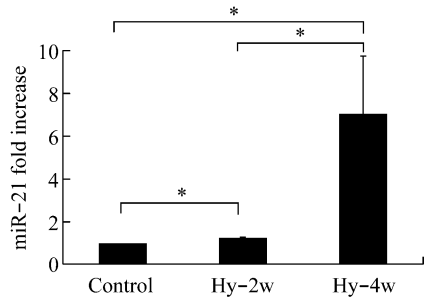


图2 腹主动脉缩窄型高血压促进胸主动脉 miR-21 的表达 ($n=4, *P < 0.05$)

Fig.2 Hypertension induced by narrowing the abdominal aorta increased miR-21 expression

2.3 周期性高张应变诱导 III 型胶原表达上升

鉴于高血压大鼠胸主动脉的 ECM 表达有改变,进一步检测张应变作用下 VSMCs 的 ECM 表达有无变化。张应变加载 12 h 后,与静态及 5% 张应变组相比,15% 张应变组 VSMCs 的 I 型胶原表达无显著变化,III 型胶原表达上升 ($P < 0.05$,见图 3)。

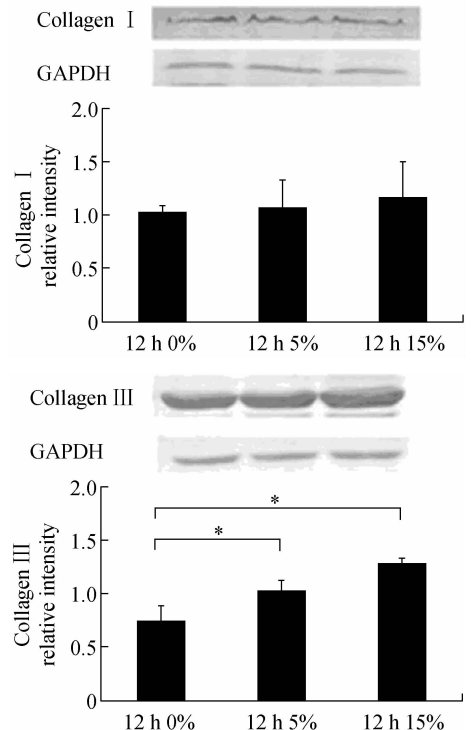


图3 15%周期性张应变促进 III 型胶原表达 ($n=3, *P < 0.05$)

Fig.3 15% cyclic strain promoted expression of collagen III

2.4 周期性高张应变促进 miR-21 表达,抑制 Smad 7 表达

检测周期性张应变对 VSMCs 的 miR-21 表达的影响。RT-PCR 检测结果显示,15% 张应变组 VSMCs 的 miR-21 表达显著升高 ($P < 0.05$),表明病理性周期性高张应变促进了 VSMCs 的 miR-21 表达。这一结果基本可与上述体内研究的结果相互印证。

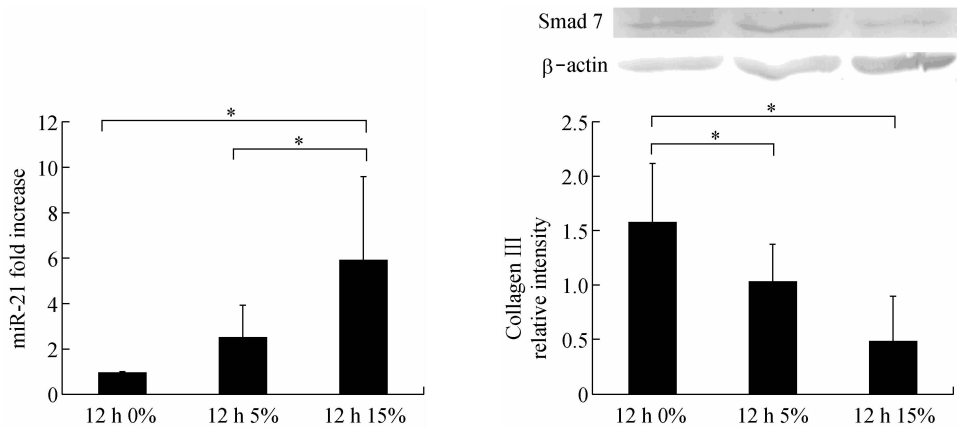


图4 周期性高张应变促进大鼠 VSMC smiR-21 的表达并下调大鼠 VSMCs 的 Smad 7 表达

Fig.4 Cyclic stretch enhanced miR-21 expression in VSMCs and decreased Smad 7 expression in VSMCs

2.5 抑制 miR-21 后显著抑制 III 型胶原表达,但使 Smad 7 表达增加

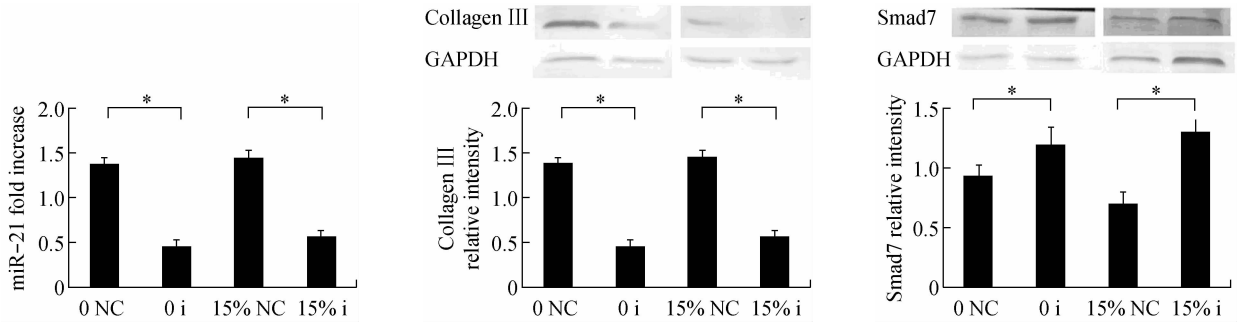
上述研究提示,15% 高张应变作用于 VSMCs 之后,VSMCs 的 III 型胶原表达升高,同时伴随着 miR-21 的表达升高,两者呈正相关。采用 miR-21 抑制因子下调 miR-21 的表达,探讨在周期性张应变的作用下,miR-21 与 VSMCs 的 ECM 表达之间的关系。RT-PCR 检查结果显示,miR-21 抑制因子处理 VSMCs 24 h 后,miR-21 表达明显下降,下调达到 70% 以上 ($P < 0.05$),说明 miR-21 抑制因子的抑制有效,可以进行下一步实验。然后,检测 miR-21 下调表达后 VSMCs 的 III 型胶原表达水平。与静态对照组相比,静态抑制组 III 型胶原表达下降 ($P < 0.05$);15% 张应变组与对照组相比,miR-21 抑制因子明显降低了 III 型胶原的表达 ($P < 0.05$),说明 miR-21 参与了 VSMCs III 型胶原表达的调控。为了探讨在周期性张应变作用下 miR-21 调控 VSMCs 的 ECM 表达变化机制,采用同样转染方法,Western blotting 检测 VSMCs 的 Smad 7 蛋白表达水平。与静态条件下对照组相比,静态干扰组使得 Smad 7 的表达上升 ($P < 0.05$)。

采用预测 miRs 靶标算法 TargetScan 预测出 Smad 7 3' UTR 为小鼠 miR-21 的一个靶标。检测在周期性张应变条件下 miR-21 预测靶标 Smad 7 蛋白的表达变化趋势。Western blotting 结果显示,张应变加载 12 h 后,与静态组相比,5% 和 15% 张应变组 VSMCs 的 Smad 7 表达均显著下调 ($P < 0.05$),表明张应变抑制了 VSMCs 的 Smad 7 表达(见图 4)。

与 15% 张应变条件下的对照组相比,15% 干扰组的 Smad 7 表达上升 ($P < 0.05$),说明在周期性张应变作用下,miR-21 对 VSMCs 的 ECM 表达调控可能与 Smad 7 相关的信号通路有关(见图 5)。

3 讨论

在高血压血管重建的过程中,由于血压升高,血管张力升高、大动脉 VSMCs 活化和 ECM 成分表达异常导致血管壁肥厚,刚度增加,血管纤维化。血管中膜 VSMCs 主要承受周期性周向张应变的作用。因此,研究周期性张应变影响血管壁 ECM 表达的调控,探讨高血压血管重建发生发展的力学生物学机制,对于高血压等心血管疾病的防治具有重要的理论和实际意义。本研究首先复制主动脉缩窄型高血压模型,探讨高血压对胸主动脉 ECM 表达的影响。结果表明,高血压状态下,胸主动脉 ECM 表达异常,胶原蛋白显著增多。然后,以离体细胞张应变加载实验,探讨高血压诱导动脉 ECM 异常表达的机制。在生理状态下,体内 VSMCs 承载血管周期性正常张应变(约 5%),而在高血压病理情况下血管周向张应变可增



0 NC 表示静态下的随机抑制序列;0 i 表示加入 miR-21 抑制因子;15% NC 表示在 15% 的牵拉条件下加入的随机抑制序列;15% i 表示在 15% 的牵拉条件下加入的 miR-21 抑制因子

图5 无论在静态条件还是 15% 张应变条件下,干扰 miR-21 降低周期性张应变导致的 miR-21 表达,以及 VSMCs 的 III 型胶原蛋白水平表达,同时增强 VSMCs 的 Smad 7 表达($n = 3$, $*P < 0.05$)

Fig. 5 siRNA miR-21 inhibited the up-regulation of miR-21 induced by cyclic strain and decreased the expression of collagen III, and enhanced the expression of Smad 7 in VSMCs under either static conditions or 15% cyclic stretch

大,例如高血压患者肱动脉的周向张应变可高达 14.2% ~ 8.6%^[1,6]。因此,在体外采用 Flexercell 细胞张应变加载系统模拟高血压病理条件,对大鼠主动脉 VSMCs 施加 15% 幅度的病理性高张应变,以 5% 正常张应变加载和未加载张应变的静态细胞为对照。然后,检测张应变作用下 VSMCs 的 ECM 表达变化,发现周期性张应变诱导 VSMCs III 型胶原的表达。这一结果验证说明高血压状态下,胸主动脉 ECM 表达异常,胶原蛋白显著增多。胶原蛋白是一种非常刚性的蛋白,它的刚性约为弹性蛋白的 100 倍,具有限制血管膨胀的作用^[7]。因此,血管壁胶原蛋白的过度表达会导致血管刚性增加,这是高血压血管重建一个非常显著的特征。

近年来,有关 miR-21 在心血管生物学和疾病机制研究中得到极大关注,主要是因为 miR-21 在一系列心血管疾病及血管纤维化中起着重要的调节作用。研究表明,大鼠和人心衰状态下心肌中 miR-21 表达上升,尤其在心脏成纤维细胞中,miR-21 显著上升。在心肌梗死或者心衰状态下,miR-21 表达进一步上升。随之,miR-21 的表达水平与心脏纤维化正相关,当体内采用 miR-21 抑制因子使 miR-21 下调,心脏纤维化被逆转^[8]。肺纤维化小鼠模型和患者肺中也均发现 miR-21 上升,当加入 miR-21 反义核苷酸探针时,小鼠模型的肺纤维化程度减小;TGF- β 1 为纤维化疾病的一个主要的生理调节者,上调肺部成纤维细胞 miR-21 表达上升。上调 miR-21 促进而下调 miR-21 则减弱成纤维细胞 TGF- β 1 的促纤维化作用^[9]。本

研究高血压动物模型体内实验数据表明,高血压条件下血管 miR-21 的表达显著上升。那么,miR-21 是否参与在高血压血管 ECM 表达的调节? 离体实验结果表明,病理性张应变诱导 VSMCs 的 miR-21 表达,而在静态条件下,用 miR-21 抑制因子抑制 miR-21 的表达,导致 VSMCs 的 III 型胶原升高,说明高血压诱导调节因子 miR-21 的表达,而 miR-21 参与高血压条件下血管 III 型胶原表达的调控。

miR-21 可能通过抑制靶蛋白 Smad 7 的表达,从而抑制肾小管上皮细胞的增殖^[10]。本文通过预测 miR 靶标的一种算法 TargetScan,也预测出 Smad 7 3' UTR 为小鼠 miR-21 的一个靶标。近年来有关 Smad 7 的作用经常出现在 TGF- β 信号通路研究中^[11],在该信号通路中,有 2 个抑制性 Smad 6 与 Smad 7。Smad 7 是通过抑制 TGF- β 信号通路来抑制纤维化作用,具体表现为 Smad 7 通过抑制 Smad 2/3 的磷酸化从而抑制胶原蛋白的表达^[12-13],减轻纤维化的症状。本研究发现,在病理性周期性高张应变作用下,胶原蛋白表达增加,Smad 7 表达下降;在 miR-21 表达下调时,Smad 7 表达增加,胶原蛋白表达下降。miR-21 可能通过 Smad 7 对胶原蛋白的表达起着直接或间接的调控作用,说明 Smad 7 可能通过参与血管胶原蛋白表达调控,进而参与对血管纤维化的负调控。Smad 7 可能负调控血管纤维化的最新结果提示,Smad 7 将有可能成为治疗血管纤维化的一个新靶标。然而 Smad 7 如何精确负调控血管胶原蛋白表达,进而负调控血管纤维化的具体机制,尚待今后进一步的探讨。

综上所述,高血压状态下,血管 ECM 表达异常,发生血管重建。miR-21 通过其下游调控 Smad 7 蛋白,进而调控 VSMCs 的 ECM,尤其是 III 型胶原的表达,参与高血压血管重建。

参考文献:

- [1] Safar ME, Perronenu PA, Levenson JA, *et al.* Pulsed doppler: Diameter, blood flow velocity, and volumic blood flow of the brachial artery in sustained essential hypertension [J]. *Circulation*, 1981, 63(2): 393-400.
- [2] Thum T, Gross C, Fiedler J, *et al.* miR-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts [J]. *Nature*, 2008, 456(7224): 980-984.
- [3] Stein JJ, Iwuchukwu C, Maier KG, *et al.* Thrombospondin-1-induced vascular smooth muscle cell migration and proliferation are functionally dependent on microRNA-21 [J]. *Surgery*, 2014, 55(2): 228-233.
- [4] 孔翰, 张明亮, 严志强, 等. 高血压与低切应力对大鼠颈总动脉血管重建的影响 [J]. *医用生物力学*, 2011, 26(2): 109-115.
Kong H, Zhang ML, Yan ZQ, *et al.* Effects of hypertension and low shear stress on common carotid remodeling in rats [J]. *J Med Biomech*, 2011, 26(2): 109-115.
- [5] Qu MJ, Liu B, Wang HQ, *et al.* Frequency-dependent phenotype modulation of vascular smooth muscle cells under cyclic mechanical strain [J]. *J Vasc Res*, 2007, 44(5): 345-353.
- [6] Williams B. Mechanical influences on vascular smooth muscle cell function [J]. *J Hypertens*, 1998, 16(12): 1921-1929.
- [7] González JM, Briones AM, Starcher B, *et al.* Influence of elastin on rat small artery mechanical properties [J]. *Exp Physiol*, 2005, 90(4): 463-468.
- [8] Roy S, Khanna S, Hussain SRA, *et al.* MicroRNA expression in response to murine myocardial infarction: miR-21 regulates fibroblast metalloprotease-2 via phosphatase and tensin homologue [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 82(1): 21-29.
- [9] Liu G, Friggeri A, Yang Y, *et al.* miR-21 mediates fibrogenic activation of pulmonary fibroblasts and lung fibrosis [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(8): 1589-1597.
- [10] Lin L, Gan H, Zhang H, *et al.* MicroRNA21 inhibits SMAD7 expression through a target sequence in the 3' untranslated region and inhibits proliferation of renal tubular epithelial cells [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(2): 707-712.
- [11] Al-Shabanah OA, Aleisa AM, Hafez MM, *et al.* Desferrioxamine attenuates doxorubicin-induced acute cardiotoxicity through TGF- β /Smad p53 pathway in rat model [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2012, 93: 71-81.
- [12] Dooley S, Hamzavi J, Breitkopf K, *et al.* Smad 7 prevents activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis in rats [J]. *Gastroenterology*, 2003, 125(1): 178-191.
- [13] Li JH, Zhu HJ, Huang XR, *et al.* Smad 7 inhibits fibrotic effect of TGF- β on renal tubular epithelial cells by blocking Smad 2 activation [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(6): 1464-1472.