

血管内皮特异性过表达 microRNA-155 对大鼠妊娠过程的影响

吴梦菲, 颜桂军, 沈莉, 胡娅莉*

(南京医科大学附属鼓楼临床医学院妇产科, 江苏 南京 210008)

[摘要] 目的:建立血管内皮特异性过表达 microRNA-155(miR-155)转基因大鼠模型并观察其血压、蛋白尿等表型及妊娠负荷施加后的变化。方法:把外源 miR-155 基因插入血管内皮细胞特异表达 VE-cadherin 启动子下游,构建转基因表达载体,将所得载体线性化后,通过受精卵显微注射技术,构建 miR-155 转基因大鼠,并利用特异引物 PCR 法鉴定转基因大鼠基因型。通过尾套法、生化检测、组织学检查对未孕和妊娠雌性转基因大鼠的表型进行初步分析。结果:血管内皮特异性过表达 miR-155 转基因大鼠在胸主动脉、腹主动脉、肾脏、心脏组织 miR-155 表达较野生型鼠增高 2.3、3.3、2.9、3.3 倍。未妊娠时 miR-155 转基因雌性大鼠血压、尿蛋白、血管壁和肾脏结构与非转基因型大鼠比较,差异均无统计学意义。但妊娠后 miR-155 转基因雌性大鼠血压轻度增高、蛋白尿增加、胎儿生长受限发生率增加,胸/腹主动脉的血管壁结构紊乱和肾小管上皮空泡样变等。结论:血管内皮特异性 miR-155 转基因大鼠妊娠负荷增加后,表现出子痫前期表型。

[关键词] miR-155;转基因大鼠;血管内皮细胞;子痫前期

[中图分类号] R789

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)05-0532-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20170503

Effects of vascular endothelial specific over-expression microRNA-155 on the pregnancy of rats

Wu Mengfei, Yan Guijun, Shen Li, Hu Yali*

(Department of Obstetrics, Drum Tower Clinical Medical College, NJMU, Nanjing 210008, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a vascular endothelial-specific overexpressed microRNA-155 transgenic rat model; and to observe its blood pressure, proteinuria phenotypes and changes after gestational load application. **Methods:** The exogenous miR-155 gene was inserted downstream of the VE-cadherin promoter specific for vascular endothelial cells to construct the transgenic expression vector. After linearization of the vector, the miR-155 transgenic rats were established by zygote microinjection technique. The genotype of transgenic rats was identified by specific primer PCR. Furthermore, tail-cuff method, biochemical detection and histological examination were used to preliminarily analyze the phenotypes of pregnant and non-pregnant female transgenic rats. **Results:** The miR-155 expressions in thoracic aorta, abdominal aorta, kidney and heart tissues of the vascular endothelial-specific overexpressed microRNA-155 transgenic rats were 2.3-fold, 3.3-fold, 2.9-fold and 3.3-fold higher than the wild-type rats, respectively. No significant differences were observed in blood pressure, urine protein, vascular wall or kidney structure between the miR-155 transgenic non-pregnant female rats and the non-transgenic rats. However, after pregnancy, the miR-155 transgenic female rats exhibited mildly elevated blood pressure, increased proteinuria, increased incidence of fetal growth restriction, disorderly structure of thoracic/abdominal aortic walls, tubular epithelial vacuolization, etc. **Conclusion:** After increase of gestational load, the vascular endothelium-specific miR-155 transgenic rats exhibited pre-eclampsia phenotype.

[Key words] miR-155; transgenic rat; vascular endothelial cell; pre-eclampsia

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(05):532-538]

血管内皮细胞是覆盖于血管腔内表面的单层扁平或多角形的细胞,在维持血管渗透性、传递血管信

息和分泌血管活性物质等方面起关键作用^[1]。内皮细胞激活、功能失调和损伤在动脉粥样硬化、高血压、糖尿病、脑血管病变、子痫前期^[2]等多种疾病病理过程中起着重要作用。

[基金项目] 国家自然科学基金(81370724)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:glyyhuyali@163.com

microRNA(miRNA)是一类长度为 19~25 个核苷酸的非编码小 RNA,它是生物体内重要的转录后调控子。miRNA 基因转录产物称为 miRNA 前体(pri-miRNA),在核糖核酸酶 Drosha 和 Dicer 的剪切下成为成熟的 miRNA^[3]。miRNA 通过不完全碱基互补的方式介导与靶基因 mRNA 3'非编码区(3'UTR)的结合,在转录后水平对基因的表达进行负调控,导致 mRNA 的降解或翻译抑制,参与多种细胞生物功能的调控。

microRNA-155(miR-155)是一个典型的多功能 miRNA,位于 21 号染色体 B-cell integration cluster(BIC)基因的第 3 个外显子内,通过不同的靶基因调控造血细胞分化、巨噬细胞活化、淋巴细胞平衡、血管平滑肌细胞迁移、内皮细胞分泌等^[4-6],临床研究亦证实 miR-155 的异常表达与心肌炎、动脉粥样硬化、动脉瘤、子痫前期密切相关^[7-9]。

有研究表明 miR-155 可以下调内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase,eNOS)表达而导致血管内皮细胞功能障碍^[10]。随后本课题组研究证明,miR-155 直接与 eNOS mRNA 3'UTR 区种子序列结合减少人脐静脉内皮细胞(HUVECs)中 eNOS 表达和一氧化氮产生,并降低人内乳动脉乙酰胆碱诱导的内皮依赖性血管舒张^[6]。这些研究提示 miR-155 对血管内皮细胞功能具有重要调节作用。

本研究试图利用转基因工程技术,构建血管内皮细胞特异性高表达 miR-155 转基因大鼠模型,以探究内皮细胞高表达 miR-155 对机体自身表型、妊娠过程和胎儿结局等方面的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

选择 SPF 级 SD 雌性大鼠(体重 240~280 g),SPF 级 SD 雄性大鼠(体重 300~350 g),均由南京大学医学院附属鼓楼医院动物中心购入。于人工条件下饲养,室温 20~25℃,照明采用 12 h 明/暗光照周期,光线适中,环境清洁安静,可自由饮水和进食。所有动物实验的操作均严格遵守南京大学附属鼓楼医院动物伦理委员会的相关条例规定。每晚 18:00 将雌性大鼠和雄性大鼠 1:1 同笼饲养,次晨观察阴道栓脱落情况,阴道栓脱落日定为妊娠第 0 天。

TRIzol(Invitrogen 公司,美国)。DEPC(福州博鸿生物技术有限公司)。氯仿及异丙醇(上海试剂四厂)。RT 试剂盒、RT-PCR 试剂盒(TaKaRa 公司,日本)。PCR Master Mix(Thermo 公司,美国)。蛋白酶 K(上

海生工公司)。eNOS 兔抗大鼠多克隆抗体(Abcam 公司,英国)。免疫组化常规试剂(北京中杉金桥生物技术有限公司)。引物由上海生工公司合成。智能无创血压计 BP-2010A(Soforon 公司,日本)。全自动生化分析仪 HITACHI-7600(日立公司,日本)。

1.2 方法

1.2.1 血管内皮特异性 miR-155 过表达转基因大鼠的建立和分组

构建好的质粒经 *Pvu* I /*Sal* I 酶切线性化后,获 3.5 kb 片段,依次包括 VE-promoter、小鼠 miRNA-155、SV40 poly A,纯化,获得 miR-155 过表达载体线性化片段。再用显微原核注射法及胚胎移植技术获得 miR-155 血管内皮特异性转基因大鼠,委托武汉康威达基因科技有限公司完成。获得首建鼠后,进行扩繁,鉴定所有子代基因型。根据子代基因型将子代大鼠分为 miR-155 转基因组和非转基因(non-transgenic,NTG)组,并进一步划分为 4 组实验组,第 1 组 miR-155 转基因组和 NTG 组各 7 只,调查胸主动脉、腹主动脉、肾脏、心脏、肌肉中 miR-155 的表达量;第 2 组,miR-155 转基因组和 NTG 组各 6 只,用于调查未孕雌鼠胸主动脉、腹主动脉、肾脏生理结构是否受到影响;第 3 组,miR-155 转基因组(n=7)和 NTG 组(n=9),用于调查基础状态部分生理值及妊娠后相关指标改变;第 4 组,miR-155 转基因组和 NTG 组各 6 只,调查 6 个月龄未孕雌鼠基础血压和尿蛋白的变化。

1.2.2 转基因大鼠基因型的 PCR 鉴定

取新生大鼠尾尖组织 1 cm,加入 17 μ L 裂解液和 3 μ L 蛋白酶 K(20 mg/mL),55℃消化过夜。次日,将完成消化的尾尖组织置于水浴中,100℃煮沸 5 min,12 000 r/min 离心 1 min,将上清液转入 1.5 mL EP 管(约 16 μ L),加灭菌 ddH₂O 500 μ L,上下颠倒混匀,酚/氯仿抽提 DNA。用引物 pVE-miR-155-F 和 pVE-miR155-R 进行 PCR 扩增,上游引物 pVE-miR-155-F:5'-CCGCTCGAGAATATTTCCACAGATTAAAGTTTGA-3',下游引物 pVE-miR-155-R:5'-ATAAGAATGCGGCCGCAAGATGTTATGAACA TAATTTTGAAATA-3'(目的产物 780 bp),退火温度为 58℃,PCR 体积为 20 μ L,取 8 μ L PCR 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳鉴定大鼠基因型。

1.2.3 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)

分别提取非转基因大鼠和转基因大鼠胸主动脉、腹主动脉、心脏、肾脏、肌肉、胎盘组织,依 TRIzol

试剂盒所提供方法进行组织总 mRNA 抽提, RNA 经定量和 1% 琼脂糖甲醛变性凝胶电泳检测 RNA 完整性后, 反转录成 cDNA。miR-155 基因上游引物 5'-CGGCGGTTAATGCTAATTGTGAT-3', 下游引物: 5'-GCAGGTCCGAGGT-3'; U6 上游引物: 5'-CGCTTCGGCAGCACA-3', 下游引物: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; 扩增条件为: 95°C 预变性 15 min; 95°C 变性 15 s, 60°C 退火 60 s, 40 个循环。反应在实时定量 PCR 仪 (MyiQ Single Color Real-time PCR Detection System, BIORAD) 上进行。每组设 3 个复孔。以 ΔC_T 值作为 miR-155 的相对表达量, 以 $2^{-\Delta C_T}$ 进行差异比较, 采用基于 SYBR GREEN 的荧光定量 PCR^[11]。

1.2.4 大鼠血压测量

大鼠血压测量按本实验室常规方法进行^[12]。交配前 2 周起, 在温暖、安静环境每天测量雌鼠尾动脉收缩压训练大鼠, 每只大鼠分别以训练 1 周和 2 周后的稳定血压作为基础血压值。测得各组大鼠在妊娠第 0、3、6、9、12、15、18 天血压。测定时间在 8:00~14:00, 大鼠安静状态下进行, 每只大鼠至少测量 15 次, 取连续 3 组变异小于 6 mmHg 的血压, 以均值作为所测血压值。

1.2.5 蛋白尿检测

将大鼠置标准代谢笼, 18:00~次日 8:30 禁食, 自由饮水, 并收集 14.5 h 空腹尿量, 全自动生化分析仪测定尿总蛋白。测定尿蛋白时间点: 血压训练后 1 周、血压训练后 2 周、妊娠第 0、3、6、9、12、15、18 天^[12]。

1.2.6 胎鼠重量

受孕日 (gestational day, gd) 第 20 天 (gd20), 使用水合氯醛 (0.3 mL/100 g) 分别对 miR-155 阳性妊娠大鼠和同窝阴性妊娠大鼠麻醉, 剖腹取仔, 用无菌纱布吸净胎鼠表面液体后, 用电子水平仪进行称重。

1.2.7 HE 染色

在 gd20, 使用水合氯醛 (0.3 mL/100 g) 分别对 miR-155 转基因大鼠和 miR-155 非转基因大鼠麻醉, 取胸主动脉、腹主动脉、肾, 去除包膜, 4% 甲醛溶液固定过夜, 石蜡包埋, 制作切片, 常规 HE 染色。

1.2.8 免疫组化法检测 eNOS 表达量

免疫组化法检测 eNOS 表达, 实验步骤按照试剂盒说明书要求操作。采用 IPP 6.0 软件测定, 计算阳性物质累积光密度 (IOD)/测量组织面积所得的平

均光密度值, 表示组织中相关蛋白表达的变化。

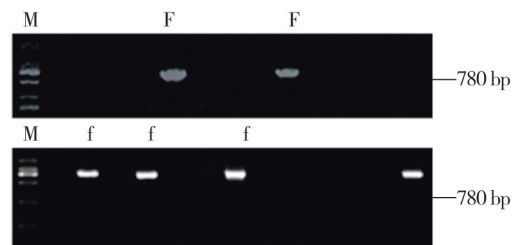
1.3 统计学方法

计量资料以均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 结果采用 SPSS23.0 分析软件进行双样本 *t* 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-155 血管内皮特异性转基因大鼠模型的建立

以新生 1 周小鼠尾尖组织基因组为模板, 进行 PCR 扩增反应, 片段大小为 780 bp, 与阳性质粒对照的扩增片段大小相同。如图 1 鉴定结果表明, 阳性首建鼠及阳性子代基因扩增产物均为 780 bp。



M: DNA 标准 Marker; F: 转基因首建鼠 DNA 片段的 PCR 产物; f: 子代转基因大鼠 DNA 片段的 PCR 产物。

图 1 大鼠基因型鉴定产物琼脂糖凝胶电泳图

Figure 1 Agarose gel electrophoresis for identification products of rat genotype

2.2 转基因大鼠不同组织中 miR-155 表达量的比较

qRT-PCR 结果表明血管内皮特异性 miR-155 高表达转基因大鼠的胸主动脉、腹主动脉、肾脏、心脏组织 miR-155 表达量明显升高 (分别增加 2.3、3.3、2.9、3.3 倍), 而内皮细胞含量较少的肌肉组织中 miR-155 的表达没有明显变化, 提示利用 VE-promoter 构建的血管内皮特异性转基因大鼠可以有效地增加内皮细胞中 miR-155 的表达 (图 2)。

2.3 血管内皮特异性高表达 miR-155 转基因未孕雌鼠的表型分析

血管内皮特异性高表达 miR-155 的未孕雌鼠血压和尿蛋白在 3、6 个月龄时无明显变化 (图 3)。

血管壁 HE 染色结果表明, 未孕 miR-155 转基因大鼠胸主动脉和腹主动脉血管壁厚度无明显差异 (图 4), 血管结构未见明显改变, 弹性纤维层排列连续、整齐, 间隔均匀 (图 5)。

同时肾脏 HE 染色分析表明未孕 miR-155 转基因大鼠肾小球边界清楚, 形态大小正常, 肾小管上皮细胞排列整齐 (图 6), 无明显肾脏结构的异常改变。

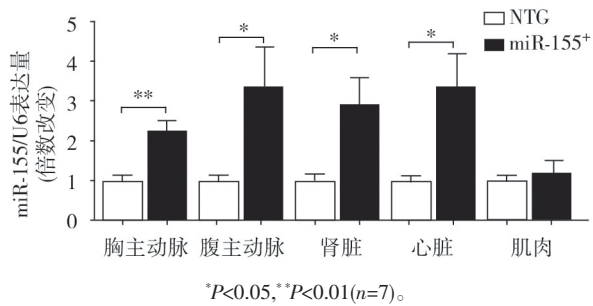


图 2 未孕转基因雌鼠组织中 miR-155 表达量改变情况
Figure 2 Changes in expression quantity of miR-155 in tissue of non-pregnant transgenic female rats

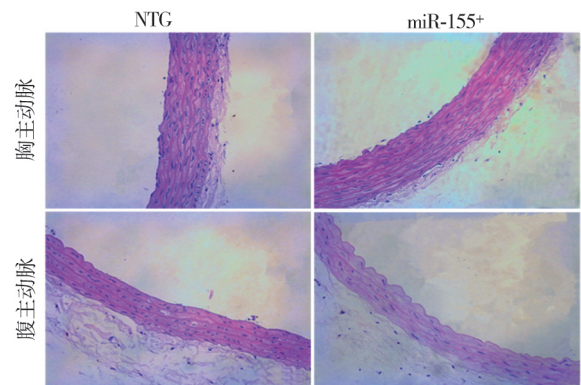
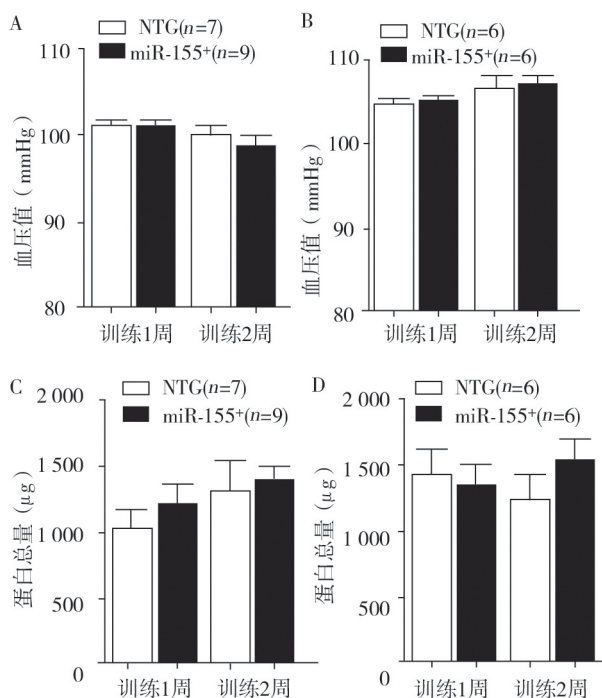


图 5 未孕雌鼠主动脉结构(HE,×200)

Figure 5 The structure of aorta in non-pregnant female rats (HE,×200)



A: 3 个月龄雌鼠基础血压; B: 6 个月龄雌鼠基础血压; C: 3 个月龄雌鼠基础尿蛋白; D: 6 个月龄雌鼠基础尿蛋白。

图 3 3、6 个月龄未孕雌鼠基础血压和尿蛋白情况

Figure 3 Basal blood pressure and urine protein in 3 and 6-month-old non-pregnant female rats

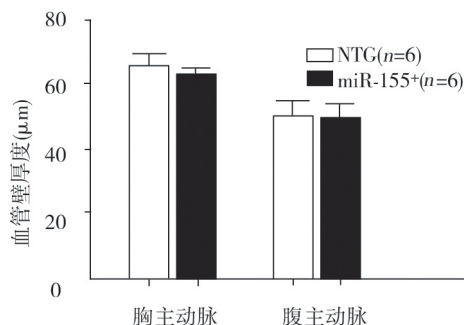


图 4 未孕雌鼠胸主动脉、腹主动脉血管壁厚度

Figure 4 Thickness of thoracic aorta and abdominal aorta walls in non-pregnant female rats

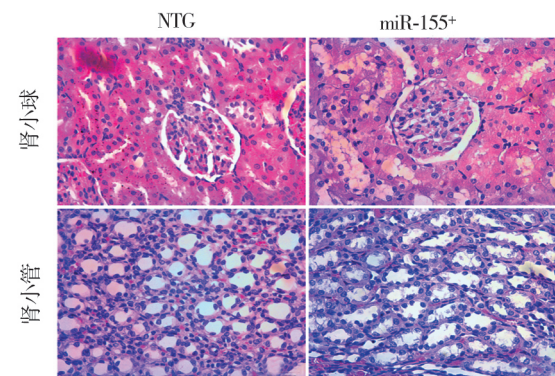


图 6 未孕雌鼠肾脏结构(HE,×400)

Figure 6 The structure of kidney in non-pregnant female rats (HE,×400)

2.4 血管内皮特异性高表达 miR-155 大鼠妊娠期血压升高

孕鼠血压测量结果发现,与 NTG 组大鼠($n=7$)相比,miR-155 转基因孕鼠($n=9$)血压在孕中期开始逐渐升高。在妊娠第 9 天 [miR-155 转基因组(102.33 ± 7.75) mmHg vs. NTG 组(97.57 ± 4.15) mmHg, $P<0.05$]、第 12 天 [miR-155 转基因组(104.19 ± 8.2) mmHg vs. NTG 组(98.1 ± 5.58) mmHg, $P<0.01$]、第 15 天 [miR-155 转基因组(103.15 ± 8.3) mmHg vs. NTG 组(94.9 ± 4.87) mmHg, $P<0.001$], 两组比较, 差异均有统计学意义。同时,miR-155 转基因大鼠妊娠期血压与基础血压相比轻度升高,但有统计学差异。而 NTG 组大鼠妊娠期血压与基础血压相比有轻度下降,也达到统计学差异。

2.5 血管内皮特异性高表达 miR-155 大鼠妊娠期尿蛋白升高

miR-155 转基因大鼠和阴性对照组大鼠在基础尿蛋白上没有差异,但随着妊娠天数的增加,在 gd6 [miR-155 转基因组($3\ 000.52\pm 1\ 236.87$) μg vs. NTG

组 (1 624.68±462.49) μg , $P<0.05$] 和 gd15d [miR-155 转基因组 (3 592.92±1 444.41) μg vs. NTG 组 (2 117.51±616.58) μg , $P<0.05$] 均有统计学意义, 虽然 gd9、gd12d 的差异无统计学意义, 仍可观察到 miR155 转基因组大鼠相较于非转基因大鼠在妊娠过程中, 有尿蛋白增加趋势。

2.6 雌鼠血管内皮细胞高表达 miR-155 影响胎儿宫内生长

于 gd20, 剖腹取仔, 共获得 miR-155 转基因组大鼠子代 121 只, 同窝阴性大鼠子代 88 只。miR-155 转基因组大鼠胎盘重量和同窝阴性大鼠胎盘重量无统计学差异。miR-155 转基因组大鼠子代平均体重低于同窝阴性大鼠子代平均体重 [miR-155 转基因组 (3.85±0.59) g vs. NTG 组 (3.99±0.28) g, $P<0.05$]。非转基因组共产仔 88 只, 平均体重为 3.99 g, 如果以此体重减去 2 个标准差得 3.43 g 作为为界定生长受限 (FGR) 的标准, 非转基因组 FGR 发生率仅为 1.14%, miR-155 转基因组 FGR 发生率为 15.7%, 显著高于对照组 ($P<0.001$)。

2.7 血管内皮细胞高表达 miR-155 改变妊娠大鼠血管壁厚度和血管结构

gd20, 妊娠大鼠剖腹取胸主动脉、腹主动脉, 测量胸主动脉、腹主动脉血管壁平均厚度。为探究妊娠过程中主动脉内皮 eNOS 变化, 使用免疫组化法对胸主动脉、腹主动脉 eNOS 染色。血管结构分析发现 miR-155 转基因组 gd20 大鼠胸主动脉和腹主动脉血管壁厚度均增加 ($P<0.05$, 图 7)。弹力纤维减少、中断、排列较紊乱, 间质胶原纤维增多 (图 8)。同时 eNOS 免疫组化检测结果表明, miR-155 转基因妊娠雌鼠胸主动脉和腹主动脉 eNOS 表达均下降 ($P<0.05$, 图 7, 9)。

2.8 血管内皮细胞高表达 miR-155 改变妊娠大鼠肾脏结构

相较于 NTG 孕鼠, miR-155 转基因孕鼠的肾小球细胞体积增大, 但未见明显的肾小球基底膜增生。miR-155 转基因孕鼠的肾小管肿胀, 肾小管上皮细胞稀疏, 有空泡样变 (图 10)。

3 讨论

miR-155 能在内皮细胞、巨噬细胞、血管平滑肌细胞、树突状细胞等多种细胞表达, 并在造血细胞分化、免疫、炎症以及心血管功能方面发挥重要作用。前期研究已发现, miR-155 在内皮细胞的异常表达与心血管疾病密切相关。本研究利用血管内皮细胞

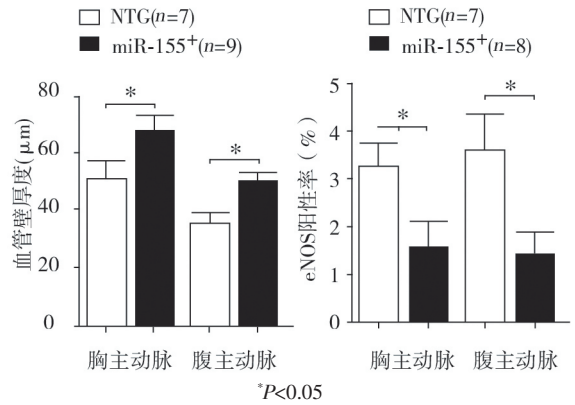


图 7 妊娠大鼠胸主动脉、腹主动脉血管壁厚度以及 eNOS 表达量比较

Figure 7 Comparison of thickness of thoracic aorta, abdominal aorta wall and eNOS expression quantity in pregnant rats

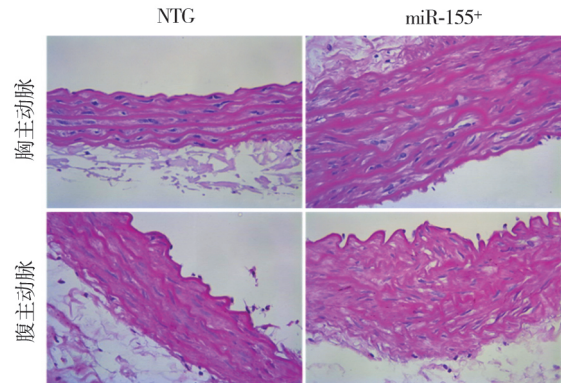


图 8 妊娠大鼠胸主动脉、腹主动脉结构 (HE, ×400)

Figure 8 The structure of thoracic aorta and abdominal aorta in pregnant rats (HE, ×400)

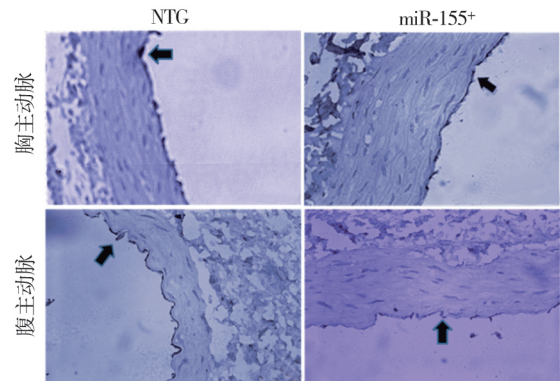


图 9 主动脉中 eNOS 表达示意图 (免疫组化, ×400)

Figure 9 Schematic diagram of eNOS expression in aorta (×400)

特异性启动子在血管内皮中高表达的特性^[13], 通过原核显微注射法获得了血管内皮细胞特异性过表达

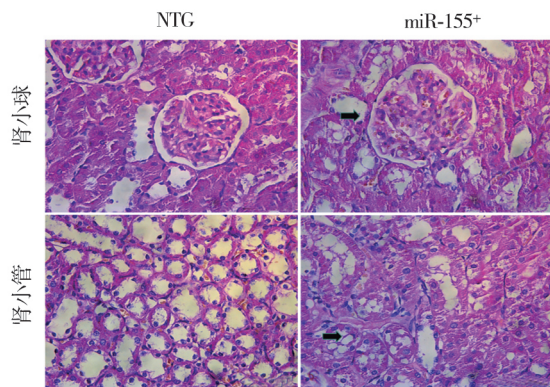


图 10 miR-155 转基因组和 NTG 组肾脏 HE 染色比较($\times 400$)
Figure 10 Comparison of kidney HE staining in miR-155 transgenic and NTG group ($\times 400$)

miR-155 的转基因大鼠, 并发现血管内皮细胞高表达 miR-155 对孕鼠的血压和血管、肾脏结构和尿蛋白以及妊娠结局有重要影响。

与 NTG 大鼠相比, miR-155 转基因大鼠胸主动脉、腹主动脉、肾脏、心脏等血管内皮细胞相对丰富的组织中, miR-155 表达量均明显升高, 且能在子代中遗传。分析血管内皮特异性高表达 miR-155 转基因未孕雌鼠的表型, 发现血压、尿蛋白及血管和肾脏结构均无明显变化。有趣的是, 当让 miR-155 转基因和非转基因雌鼠分别与野生型公鼠进行交配后, 可以观察到妊娠鼠的血压轻度增高、尿蛋白增加、胎鼠生长受限、主动脉管壁增厚和 eNOS 表达量下降及肾小管空泡样改变。正常妊娠过程中, 为了适应母体和胎儿对营养物质和氧气的需求, 在妊娠期间, 孕妇血管腔变大、血管壁变薄, 全身血管阻力下降, 使得心输出量和血管内容量比孕前增加 40%, 动脉顺应性随着心脏输出量的增加而增加^[14-15], 表现为随着妊娠进展孕妇血压下降, 与 Santillan 等报道的结果一致^[16]。此外, 妊娠期间血管对血管收缩物质反应下降^[17-18], 对舒张物质反应增强^[19]。在 miR-155 血管内皮细胞高表达动物模型中, 观察到血管壁不能顺应妊娠变化变薄, eNOS 表达量下降, 与正常妊娠生理性变化相反。研究结果显示, 主动脉中 miR-155 表达量升高, 而 eNOS 表达量降低。eNOS 是诱导 NO 合成的限速酶, 是内皮功能完整标志之一, 在生理状态下, 可以催化精氨酸合成 NO, 保持内皮细胞表面光滑完整, 维持血管的生理功能如血管张力等。而病理状态下, eNOS 表达下调, eNOS 催化合成的 NO 减少, 临床上可出现内皮功能损害等症^[20-21]。内皮

介导的舒张功能受损, 最终引起收缩压的升高^[22], 提示血管内皮高表达 miR-155 可能改变了正常妊娠生理性变化, 但是具体机制有待进一步研究。同时血管内皮 eNOS 表达降低, 血压升高, 导致血流灌注不足, 引起胎儿生长受限^[23], 这也可能是 miR-155 转基因胎鼠生长受限的一个重要原因。

研究结果提示, 血管内皮细胞过表达 miR-155 可能与一种特殊的心血管疾病—子痫前期相关。子痫前期是一种妊娠特异性疾病, 孕产妇在妊娠前可无明显的临床表现, 其主要特点是孕 20 周后新发高血压和蛋白尿。常见的基本病理生理变化包括母体血管功能异常, 内皮功能障碍, 炎症免疫的过度激活, 肾功能受损和胎儿生长受限^[24]。在对子痫前期病因的探究中发现, 子痫前期的一大病因为母体源性^[25]。所谓母体源性子痫前期, 是在妊娠前就某种或某些因素, 如遗传因素、某些内外科疾病的存在: 高血压、肾脏疾病、超重和糖尿病等, 使之对子痫前期易感, 母体源性子痫前期的发病机制通常与血管内皮功能障碍有关^[26]。研究结果提示, 母体内皮细胞 miR-155 高表达可能是子痫前期发病的易感因素之一, 该模型的构建有可能为这一疾病的筛选、预测、治疗策略提供一定参考。然而本研究未对小动脉结构及功能变化进行深入研究。此外, 发现胎盘中 miR-155 的表达量并未升高, 与人类子痫前期胎盘 miR-155 升高并不一致, 其中的原因及机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Michiels C. Endothelial cell functions [J]. *J Cell Physiol*, 2003, 196(3):430-443
- [2] Baumwell S, Karumanchi SA. Pre-eclampsia: Clinical manifestations and molecular mechanisms [J]. *Nephron Clin Pract*, 2007, 106(2): 72-81
- [3] Lagosquintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs [J]. *Science*, 2001, 294(5543): 853-858
- [4] Zhang J, Zhao F, Yu X, et al. MicroRNA-155 modulates the proliferation of vascular smooth muscle cells by targeting endothelial nitric oxide synthase [J]. *Inter J Mole Med*, 2015, 35(6): 1708-1714
- [5] Weber C, Schober A, Zernecke A. MicroRNAs in arterial remodelling, inflammation and atherosclerosis [J]. *Current Drug Targets*, 2010, 11(8): 950-956
- [6] Sun HX, Zeng DY, Li RT, et al. Essential role of microRNA-155 in regulating endothelium-dependent

- vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase[J]. *Hypertension*, 2012, 60(6): 1407-1414
- [7] Donners MM, Wolfs IM, Stger LJ, et al. Hematopoietic miR155 deficiency enhances atherosclerosis and decreases plaque stability in hyperlipidemic mice [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35877
- [8] Corsten MF, Papageorgiou A, Verhesen W, et al. MicroRNA profiling identifies microRNA-155 as an adverse mediator of cardiac injury and dysfunction during acute viral myocarditis[J]. *Circ Res*, 2012, 111(4): 415-425
- [9] Zhang Y, Diao Z, Su L, et al. MicroRNA-155 contributes to preeclampsia by down-regulating CYR61 [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2010, 202(5): 466 e1-7
- [10] Zhang XG, Hong Q, Hou K, et al. High concentration uric acid regulates endothelial function via miR-155 [J]. *J South Med University*, 2013, 33(8): 1141-1145
- [11] Schmittgen TD, Jiang J, Liu Q, et al. A high-throughput method to monitor the expression of microRNA precursors [J]. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32(4): e43
- [12] Gong P, Liu M, Hong GM, et al. Curcumin improves LPS-induced preeclampsia-like phenotype in rat by inhibiting the TLR4 signaling pathway[J]. *Placenta*, 2016, 41(1): 45-52
- [13] Prandini MH, Dreher I, Bouillot S, et al. The human VE-cadherin promoter is subjected to organ-specific regulation and is activated in tumour angiogenesis [J]. *Oncogene*, 2005, 24(18): 2992-3001
- [14] Chapman AB, Abraham WT, Zamudio S, et al. Temporal relationships between hormonal and hemodynamic changes in early human pregnancy[J]. *Kidney Int*, 1998, 54(6): 2056-2063
- [15] Robson SC, Hunter S, Boys RJ, et al. Serial study of factors influencing changes in cardiac output during human pregnancy[J]. *Am J Physiol*, 1989, 256 (4 Pt 2): H1060-1065
- [16] Santillan MK, Pelham CJ, Ketsawatsomkron P, et al. Pregnant mice lacking indoleamine 2,3-dioxygenase exhibit preeclampsia phenotypes [J]. *Physiol Rep*, 2015, 3(1):e12257
- [17] Gant NF, Daley GL, Chand S, et al. A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy[J]. *J Clin Invest*, 1973, 52(11): 2682-2689
- [18] Nisell H, Hjemdahl P, Linde B. Cardiovascular responses to circulating catecholamines in normal pregnancy and in pregnancy-induced hypertension[J]. *Clin Physiol*, 1985, 5(5): 479-493
- [19] Caulinglaser T, Garcíacarde?a G, Sarrel P, et al. 17 beta-estradiol regulation of human endothelial cell basal nitric oxide release, independent of cytosolic Ca²⁺ + mobilization[J]. *Circ Res*, 1997, 81(5): 885-892
- [20] Scalia R, Stalker TJ. Microcirculation as a target for the anti-inflammatory properties of statins[J]. *Microcirculation*, 2002, 9(6): 431-442
- [21] Vo PA, Lad B, Tomlinson JAP, et al. Autoregulatory role of endothelium-derived nitric oxide (NO) on Lipopolysaccharide-induced vascular inducible NO synthase expression and function[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(8): 7236-7243
- [22] Zhuo ML, Huang Y, Chen JZ, et al. Endothelium-specific overexpression of human IC53 downregulates endothelial nitric oxide synthase activity and elevates systolic blood pressure in mice[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 84(2): 292-299
- [23] Thaete LG, Kushner DM, Dewey ER, et al. Endothelin and the regulation of uteroplacental perfusion in nitric oxide synthase inhibition-induced fetal growth restriction [J]. *Placenta*, 2005, 26(2-3): 242-250
- [24] Goulopoulou S, Davidge ST. Molecular mechanisms of maternal vascular dysfunction in preeclampsia[J]. *Trends Mol Med*, 2015, 21(2): 88-97
- [25] Redman C. Preeclampsia: A complex and variable disease [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2014, 4(3): 241-242
- [26] Ness RB, Roberts JM. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1996, 175(5): 1365-1370

[收稿日期] 2017-02-27



欢迎投稿 欢迎订阅