

## miR-155 抑制 Ang II 诱导的主动脉血管平滑肌细胞周期转换

张紫微<sup>1,2</sup>, 杨丽霞<sup>2\*</sup>, 郭瑞威<sup>2</sup>, 吕晋琳<sup>1,2</sup>, 陆霓虹<sup>1,2</sup>, 王先梅<sup>2</sup>, 石燕昆<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>昆明医科大学昆明总医院临床学院, 云南 昆明 650500; <sup>2</sup>成都军区昆明总医院心内科, 云南 昆明 650032)

**[摘要]** **目的:** 观察转染 miR-155 后对血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 诱导小鼠主动脉血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 细胞周期转换的影响并探讨其机制。**方法:** 原代培养小鼠 VSMC, 用  $1 \times 10^{-6}$  mol/L Ang II 作用于 VSMC 48 h 后, 采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, q-RT-PCR) 检测空白对照组及 Ang II 组 miR-155 表达水平。用 q-RT-PCR 及 Western blot 检测分别转染 miR-155 及阴性对照后各组 Ang II 1 型受体 (angiotensin II type 1 receptor, AT1R) 的 mRNA 及蛋白表达水平; 用 Western blot 检测转染 miR-155 mimic 及阴性对照后对 AT1R 下游细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)、核糖体蛋白 S6 激酶 (P70S6K1) 通路的影响。分别检测转染 miR-155 mimic 及使用血管紧张素受体阻滞剂缬沙坦、mTOR 通路抑制剂雷帕霉素、ERK1/2 抑制剂 U0126 对细胞周期素 D1 (Cyclin D1) 的表达影响, 并使用流式细胞分析检测细胞周期变化, 探讨 miR-155 对细胞周期的影响及其机制。**结果:** Ang II 可显著降低 miR-155 的表达。miR-155 可从 mRNA 及蛋白水平抑制 AT1R 表达, 并抑制 Ang II 促 AT1R 表达的作用。转染 miR-155 mimic 后可显著抑制 Ang II 促进 ERK1/2、P70S6K1 通路激活的作用。转染 miR-155 mimic、使用缬沙坦、雷帕霉素、U0126 抑制 Ang II 促 Cyclin D1 表达的作用, 并使细胞周期阻滞在 G0/G1 期。**结论:** miR-155 可通过抑制 AT1R 间接抑制 Ang II 促进 ERK1/2、P70S6K1 通路激活及 Cyclin D1 表达的作用, 抑制 Ang II 促进细胞周期转换的作用。

**[关键词]** miR-155; 血管紧张素 II; 血管平滑肌细胞; 细胞周期

**[中图分类号]** R392.2\*8

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2017)03-0281-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20170305

## Inhibition of miR-155 on Ang II -stimulated cell cycle progression of vascular smooth muscle cells

Zhang Ziwei<sup>1,2</sup>, Yang Lixia<sup>2\*</sup>, Guo Ruiwei<sup>2</sup>, Lü Jinlin<sup>1,2</sup>, Lu Nihong<sup>1,2</sup>, Wang Xianmei<sup>2</sup>, Shi Yankun<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Clinical School of Kunming General Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650500; <sup>2</sup>Department of Cardiology, Kunming General Hospital of Chengdu Military Area, Kunming 650032, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of miR-155 on cell cycle progression of mice vascular smooth muscle cells under treatment of Ang II, and explore the detailed mechanism. **Methods:** The vascular smooth muscle cells (VSMCs) derived from C57 mice were cultured by the adherent method ( $1 \times 10^{-6}$  mol/L Ang II for 48 h). Quantitative real-time PCR (q-RT-PCR) was performed to detect the miR-155 expression levels of the blank control group and the Ang II group. q-RT-PCR and Western blot assay were performed to detect the mRNA and protein levels of angiotensin II type 1 receptor (AT1R) in the transfected miR-155 group and the negative control group; Western blot assay was performed to detect the effect of transfected miR-155 mimics and negative control group on extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) of AT1R downstream and ribosomal protein S6 kinase (P70S6K1) signaling pathway. The expression of cyclin D1 (Cyclin D1) was examined by transfection of miR-155 mimics, angiotensin receptor blocker valsartan, mTOR pathway inhibitor rapamycin, and ERK1/2 inhibitor U0126. In the end, we used flow cytometer to analyze the change of cell cycle to investigate the effect of miR-155 on cell cycle and its mechanism. **Results:** Ang II significantly decreased the expression of miR-155. miR-155 mimics remarkably attenuated AT1R expression from mRNA and protein levels, inhibited the Ang II-activated ERK1/2 and P70S6K signaling pathway, and decreased the Ang II-enforced expression of Cyclin D1. Transfection of miR-155, valsartan, rapamycin and U0126 suppressed the Ang II-induced G1-to S-phase progression of VSMC. **Conclusion:** MiR-155 can inhibit the expression of Ang II-induced ERK1/2, activation of P70S6K1 signaling pathway, and Cyclin D1 by blocking AT1R, and thereby inhibit the function of Ang II-induced cell cycle transition.

**[Key words]** miR-155; Ang II; vascular smooth muscle cell; cell cycle

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81170250)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: doctorlx yang@126.com

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(03): 281-286, 334]

血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 作为肾素-血管紧张素-醛固酮系统的重要成员,在体内作用十分广泛,如调节电解质平衡、血管张力等<sup>[1]</sup>。但其作为一种生长因子的功能亦越来越受到重视,它可通过与血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 胞膜上血管紧张素 II 1 型受体 (angiotensin II type 1 receptor, AT1R) 结合,将细胞增殖信号转导至细胞内,促进 VSMC 细胞周期从 G0/G1 期向 S 期转换,从而发挥促增殖作用,使血管发生重构,是动脉粥样硬化、血管再狭窄等疾病发生的关键因素之一<sup>[2]</sup>。

微小 RNA (micro RNA, miRNA) 是一类广泛存在的、可调控靶基因表达的内源性非编码单链 RNA 分子,miRNA 几乎参与了所有的细胞生物学功能<sup>[3]</sup>。多项研究显示 miRNA 可参与冠心病、高血压、心衰等心血管疾病的发生发展,并可作为心血管疾病的诊断及预后判断标志<sup>[4-7]</sup>。作为一种多功能 miRNA, miR-155 通过作用不同靶基因与肿瘤、炎症、自噬等关系密切<sup>[8-9]</sup>,有研究显示 miR-155 可通过作用靶基因 AT1R 参与心血管疾病的发生发展<sup>[10-12]</sup>,而 AT1R 下游最常见的两大通路细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2) 及雷帕霉素靶蛋白/核糖体蛋白 S6 激酶 (mTOR/P70S6K1) 均参与细胞增殖及周期转换,因此猜想 miR-155 可能通过调节 AT1R 表达参与 Ang II 诱导的细胞周期转换过程,本研究将采用小鼠原代 VSMC 为研究对象,采用流式细胞分析转染 miR-155 对 Ang II 诱导的 VSMC 细胞周期转换的影响,并探索其机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

C57 小鼠由昆明医科大学实验动物中心提供,DMEM 高糖培养基、胎牛血清、0.25%EDTA 胰蛋白酶、免疫组化试剂盒、TRIzol 试剂、逆转录试剂盒、PVDF 膜、Lipofectamine 2000 (Invitrogen 公司,美国),定量 PCR 试剂盒、miR-155 mimic 及阴性对照 (negative control, NC)、miR-155 inhibitor 及 NC、染料法 miRNA-155 定量检测试剂盒 (上海吉玛公司)。单克隆抗体:AT1R 抗体 (Abcam 公司,美国),p-ERK1/2、ERK1/2、p-P70S6K1 抗体 (CST 公司,美国),P70S6K1、Cyclin D1 抗体 (proteintech 公司,美国)。Ang II、mTOR 通路抑制剂雷帕霉素 (Sigma 公司,美国),血管紧张素受体阻滞剂缬沙坦 (大连美仑公司),

ERK1/2 抑制剂 U0126 (Promega 公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 VSMC 原代培养与传代

无菌条件下取出 C57 小鼠主动脉,去除外膜及内膜,磷酸盐缓冲液冲洗 3 次后将中膜剪成约 1 mm<sup>3</sup> 大小的组织块,种植于 25 cm<sup>2</sup> 塑料培养瓶,加入含青霉素和链霉素及含 10% 胎牛血清的高糖细胞培养基 3~5 mL,使其浸入培养液,放入 37℃ 恒温箱培养,5~7 d 后可见细胞爬出,呈贴壁生长。用胰蛋白酶消化后制成细胞悬液,接种于培养瓶或 96 孔培养板。选取第 3 代细胞进行形态学及免疫组化鉴定,第 4~8 代细胞用于实验。

#### 1.2.2 转染

采用 Lipofectamin2000 法分别将 miR-155 mimic 及 NC、miR-155 inhibitor 及 NC 转染 VSMC,使用 qRT-PCR 检测转染效率,mimic 及 inhibitor 的最终转染浓度分别为 80、50 nmol/L。

#### 1.2.3 实时荧光定量 PCR

Trizol 法提取总 RNA,取不同浓度、不同时间 Ang II 处理组细胞总 RNA 500 ng 为模板,分光光度计测量  $D(260\text{ nm})/D(280\text{ nm})$  为 1.8~2.0,逆转录 cDNA 进行定量 PCR,引物序列如下:AT1R 上游 5'-AACAGCTTGCTGCTGATCGTC-3',下游 5'-CATAGCGGTATAGACAGCCCA-3'; $\beta$ -actin 上游 5'-CATCCGTAAGACCTCTATGCCAAC-3',下游 5'-ATGGAGCCACCGATCCACA-3';mmu-miR-155 上游 5'-ACGCTCAGTTAATGCTAATTGTGAT-3',下游 5'-TATGTTTTGACGACTGTGTGAT-3';U6 上游 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3',下游 5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3'。总反应体积 25  $\mu$ L,采用两步法:第一步 95℃ 10 min;第二步 95℃ 15 s,60℃ 60 s,40 个循环。每组设 3 个复孔,反应结束后确认解离曲线,用软件 DataAssist™ v3.0 Software (ABI) 以 2<sup>- $\Delta\Delta$</sup>  法对结果进行分析。

#### 1.2.4 Western blot 检测蛋白表达

将各处理组血管平滑肌细胞用胰酶消化,预冷 PBS 洗 3 次,加入适量 RIPA 裂解液,冰浴 30 min;4℃ 12 000 r/min 离心 5 min;取上清,用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白变性后取 40  $\mu$ g 于 10% SDS-PAGE 行细胞蛋白电泳,转于 PVDF 膜上。5% 的脱脂奶粉溶液室温封闭过夜,一抗 1:500~1:1 000 稀释,4℃ 孵育过夜;第 2 天将二抗 1:5 000 稀释,室温孵育 1 h,漂洗;配制 ECL 显色试剂,将膜放于 Bio-Rad 化学发光仪中,滴加适量的 ECL 发光液后,进行曝

光。最后采用 Quantity One 软件计算各组灰度值与  $\beta$ -actin 的比值,定量分析蛋白表达水平。

### 1.2.5 流式细胞检测

各组细胞处理完毕后,加入适量胰酶消化,离心,PBS 冲洗制成细胞悬液,加入预冷 70%乙醇,4℃ 固定 1~4 h,离心去除固定液,11 mL 预冷 PBS 重悬细胞,加入 100  $\mu$ L PI 染色液使终浓度为 100  $\mu$ g/mL,避光染色 30 min,上流式细胞仪(Par-Tec)检测,分析细胞周期变化。

### 1.3 统计学方法

用 SPSS 17.0 进行统计分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准误( $\bar{x}\pm S\bar{x}$ )表示,多组间比较采取 one way-ANOVA 方差分析,组间两两比较采取 Tukey 法, $P\leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 小鼠原代 VSMC 的鉴定

倒置相差显微镜下观察原代培养的大鼠 VSMC,细胞贴壁生长,形态多为长梭形,胞质丰富,单层或多层平行排列生长。将 VSMC 用特异性的  $\alpha$ -actin 抗体进行免疫组化鉴定,镜下可见细胞质内有棕黄色颗粒沉淀为阳性(图 1)。

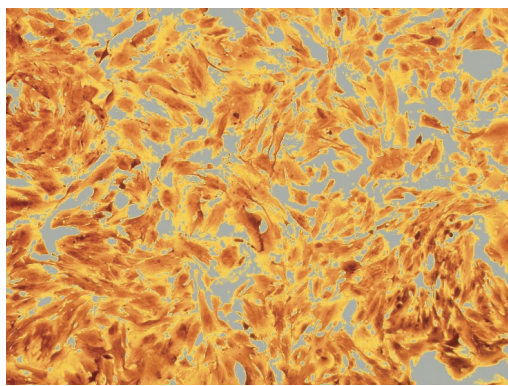


图 1 小鼠原代 VSMC  $\alpha$ -actin 免疫组化鉴定( $\times 100$ )

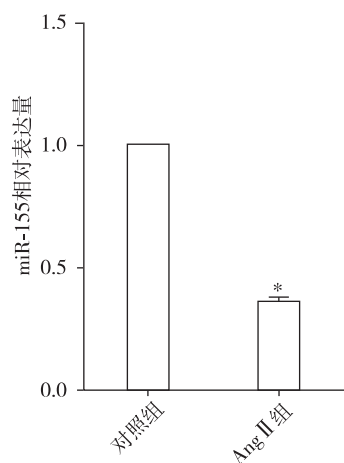
Figure 1 Immunohistochemistry for  $\alpha$ -actin of mouse VSMC( $\times 100$ )

### 2.2 Ang II 降低 VSMC 内 miR-155 的表达

用  $1\times 10^{-6}$  mol/L Ang II 作用于 VSMC 48 h 后,采用 q-RT-PCR 检测 miR-155 表达水平的变化。结果显示与对照相比,Ang II 可降低 miR-155 表达水平,差异有统计学意义( $P<0.01$ ,图 2)。

### 2.3 miR-155 转染表达检测

用 q-RT-PCR 分别检测转染 miR-155 mimic, inhibitor 及阴性对照组后 miR-155 表达水平的改变,结果显示,相对于空白组和阴性对照组来说,转染 miR-

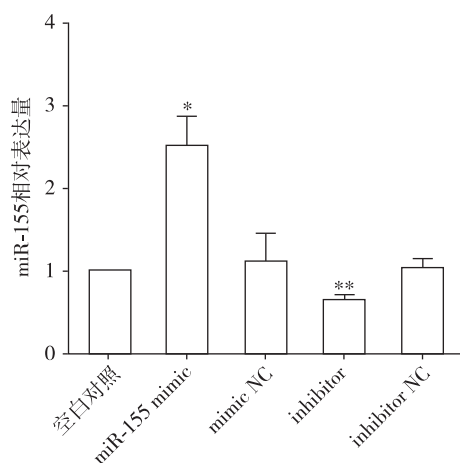


与对照组比较,\* $P<0.01$ ( $n=5$ )。

图 2 Ang II 对 miR-155 表达的影响

Figure 2 Effect of Ang II on miR-155 expression

155 mimic 后显著增加 miR-155 表达水平,而转染 miR-155 inhibitor 后则显著降低 miR-155 表达水平(图 3)。



与空白对照组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ , $n=5$ 。

图 3 转染 miR-155mimic、inhibitor 及阴性对照后 miR-155 的表达情况

Figure 3 Expression of miR-155 in each group was detected using q-RT-PCR

### 2.4 miR-155 抑制 AT1R 表达

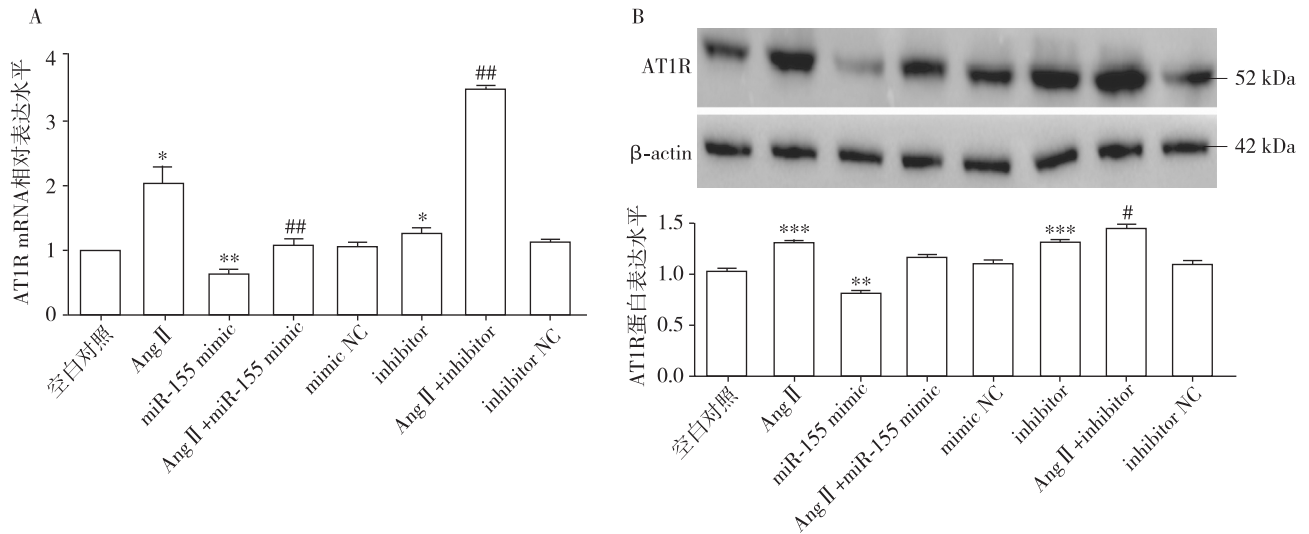
与对照组相比,转染 miR-155 mimic 后可在 mRNA 及蛋白层面上减少 AT1R 表达,差异有显著性,而转染 miR-155 inhibitor 后则可增加 AT1R 表达。用  $1\times 10^{-6}$  mol/L Ang II 作用于 VSMC 48 h 后可显著增加 AT1R 表达,而转染 miR-155 mimic 后可减弱 Ang II 促 AT1R 蛋白表达的作用,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),相反转染 miR-155 inhibitor 后则可进一步增强 Ang II 促进 AT1R 蛋白表达作用( $P<0.05$ ,图 4)。

### 2.5 miR-155 抑制 AT1R 下游 ERK1/2、P70S6K1 通路激活

用  $1 \times 10^{-6}$  mol/L Ang II 作用于 VSMC 48 h, 可见 AT1R 下游 ERK1/2、P70S6K1 蛋白磷酸化水平显著增高, 相比 Ang II 组与转染阴性对照组, 转染 miR-155 可显著减少 ERK1/2、P70S6K1 蛋白磷酸化水平, 抑制 Ang II 促进 ERK1/2、P70S6K1 通路活化的作用(图5)。

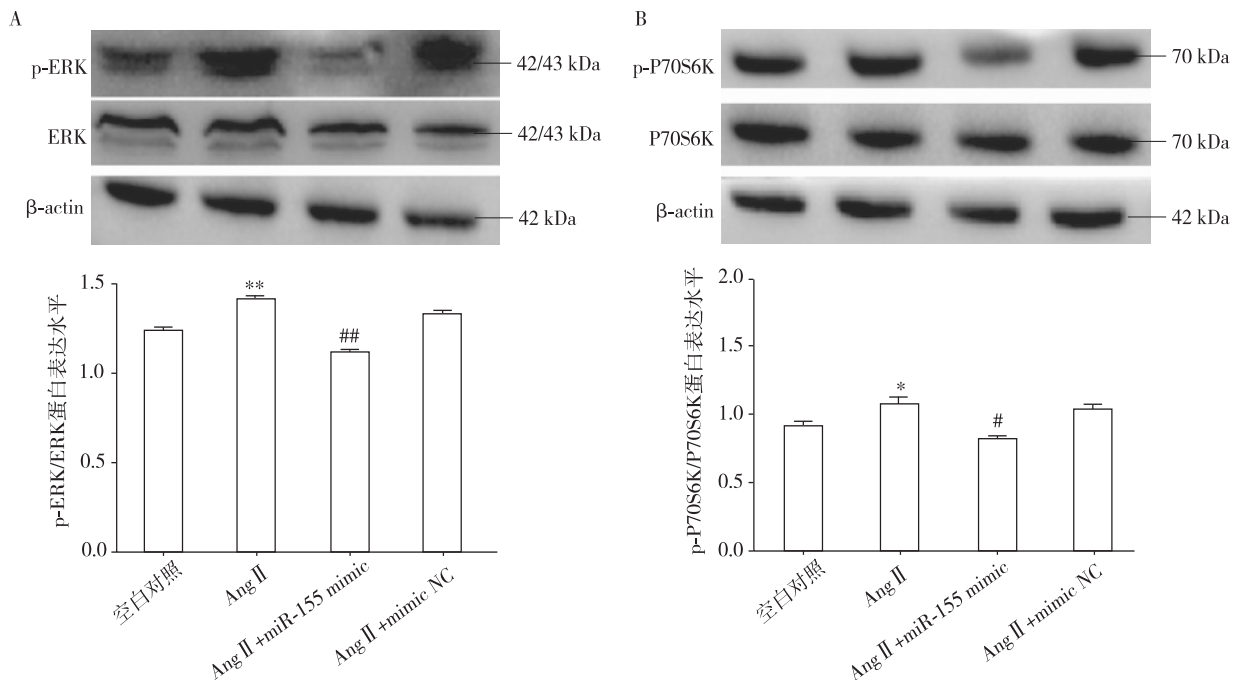
### 2.6 miR-155、缬沙坦、雷帕霉素、U0126 抑制 Cyclin D1 的表达

与 Ang II 单独处理组相比, 转染 miR-155 mimic、使用缬沙坦(20  $\mu$ mol/L)、mTOR 通路抑制剂雷帕霉素(100 nmol/L)、ERK1/2 通路抑制剂 U0126(10  $\mu$ mol/L) 等均可抑制 Ang II 促进细胞周期蛋白 Cyclin D1 表达的作用, 差异有统计学意义(图6)。



A: q-RT-PCR 检测不同处理组 AT1R mRNA 表达情况; B: Western blot 检测及定量分析不同处理组 AT1R 蛋白表达情况。与空白对照组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; 与 Ang II 组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.001$  ( $n = 3$ )。

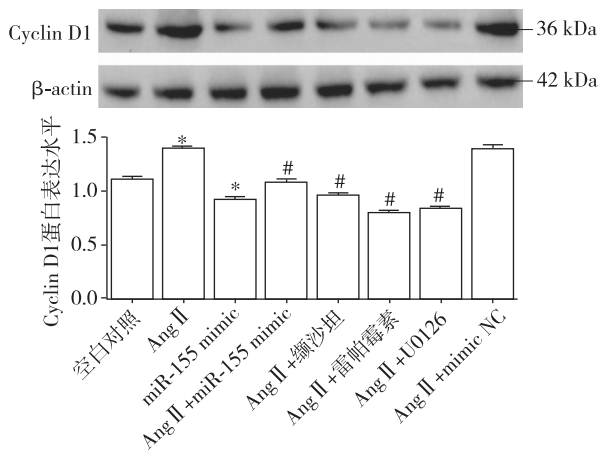
图 4 miR-155 抑制 AT1R 表达  
Figure 4 Negative regulation of AT1R by miR-155



A: 不同处理组 p-ERK1/2 及 ERK1/2 的蛋白表达情况; B: 不同处理组 p-P70S6K1 及 P70S6K1 蛋白的表达情况。与空白对照组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.001$ ; 与 Ang II 组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.001$  ( $n = 3$ )。

图 5 Western blot 检测及定量分析不同处理组 p-ERK1/2 及 ERK1/2、p-P70S6K1 及 P70S6K1 蛋白表达情况  
Figure 5 Expression of p-ERK1/2, ERK1/2, p-P70S6K1 and P70S6K1 protein in different groups by Western blot

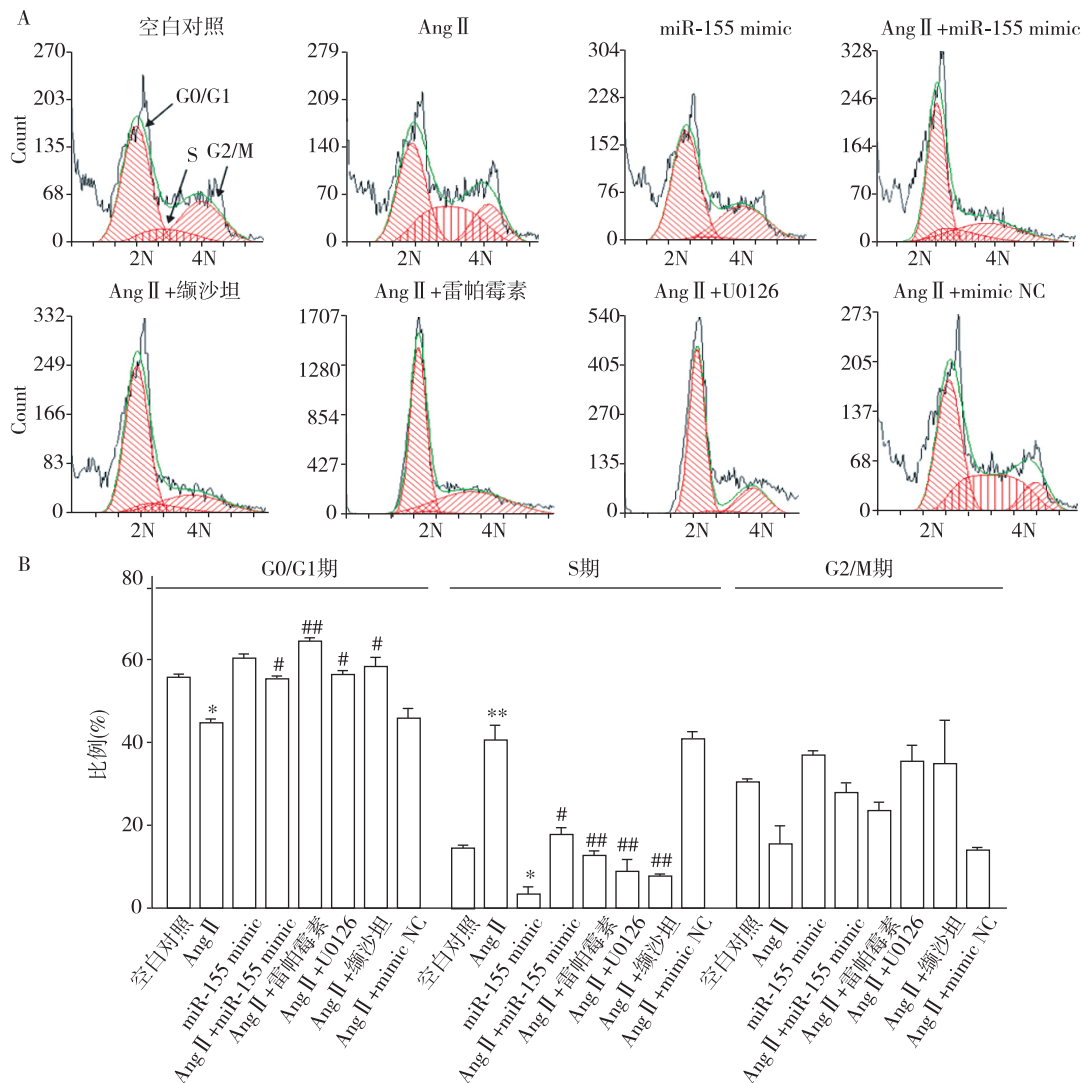




与空白对照组比较, \* $P < 0.001$ ; 与 Ang II 组比较, # $P < 0.001$  ( $n = 3$ )。

图 6 Western blot 检测及定量分析不同处理组 Cyclin D1 蛋白表达情况

Figure 6 Expression and quantification of Cyclin D1 protein by Western blot in different groups



A: 流式分析各组细胞周期; B: 各组细胞周期的比例。与空白对照组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; 与 Ang II 组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  ( $n = 3$ )。

图 7 流式细胞分析检测不同处理组细胞周期

Figure 7 Flow cytometry was used to quantitatively detect the cell-cycle distribution of each group

### 2.7 miR-155、缬沙坦、雷帕霉素、U0126 阻止细胞周期转换

与 Ang II 组及 Ang II + mimic NC 组相比, 转染 miR-155 mimic, 使用缬沙坦、雷帕霉素、U0126 均可抑制 Ang II 促进细胞周期从 G0/G1 期向 S 期转换的作用, 从而增加 G0/G1 期比例, S 期明显减少, 差异有统计学意义(图 7)。

### 3 讨论

异常增殖的 VSMC 是发生多种心血管疾病的病理基础。当 VSMC 对于某些生长刺激因子做出反应时, 往往伴随着细胞周期的改变。因此控制细胞周期转换可以有效抑制 VSMC 的异常增殖。Ang II 作为一种生长因子, 与 AT1R 结合后, 可激活下游的多条通路及效应蛋白, 促进 VSMC 异常增殖、迁移。多

项研究证实 Ang II 作用于体外培养的 VSMC 时,可促进 VSMC 从 G0/G1 期向 S 期转换,即减少 G0/G1 期比例,大大增加 S 期细胞比例,从而促进细胞增殖,参与各种心血管疾病的发生发展。

miRNA 是一种非编码小 RNA,功能十分广泛,它可以通过与多个靶基因 mRNA 完全或不完全结合,通常对靶基因进行负调控从而发挥多种生物学效应。miRNA 在心血管病理生理过程中起十分重要的调控作用。目前已有多项研究报道了多种 miRNA 参与调控细胞周期转换,如 miR-221/222 通过作用于 Skp2 抑制细胞周期转换<sup>[13]</sup>,miR-138 可通过作用于细胞周期素 D3(Cyclin D3)阻滞细胞周期<sup>[14]</sup>。作为一种多功能 miRNA,有研究显示 miR-155 是一种促进肿瘤及炎症相关的 miRNA,也有报道 miR-155 可能通过调控 AT1R 表达水平,从而参与心血管疾病的进程<sup>[10-12]</sup>。Ang II 与 AT1R 结合后可激活下游的两大通路,ERK1/2 与 mTOR/P70S6K1 通路,二者均参与细胞的增殖、迁移等过程,包括对细胞周期的调控<sup>[15-16]</sup>。所以我们推测 miR-155 可能通过抑制 AT1R 表达,从而进一步抑制 ERK1/2 与 mTOR/P70S6K1 通路的激活,参与 VSMC 细胞周期的调控。本研究发现 Ang II 作用于 VSMC 后,可显著降低 miR-155 的表达水平并促进 AT1R 的表达,提示 miR-155 可能在 Ang II 促 AT1R 表达的中间起作用。通过生物信息学检测,本课题组在 microRNA 靶基因预测网站 microRNA.org 上预测到 mmu-miR-155 与 AGTR1(AT1R)可能存在结合位点。通过瞬时转染 miR-155 mimic 及 inhibitor 过表达 miR-155 或抑制 miR-155 表达,本研究证实了 miR-155 可负向调控 AT1R mRNA 及蛋白,且过表达 miR-155 后可抑制 Ang II 促 AT1R 表达的作用(图 4)。本研究还发现过表达 miR-155 后可抑制 AT1R 下游常见两条通路,mTOR/P70S6K1 与 ERK1/2 的激活(图 5),这进一步证实 miR-155 对 Ang II 生物学效应的抑制作用是通过抑制 AT1R 来实现的。本研究还发现使用血管紧张素受体阻断剂缬沙坦、mTOR 通路抑制剂雷帕霉素及 ERK1/2 通路抑制剂 U0126 均可减弱 Ang II 促进细胞周期蛋白 Cyclin D1 表达的作用(图 6),并使细胞阻滞在 G0/G1 期,S 期明显减少(图 7)。转染 miR-155 后也可取得减少 Cyclin D1 表达及阻滞细胞周期的作用。说明 miR-155 可通过抑制 AT1R 进一步阻滞 mTOR 通路及 ERK1/2 通路,来发挥其阻滞 Ang II 促 VSMC 细胞周期转换的作用。

本研究发现 Ang II 可能通过降低 miR-155 表达

水平、上调 AT1R 表达水平发挥其生物学效应。过表达 miR-155 可负向调控 AT1R 表达,进一步抑制 ERK1/2、mTOR/P70S6K1 通路的激活,发挥抑制 Ang II 促 VSMC 细胞周期转换的作用,从而控制 VSMC 的异常增殖,为预防心血管疾病的发生、发展提供了新的治疗方向。

#### [参考文献]

- [1] 朱傲霜,丁志坚,卢绪章,等. 急性心肌梗死患者血管紧张素 II 水平对外周血内皮祖细胞的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2012,32(11): 1565-1569
- [2] Vukelic S,Griendling K. Angiotensin II, from vasoconstrictor to growth factor: a paradigm shift[J]. *Circ Res*, 2014,114(5):754-757
- [3] Mohr AM,Mott JL. Overview of microRNA biology [J]. *Semin Liver Dis*,2015,35(1):3-11
- [4] Wang GK,Zhu JQ,Zhang JT,et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans [J]. *Eur Heart J*,2010,31(6):659-666
- [5] Gidlöf O,Smith JG,Miyazu K,et al. Circulating cardio-enriched microRNAs are associated with long-term prognosis following myocardial infarction [J]. *BMC Cardiovasc Disord*,2013,13(1):12
- [6] Rao K,Toyama Y,Chiang R,et al. Loss of cardiac microRNA-mediated regulation leads to dilated cardiomyopathy and heart failure [J]. *Circ Res*,2009,105(6): 585-594
- [7] Li S,Zhu J,Zhang W,et al. Signature microRNA expression profile of essential hypertension and its novel link to human cytomegalovirus infection [J]. *Circulation*, 2011,124(2):175-184
- [8] Tili E,Croce CM,Michaille JJ. miR-155: on the crosstalk between inflammation and cancer [J]. *Int Rev Immunol*, 2009,28(5):264-284
- [9] Wang J,Yang K,Zhou L,et al. MicroRNA-155 promotes autophagy to eliminate intracellular mycobacteria by targeting Rheb [J]. *PLoS Pathog*,2013,9(10):e1003697
- [10] Ceolotto G,Papparella I,Bortoluzzi A,et al. Interplay between miR-155,AT1R A1166C polymorphism,and AT1R expression in young untreated hypertensives [J]. *Am J Hypertens*,2011,24(2):241-246
- [11] Zheng L,Xu CC,Chen WD,et al. MicroRNA-155 regulates angiotensin II type 1 receptor expression and phenotypic differentiation in vascular adventitial fibroblasts [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2010,400(4): 483-488

(下转第 334 页)

合微生物生长,并且胆汁对微生物浓度具有高度浓缩性,增加了单位体积的微生物量;但 2013 年的阳性率高达 77.08%,不排除采集标本的污染问题。另一值得关注的结果,血培养虽然送检量大但培养阳性率却不高。本研究得出的血培养阳性率与国内目前最大型标本量 32 779 份血培养的 9.45%阳性率相比并不低<sup>[6]</sup>,并且国外研究显示血培养阳性率在 10%~15%之间<sup>[7]</sup>,由此可见血培养阳性率不高是共性问题,将来还需要培养技术的进步。在无菌标本送检量的构成比中,血液、中段尿、胸腹水等始终处于前几位,这与具体感染部位数量以及标本获取的难易程度均有关,尤其是前者决定了送检标本的类型;对同一感染部位来说,首要考虑采集无菌标本,如肺部细菌感染应该优先送检灌洗液而不是痰液。

无菌标本阳性检验结果可使抗菌药物治疗更及时、精确,从而促进抗菌药物的合理应用。抗菌药物使用的监测指标目前主要有使用强度和使用天数两种,由于后者不考虑药物剂量且也适用于儿童患者,国外研究多采用使用天数<sup>[1]</sup>,为此本研究在无菌标本送检量逐年增加的趋势下,研究 3 年内抗菌药物使用天数的差异性,间接比较使用合理性。结果显示使用天数未见降低趋势,2014 年和 2015 年抗菌药物使用平均天数较 2013 年略有增加。又进一步分析发现,虽然无菌标本送检量逐年提升,但以感染患者为基数计算,人均无菌标本送检量并没有相应提升,也即无菌标本的逐年提升仅仅是因为感染患者数量增加导致的。

无菌标本在微生物送检中更具临床价值,本研究对连续 3 年微生物培养中无菌标本的送检情况进行了分析,培养阳性率与国内外研究相近。虽然

送检量逐年提高,但感染患者人均送检量并未相应提高,从而可能无法最终优化抗菌药物的使用。日常医疗工作中,应进一步宣传无菌标本送检的意义,在感染部位允许的前提下优先送检无菌标本,充分利用无菌标本培养结果指导抗菌药物的合理使用。当然,由于抗菌药物使用的复杂性,无菌标本培养结果仅是影响抗菌药物使用的因素之一,本研究结论还需要将来更优化的研究进行佐证。

[参考文献]

[1] Reddy SC, Jacob JT, Varkey JB, et al. Antibiotic use in US hospitals: quantification, quality measures and stewardship[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2015, 13(7): 843-854

[2] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2014 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2015, 15(5): 401-410

[3] 李耘,吕媛,薛峰,等. 我国 2009 至 2010 年 MOHNARIN 项目临床分离常见病原菌的耐药监测[J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(1):67-87

[4] 廖国林,王海红,王颖翔,等. 胆道感染患者胆汁培养病原菌分布及耐药性分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(22):3077-3078

[5] 黄会,吴多荣,张昱. 487 例胆汁培养病原菌构成及耐药性分析[J]. *实用预防医学*, 2015, 22(5):615-617

[6] 高丽钦,王武军,甘龙杰,等. 2011—2013 年临床血培养病原菌的分布及耐药性变迁[J]. *中国抗生素杂志*, 2015, 40(7):555-560

[7] Weinstein MP, Doern GV. A critical appraisal of the role of the clinical microbiology laboratory in the diagnosis of bloodstream infections [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(9suppl):S26-S29

[收稿日期] 2016-06-08

(上接第 286 页)

[12] Blanco RR, Austin H, Vest IR, et al. Angiotensin receptor type 1 single nucleotide polymorphism 1166a/C is associated with malignant arrhythmias and altered circulating miR-155 levels in patients with chronic heart failure[J]. *J Card Fail*, 2012, 18(9): 717-723

[13] Castagnino P, Kothapalli D, Hawthorne A, et al. miR-221/222 compensates for Skp2-mediated p27 degradation and is a primary target of cell cycle regulation by prostacyclin and cAMP[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56140

[14] Wang W, Zhao J, Tan X, et al. MiR-138 induces cell cycle arrest by targeting cyclin D3 in hepatocellular carcinoma[J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(5): 1113-1120

[15] Karki R, Ho M, Kim W. Magnolol attenuates neointima formation by inducing cell cycle arrest via inhibition of ERK1/2 and NF-kappaB activation in vascular smooth muscle cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(3): 2619-2628

[16] Aoyagi T, Matsui T. Phosphoinositide-3 kinase signaling in cardiac hypertrophy and heart failure[J]. *Curr Pharm Des*, 2011, 17(18): 1818-1824

[收稿日期] 2016-07-11