

LncRNA FGD5-AS1 靶向 miR-106a-5p 减轻 ox-LDL 诱导的 HUVECs 损伤

郭 婧¹, 李亚洁¹, 牟寒霜^{2*}

(宝鸡市中心医院 1. 心血管内科; 2. 全科医学科, 陕西 宝鸡 721000)

摘要:目的 探讨 lncRNA FGD5-AS1 对氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的血管内皮细胞损伤的影响及其对 miR-106a-5p 的调控作用。方法 Ox-LDL 诱导人脐静脉血管内皮细胞(HUVECs)建立细胞损伤模型, pcDNA-FGD5-AS1、anti-miR-106a-5p 及其阴性对照分别转染至 HUVECs 后加入 ox-LDL 处理细胞, pcDNA-FGD5-AS1 分别与 miR-NC、miR-106a-5p mimics 共转染至 HUVECs 后加入 ox-LDL 处理细胞; RT-qPCR 检测 FGD5-AS1、miR-106a-5p 的表达量; 试剂盒检测丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的水平; 流式细胞测量术检测细胞凋亡率; 双荧光素酶报告基因实验检测 FGD5-AS1 与 miR-106a-5p 的靶向关系; Western blot 检测 cleaved caspase-3、cleaved caspase-9 蛋白表达量。结果 Ox-LDL 诱导的 HUVECs 中 FGD5-AS1 mRNA 的表达量降低($P<0.05$), 而 miR-106a-5p mRNA 的表达量升高($P<0.05$); 转染 pcDNA-FGD5-AS1 可降低 ox-LDL 诱导的 HUVECs 中 MDA 的水平、凋亡率与 cleaved caspase-3、cleaved caspase-9 蛋白水平($P<0.05$), 而增强 SOD、CAT 的活性($P<0.05$); FGD5-AS1 可靶向调控 miR-106a-5p; 转染 anti-miR-106a-5p 可降低 ox-LDL 诱导的 HUVECs 中 MDA 的水平、凋亡率与 cleaved caspase-3、cleaved caspase-9 蛋白水平($P<0.05$), 而增强 SOD、CAT 的活性($P<0.05$); pcDNA-FGD5-AS1 与 miR-106a-5p mimics 共转染后可逆转 pcDNA-FGD5-AS1 对 ox-LDL 诱导的 HUVECs 凋亡及氧化应激的作用。结论 FGD5-AS1 过表达可通过靶向调控 miR-106a-5p 抑制氧化应激及凋亡, 进而减轻 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤。

关键词: lncRNA FGD5-AS1; miR-106a-5p; 人脐静脉血管内皮细胞; 氧化应激; 凋亡

中图分类号: R394 文献标志码: A

LncRNA FGD5-AS1 reduces ox-LDL-induced damage of HUVECs by targeting miR-106a-5p

GUO Jing¹, LI Ya-jie¹, MOU Han-shuang^{2*}

(1. Department of Cardiovascular Medicine; 2. Department of General Practice, Baoji Central Hospital, Baoji 721000, China)

Abstract: Objective To explore the effect of lncRNA FGD5-AS1 on oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL)-induced vascular endothelial cell damage and its regulatory effect on miR-106a-5p. **Methods** Ox-LDL was used to induce human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) to establish a cellular injury model. pcDNA-FGD5-AS1, anti-miR-106a-5p and its negative control were transfected into HUVECs and then added to ox-LDL-treated cells. pcDNA-FGD5-AS1 was co-transfected with miR-NC and miR-106a-5p mimics to HUVECs, then added ox-LDL to treat cells. RT-qPCR was used to detect the expression of FGD5-AS1 and miR-106a-5p. The level of MDA, SOD, and CAT was tested with commercially available kit. Flow cytometry was used to detect the apoptosis rate. The dual luciferase reporter gene experiment was used to detect the targeting relationship between FGD5-AS1 and

miR-106a-5p. Western blot was used to detect the protein expression of cleaved caspase-3 and cleaved caspase-9. **Results** The expression of FGD5-AS1 mRNA in HUVECs induced by ox-LDL decreased ($P<0.05$) while the expression of miR-106a-5p mRNA increased ($P<0.05$). Both transfection of pcDNA-FGD5-AS1 and transfection of anti-miR-106a-5p reduced the level of MDA, apoptosis rate and protein level of cleaved caspase-3, cleaved caspase-9 in HUVECs induced by ox-LDL ($P<0.05$), enhanced the activity of SOD and CAT ($P<0.05$). FGD5-AS1 could target at miR-106a-5p. Co-transfection of pcDNA-FGD5-AS1 and miR-106a-5p mimics could reverse the effect of pcDNA-FGD5-AS1 on ox-LDL-induced HUVECs apoptosis and oxidative stress. **Conclusions** Over-expression of FGD5-AS1 may inhibit oxidative stress and apoptosis through targeted regulation of miR-106a-5p, thereby reducing ox-LDL-induced vascular endothelial cell damage.

Key words: lncRNA FGD5-AS1; miR-106a-5p; human umbilical vein endothelial cells; oxidative stress; apoptosis

动脉粥样硬化 (atherosclerosis) 是一种血管壁炎症性疾病, 血管内皮细胞在调控血管功能与维持血管内环境中均具有重要意义, 氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 是促使动脉粥样硬化发生的危险因素, ox-LDL 可诱导血管内皮细胞氧化应激而引起细胞凋亡进而导致动脉粥样硬化的发生^[1-2]。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一种与多种疾病有关的内源性长链非编码 RNA 分子, 其可充当微小 RNA (microRNA, miRNA) 竞争内源性 RNA 分子而在转录水平上调靶基因表达, lncRNA 在 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞中表达异常, 并可能参与动脉粥样硬化的发生及发展过程^[3-4]。lncRNA FGD5-AS1 (FYVE, RhoGEF, and PH domain containing 5 antisense RNA 1) 在牙周膜患者中低表达, 上调其表达可通过调节 miR-142-3p/SOCS6/NF- κ B 途径抑制 LPS 诱导的牙周膜细胞损伤^[5]。生物信息学预测显示 FGD5-AS1 与 miR-106a-5p 存在结合位点, 研究表明 miR-106a-5p 在 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤中表达上调, 干扰其表达可减轻细胞损伤^[6]。但 FGD5-AS1/miR-106a-5p 分子轴在动脉粥样硬化发生过程中的作用机制尚未阐明。因此, 本研究采用 ox-LDL 诱导人脐静脉血管内皮细胞建立细胞损伤模型, 探讨 FGD5-AS1 是否可通过靶向调控 miR-106a-5p 而参与 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤过程。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂

人脐静脉血管内皮细胞 (human umbilical vein

endothelial cells, HUVECs) (ATCC 公司); Ox-LDL (北京索莱宝科技有限公司); Lipofectamine2000 (Invitrogen 公司); Trizol 试剂 (北京全式金生物技术有限公司); 反转录试剂与荧光定量 PCR 试剂 (北京天根生化科技有限公司); 质粒 pcDNA3.1 (上海远慕生物科技有限公司); miR-106a-5p 寡核苷酸模拟物 (miR-106a-5p mimics) 及阴性对照 mimic NC 序列 (miR-NC)、miR-106a-5p 特异性寡核苷酸抑制剂 (anti-miR-106a-5p) 及其阴性对照序列 (anti-miR-NC)、FGD5-AS1 小分子干扰 RNA (si-FGD5-AS1) 及其阴性对照序列 (si-NC) (广州市锐博生物科技有限公司); 丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所); 凋亡检测试剂盒 (Sigma-Aldrich 公司); 兔抗人 cleaved caspase-3、cleaved caspase-9 抗体与 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗 (Santa Cruz 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞的分组及处理: 血管内皮细胞汇合度达到 80% 左右时进行传代培养, 事先配制浓度为 100 ng/L 的 ox-LDL 溶液^[7], ox-LDL 干预前进行同步化处理, 用 ox-LDL 干预血管内皮细胞 24 h, 记为 ox-LDL 组。同时将正常培养的血管内皮细胞记为 Ctrl 组。收集 ox-LDL 处理后的血管内皮细胞, 加入培养液调整细胞密度后按照每孔 2×10^3 个接种于 96 孔板, 于培养箱内培养, 待细胞增殖汇合度达到 60% 时, 分别将 pcDNA、pcDNA-FGD5-AS1、anti-miR-NC、anti-miR-106a-5p、pcDNA-FGD5-AS1 与 miR-NC、pcDNA-FGD5-AS1 与 miR-106a-5p

mimics 转染至血管内皮细胞,分别加入含有浓度为 100 ng/L 的 ox-LDL 溶液处理 24 h,分别记为 (ox-LDL+pcDNA) 组、(ox-LDL+pcDNA-FGD5-AS1) 组、(ox-LDL+anti-miR-NC) 组、(ox-LDL+anti-miR-106a-5p) 组、(ox-LDL+pcDNA-FGD5-AS1+miR-NC) 组、(ox-LDL+pcDNA-FGD5-AS1+miR-106a-5p) 组。

1.2.2 RT-qPCR 检测 FGD5-AS1、miR-106a-5p mRNA 表达水平:根据 Trizol 说明书分别提取血管内皮细胞总 RNA,用反转录试剂盒与荧光定量 PCR 试剂盒分别进行反转录与 RT-qPCR 实验,用美国 ABI StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 仪检测基因表达量。FGD5-AS1 正向引物 5'-AGAAGCGGAGGGGTG AAAAT-3',反向引物 5'-CCGCCTTATAGTTGGCC CTC-3';miR-106a-5p 正向引物 5'-GGGCAAAGTGC TAACAGTG-3',反向引物 5'-GTGCGTGTCGTGGAG TCG-3';GAPDH 正向引物 5'-AACGGATTTGGTTCGT ATTG-3',反向引物 5'-GGAAGATGGTGATGGGATT-3';U6 正向引物 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTA AAT-3',反向引物 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTC AT-3'。

1.2.3 检测氧化应激指标 MDA、SOD、CAT 的含量:收集血管内皮细胞培养上清液,按照试剂盒说明书检测 MDA、SOD、CAT 的含量。

1.2.4 流式细胞测量术检测细胞凋亡率:取各组血管内皮细胞后加入 500 μ L 结合缓冲液重悬细胞,按照凋亡试剂盒说明书检测细胞凋亡率。

1.2.5 双荧光素酶报告基因检测 FGD5-AS1 与 miR-106a-5p 靶向关系:FGD5-AS1 与 miR-106a-5p 存在特异性结合位点,分别构建野生型 WT-FGD5-AS1 与突变型 MUT-FGD5-AS1 的荧光素酶报告载体,分别将 miR-NC、miR-106a-5p mimics 与 WT-FGD5-AS1、MUT-FGD5-AS1 共转染至细胞,48 h 后收集细胞,按照荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书检测其相对荧光素酶活性。

1.2.6 Western blot 检测 cleaved caspase-3、cleaved caspase-9 蛋白表达:蛋白裂解液后提取细胞总蛋白,按照 20 μ g 总蛋白上样量将蛋白样品加入 SDS-PAGE 凝胶中,经过垂直电泳后将其转移至 PVDF 膜,PVDF 膜在 5% 脱脂牛奶中封闭 2 h,然后将 PVDF 膜置于稀释比为 1:1 000 的 cleaved caspase-3、cleaved caspase-9、GAPDH 一抗中孵育过夜(4 $^{\circ}$ C),

TBST 洗涤,室温孵育二抗(1:2 000)1 h,加入显影液后曝光得到 cleaved caspase-3、cleaved caspase-9 的蛋白条带,用 Image-J 软件扫描蛋白条带的吸光度值。

1.3 统计学分析

采用 SPSS21.0 统计学软件分析数据,计量资料以均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示且均符合正态分布,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 Ox-LDL 诱导的 HUVECs 损伤中 lncRNA FGD5-AS1 和 miR-106a-5p mRNA 的表达

与 Ctrl 组比较,ox-LDL 组 FGD5-AS1 mRNA 的表达水平降低($P<0.05$),而 miR-106a-5p mRNA 的表达水平升高($P<0.05$)(表 1)。

表 1 Ox-LDL 诱导的 HUVECs 中 lncRNA FGD5-AS1 和 miR-106a-5p mRNA 的表达

Table 1 Expression of lncRNA FGD5-AS1 and miR-106a-5p mRNA in HUVECs induced by ox-LDL ($\bar{x}\pm s, n=9$)

group	FGD5-AS1	miR-106a-5p
Ctrl	1.00 \pm 0.06	1.00 \pm 0.07
ox-LDL	0.33 \pm 0.03*	3.19 \pm 0.22*

* $P<0.05$ compared with Ctrl group.

2.2 Ox-LDL 对 HUVECs 损伤的影响

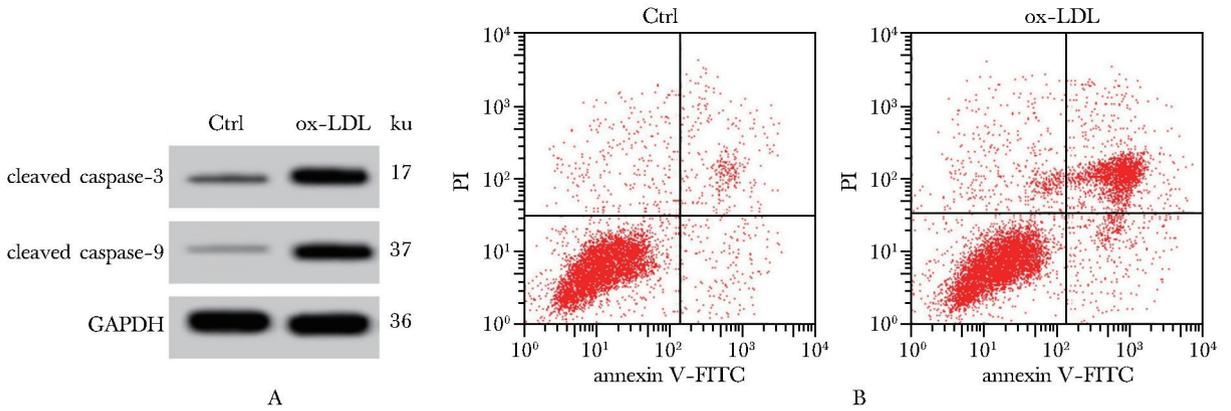
与 Ctrl 组比较,ox-LDL 组 MDA 的水平、凋亡率和 cleaved caspase-3、cleaved caspase-9 蛋白水平升高($P<0.05$),SOD、CAT 的活性降低($P<0.05$)(图 1,表 2)。

2.3 LncRNA FGD5-AS1 过表达对 ox-LDL 诱导的 HUVECs 损伤的影响

与(ox-LDL+pcDNA)组比较,(ox-LDL+pcDNA-FGD5-AS1)组 MDA 的水平、凋亡率和 cleaved caspase-3、cleaved caspase-9 蛋白水平降低($P<0.05$),SOD、CAT 的活性增强($P<0.05$)(图 2,表 3)。

2.4 LncRNA FGD5-AS1 靶向调控 miR-106a-5p 的表达

LncBase Predicted v. 2 预测显示 FGD5-AS1 与



A. apoptosis-related protein expression; B. apoptosis flow cytometry

图1 Ox-LDL对HUVECs凋亡相关蛋白及凋亡率的影响

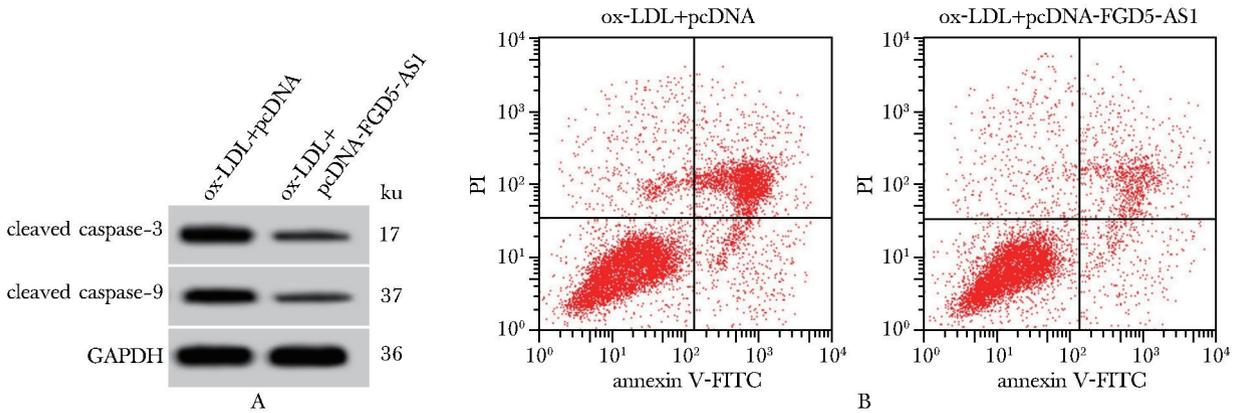
Fig 1 Effect of ox-LDL on HUVECs apoptosis-related proteins and apoptosis rate

表2 Ox-LDL对HUVECs损伤的影响

Table 2 Effect of ox-LDL on the damage of HUVECs ($\bar{x} \pm s, n=9$)

group	FGD5-AS1	MDA (nmol/L)	SOD (U/mL)	CAT (U/mL)	apoptosis rate (%)	cleaved caspase-3	cleaved caspase-9
Ctrl	1.00±0.05	4.31±0.41	32.24±3.63	52.06±5.59	7.12±0.68	0.24±0.02	0.14±0.02
ox-LDL	0.36±0.04*	14.52±1.24*	10.37±1.15*	22.86±2.09*	32.95±3.48*	0.75±0.05*	0.67±0.05*

* $P < 0.05$ compared with Ctrl group.



A. apoptosis-related protein expression; B. apoptosis flow cytometry

图2 LncRNA FGD5-AS1 过表达对 ox-LDL 诱导的 HUVECs 凋亡相关蛋白及凋亡率的影响

Fig 2 Effect of lncRNA FGD5-AS1 over-expression on the apoptosis-related proteins and apoptosis rate of HUVECs induced by ox-LDL

表3 LncRNA FGD5-AS1 过表达对 ox-LDL 诱导的 HUVECs 损伤的影响

Table 3 Effect of lncRNA FGD5-AS1 over-expression on the damage of HUVECs induced by ox-LDL ($\bar{x} \pm s, n=9$)

group	FGD5-AS1	MDA (nmol/L)	SOD (U/mL)	CAT (U/mL)	apoptosis rate (%)	cleaved caspase-3	cleaved caspase-9
ox-LDL+pcDNA	1.00±0.08	13.83±1.25	10.46±1.04	21.13±2.34	33.91±3.77	0.78±0.06	0.69±0.05
ox-LDL+pcDNA-FGD5-AS1	2.88±0.26*	5.62±0.46*	23.54±2.54*	45.02±5.58*	11.96±1.07*	0.31±0.03*	0.26±0.03*

* $P < 0.05$ compared with ox-LDL+pcDNA group.

miR-106a-5p 存在结合位点(图 3)。转染 miR-106a-5p mimics 可明显降低野生型载体 WT-FGD5-AS1 的荧光素酶活性($P<0.05$)(表 4)。与 pcDNA 组比较,pcDNA-FGD5-AS1 组 miR-106a-5p 的表达下调($P<0.05$);与 si-NC 组比较,si-FGD5-AS1 组 miR-106a-5p 的表达上调($P<0.05$)(表 5)。



图 3 FGD5-AS1 的序列中含有与 miR-106a-5p 互补的核苷酸序列

Fig 3 Sequence of FGD5-AS1 contains a nucleotide sequence complementary to miR-106a-5p

2.5 抑制 miR-106a-5p 表达对 ox-LDL 诱导的 HUVECs 损伤的影响

与(ox-LDL+anti-miR-NC)组比较,(ox-LDL+anti-miR-106a-5p)组 MDA 的水平、凋亡率和 cleaved

表 4 双荧光素酶报告基因实验
Table 4 Double luciferase report gene experiment ($\bar{x}\pm s, n=9$)

group	WT-FGD5-AS1	MUT-FGD5-AS1
miR-NC	0.98±0.05	0.97±0.06
miR-106a-5p	0.34±0.03*	1.00±0.05

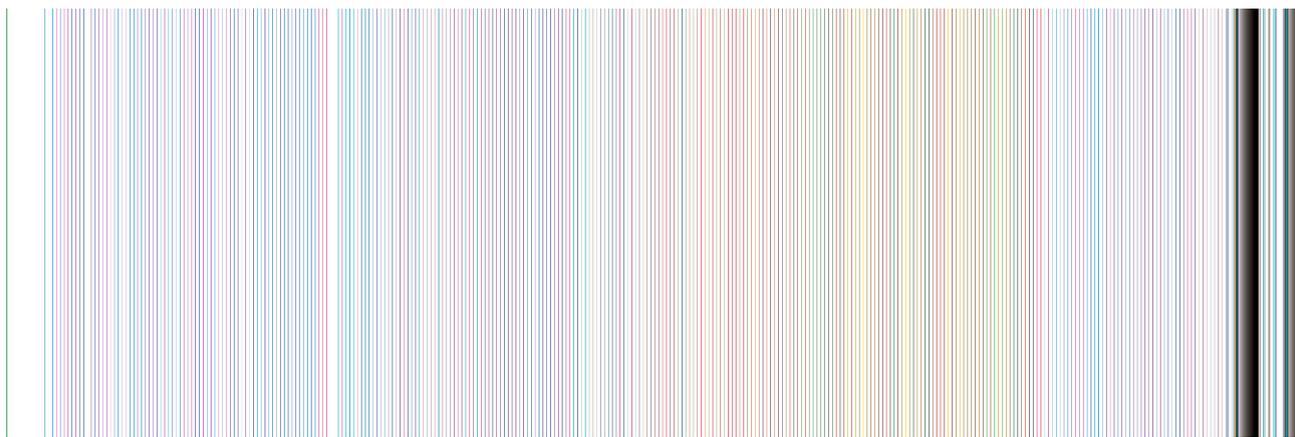
* $P<0.05$ compared with miR-NC group.

表 5 LncRNA FGD5-AS1 调控 miR-106a-5p 的表达
Table 5 LncRNA FGD5-AS1 regulated the expression of miR-106a-5p ($\bar{x}\pm s, n=9$)

group	miR-106a-5p
pcDNA	1.00±0.06
pcDNA-FGD5-AS1	0.43±0.04*
si-NC	0.97±0.05
si-FGD5-AS1	2.92±0.23 [#]

* $P<0.05$ compared with pcDNA; [#] $P<0.05$ compared with si-NC group.

caspase-3、cleaved caspase-9 蛋白水平降低($P<0.05$), SOD、CAT 的活性增强($P<0.05$)(图 4,表 6)。



A. apoptosis-related protein expression; B. apoptosis flow cytometry

图 4 抑制 miR-106a-5p 表达对 ox-LDL 诱导的 HUVECs 凋亡相关蛋白及凋亡率的影响

Fig 4 Effect of inhibiting the expression of miR-106a-5p on the apoptosis-related proteins and apoptosis rate of HUVECs induced by ox-LDL

表 6 抑制 miR-106a-5p 表达对 ox-LDL 诱导的 HUVECs 损伤的影响

Table 6 Effect of inhibiting the expression of miR-106a-5p on the damage of HUVECs induced by ox-LDL ($\bar{x}\pm s, n=9$)

group	miR-106a-5p	MDA (nmol/L)	SOD (U/mL)	CAT (U/mL)	apoptosis rate(%)	cleaved caspase-3	cleaved caspase-9
ox-LDL+anti-miR-NC	1.00±0.07	15.64±1.21	10.04±0.83	20.47±2.04	31.74±3.22	0.77±0.05	0.68±0.07
ox-LDL+anti-miR-106a-5p	0.26±0.02*	6.83±0.72*	17.84±1.19*	36.53±3.41*	15.27±1.32*	0.40±0.04*	0.33±0.03*

* $P<0.05$ compared with ox-LDL+anti-miR-NC group.

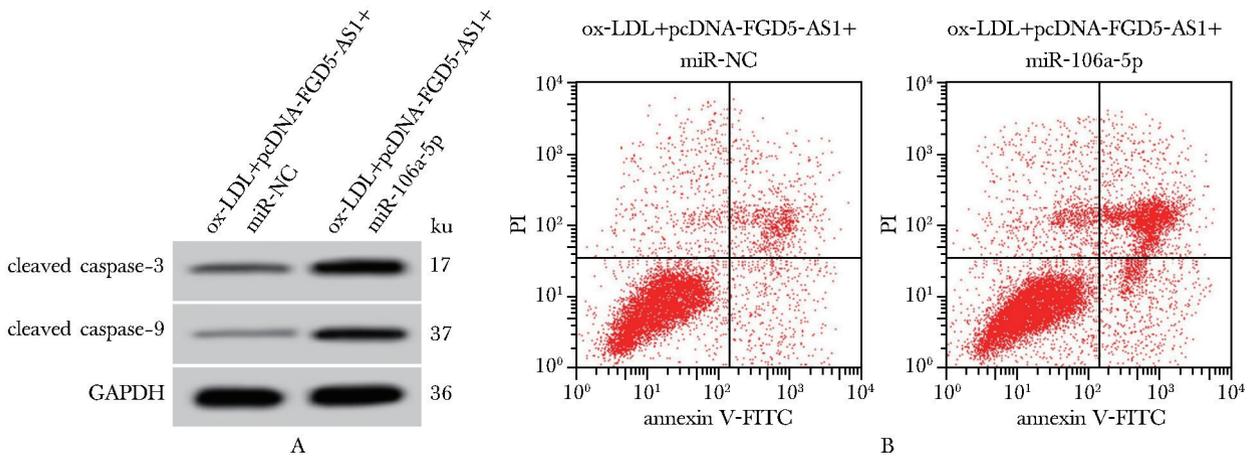
2.6 上调 miR-106a-5p 表达减缓了 lncRNA FGD5-AS1 过表达对 ox-LDL 诱导的 HUVECs 损伤的作用

与(ox-LDL+pcDNA-FGD5-AS1+miR-NC)组比较,(ox-LDL+pcDNA-FGD5-AS1+miR-106a-5p)组MDA的水平、凋亡率和cleaved caspase-3、cleaved caspase-9蛋白水平升高($P<0.05$),SOD、CAT的活性降低($P<0.05$)(图5,表7)。

3 讨论

LncRNA在动脉粥样硬化等多种疾病中表达异常,可能作为多种疾病诊断的潜在生物标志物,还可能作为动脉粥样硬化治疗的潜在靶点^[8-11]。但FGD5-AS1在动脉粥样硬化中的表达尚未可知。已

有研究报道指出,FGD5-AS1在神经元损伤中表达下调,上调其表达可通过充当miR-223的竞争内源性RNA分子而减轻神经元损伤^[12]。FGD5-AS1在急性心肌梗死患者和低氧诱导的心肌细胞损伤中下调表达,上调其表达可通过抑制miR-195而减轻低氧诱导的心肌细胞氧化损伤^[13]。表明FGD5-AS1高表达可能减轻细胞损伤。本研究结果显示,ox-LDL诱导的血管内皮细胞中FGD5-AS1的表达水平降低,提示FGD5-AS1表达下调可能促进血管内皮细胞损伤。本研究结果显示,ox-LDL诱导的血管内皮细胞中MDA的水平升高,SOD、CAT的活性降低,这与报道结果相似^[14],进一步研究发现,FGD5-AS1过表达可明显降低ox-LDL诱导的血管内皮细胞中MDA的水平,而SOD、CAT的活性增强,提示FGD5-



A. apoptosis-related protein expression; B. apoptosis flow cytometry

图5 上调 miR-106a-5p 表达减缓了 lncRNA FGD5-AS1 过表达对 ox-LDL 诱导的 HUVECs 凋亡相关蛋白及凋亡率的作用

Fig 5 Up-regulation of miR-106a-5p expression reversed the effect of lncRNA FGD5-AS1 over-expression on the apoptosis-related proteins and apoptosis rate of HUVECs induced by ox-LDL

表7 上调 miR-106a-5p 表达减缓了 lncRNA FGD5-AS1 过表达对 ox-LDL 诱导的 HUVECs 损伤的作用

Table 7 Up-regulation of miR-106a-5p expression reversed the effect of lncRNA FGD5-AS1 over-expression on ox-LDL-induced HUVECs damage($\bar{x}\pm s, n=9$)

group	miR-106a-5p	MDA (nmol/L)	SOD (U/mL)	CAT (U/mL)	apoptosis rate (%)	cleaved caspase-3	cleaved caspase-9
ox-LDL+pcDNA-FGD5-AS1+miR-NC	1.00±0.06	5.58±0.45	24.21±2.20	47.13±4.19	10.57±1.29	0.29±0.02	0.24±0.03
ox-LDL+pcDNA-FGD5-AS1+miR-106a-5p	2.65±0.22*	10.14±0.83*	15.55±1.62*	29.37±2.36*	23.53±2.55*	0.67±0.04*	0.56±0.04*

* $P<0.05$ compared with(ox-LDL+pcDNA-FGD5-AS1+miR-NC) group.

AS1 过表达可抑制 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞氧化应激而减轻细胞氧化损伤。氧化应激与细胞凋亡密切相关,细胞凋亡执行因子 caspase3 被激活后可促使细胞凋亡^[15]。本研究结果显示,ox-LDL 诱导的血管内皮细胞凋亡率升高,cleaved caspase-3、cleaved caspase-9 蛋白水平升高,而 FGD5-AS1 过表达后可明显降低 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞凋亡率及 cleaved caspase-3、cleaved caspase-9 蛋白水平,提示 FGD5-AS1 过表达可明显抑制 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞凋亡进而减轻细胞损伤。

为进一步探究 FGD5-AS1 在 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤中的作用机制,本研究证实 FGD5-AS1 可靶向结合 miR-106a-5p,并可充当 miR-106a-5p 的竞争性内源 RNA 分子,同时 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞中 miR-106a-5p 的表达水平升高,提示 FGD5-AS1 可能通过负向调控 miR-106a-5p 的表达而发挥作用。研究表明 miR-106a-5p 在骨关节炎软骨细胞中表达上调,下调其表达可减轻骨关节炎软骨细胞损伤^[16]。本研究结果显示,抑制 miR-106a-5p 表达可明显降低 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞中

MDA 的水平,而 SOD、CAT 的活性增强,并可降低细胞凋亡率,提示抑制 miR-106a-5p 表达可抑制氧化应激及凋亡从而减轻 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤。同时本研究结果显示,上调 miR-106a-5p 与 FGD5-AS1 过表达联合处理后 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞中 MDA 的水平升高,SOD、CAT 的活性降低,而凋亡率升高,提示上调 miR-106a-5p 可拮抗 FGD5-AS1 过表达对 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞氧化应激及凋亡的作用。

综上所述,ox-LDL 诱导的血管内皮细胞中 FGD5-AS1 的表达下调,而 miR-106a-5p 的表达上调,FGD5-AS1 可竞争性吸附 miR-106a-5p 而负向调控其表达,FGD5-AS1 过表达可通过下调 miR-106a-5p 而抑制 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞氧化应激及凋亡进而减轻细胞损伤,FGD5-AS1 可能作为动脉粥样硬化治疗的潜在靶点,可为进一步了解 lncRNA 在 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤中的作用提供新方向,还可为动脉粥样硬化的预防及治疗奠定实验基础。

参考文献:

- [1] 鲍金伟,孙蓓,马萍萍,等. miRNA-27b 靶向 TET2 基因对 ox-LDL 诱导内皮细胞炎症反应和细胞凋亡的影响[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2019, 39: 856-863.
- [2] 陈小兰,陶福正,郑道国,等. GLP-1 通过 miR-22/NLRP3 途径减轻 ox-LDL 诱导的内皮细胞焦亡[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27: 410-416.
- [3] Bian W, Jing X, Yang Z, *et al.* Downregulation of lncRNA NORAD promotes ox-LDL-induced vascular endothelial cell injury and atherosclerosis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12: 6385-6400.
- [4] Li H, Zhao Q, Chang L, *et al.* LncRNA MALAT1 modulates ox-LDL induced EndMT through the Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18: 62-72.
- [5] Chen H, Lan Z, Li Q, *et al.* Abnormal expression of long noncoding RNA FGD5-AS1 affects the development of periodontitis through regulating miR-142-3p/SOCS6/NF- κ B pathway[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47: 2098-2106.
- [6] Hu Y, Xu R, He Y, *et al.* Downregulation of microRNA-106a-5p alleviates ox-LDL-mediated endothelial cell injury by targeting STAT3 [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22: 783-791.
- [7] 朱为勇,唐元升,盖延红,等. 和厚朴酚对 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用及其机制研究[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10: 1079-1083.
- [8] Zheng Z, Zhang G, Liang X, *et al.* LncRNA OIP5-AS1 facilitates ox-LDL-induced endothelial cell injury through the miR-98-5p/HMGB1 axis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 29: 1-9.
- [9] Cao L, Zhang Z, Li Y, *et al.* LncRNA H19/miR-let-7 axis participates in the regulation of ox-LDL-induced endothelial cell injury via targeting periostin[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 72: 496-503.
- [10] Xu X, Ma C, Duan Z, *et al.* LncRNA ZEB1-AS1 mediates oxidative low-density lipoprotein-mediated endo-

- thelial cells injury by post-transcriptional stabilization of NOD2[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 397-407.
- [11] Guo JT, Wang L, Yu HB. Knockdown of NEAT1 mitigates ox-LDL-induced injury in human umbilical vein endothelial cells via miR-30c-5p/TCF7 axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24: 9633-9644.
- [12] Zhang XQ, Song LH, Feng SJ, *et al.* LncRNA FGD5-AS1 acts as a competing endogenous RNA for miRNA-223 to lessen oxygen-glucose deprivation and simulated reperfusion (OGD/R)-induced neurons injury[J]. *Folia Neuropathol*, 2019, 57: 357-365.
- [13] Cai X, Zhang P, Wang S, *et al.* LncRNA FGD5 antisense RNA 1 upregulates RORA to suppress hypoxic injury of human cardiomyocyte cells by inhibiting oxidative stress and apoptosis via miR-195 [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22: 4579-4588.
- [14] 刘刚, 郭山岭, 胡永寸, 等. 沉默 VCAM-1 基因降低 ox-LDL 诱导的 HUVECs 氧化损伤和凋亡[J]. *基础医学与临床*, 2019, 39: 1423-1426.
- [15] 闫博阳, 赵津璋, 陈虹. PTEN 在动脉粥样硬化中的表达及对血管内皮细胞增殖凋亡的影响研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34: 745-750.
- [16] Ji Q, Qi D, Xu X, *et al.* Cryptotanshinone protects cartilage against developing osteoarthritis through the miR-106a-5p/GLIS3 axis [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 170-179.

本刊稿件格式要求(3)

3.1 参考文献:应为正式发表的论文或书籍。

3.1.1 引用期刊格式:

[文献序号]. 著者. 文献题名[J]. 刊名, 出版年, 卷号: 起页-止页.

-外国人名书写格式:姓在前/名在后、姓全称/名缩写;3位以内作者须写全,3位以上作者列前3位,后加“等”或“*et al.*”。

-外文刊名书写格式:按照 PubMed 格式规范缩写。

例:[1] Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, *et al.* Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B [J]. *N Engl J Med*, 1975, 292: 767-770.

[2] 杨汀, 王辰, 庞宝森, 等. 比较地塞米松和色甘酸钠对哮喘豚鼠气道重建的作用[J]. *基础医学与临床*, 2004, 24:633-636.

3.1.2 引用书籍格式:

[文献序号]. 析出文献著者. 析出文献题名[M]//专著著者(或编者). 专著书名. 版次(第1版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 析出文献起页-止页.

例:[1] 章静波. 癌细胞行为的分子基础[M]//柳惠图, 王永潮, 桑建利. 分子细胞生物学. 北京: 高等教育出版社, 2012: 501-505.

3.1.3 引用电子期刊:需注明 doi 号。

3.1.4 引用毕业论文:需注明“学校所在城市:学校名称,出版年:所引用起页-止页。”。