

· 论 著 ·

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.22.002

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220921.1505.004.html>(2022-09-22)

自组装短肽 Sciobio-Ⅱ 通过 Notch 信号通路保护 ox-LDL 诱导的脐静脉内皮细胞凋亡^{*}

龚心琰,朱凌波,郑娟庆,龚剑萍

(浙江省义乌市中心医院心内科 322000)

[摘要] 目的 初步探索自组装短肽 Sciobio-Ⅱ 抑制氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的脐静脉内皮细胞(HUVEC)凋亡的作用机制。方法 构建自组装短肽体系,体外培养 HUVEC,分为 5 组并给予含不同试剂的 DMEM 完全培养基培养:control 组(PBS)、ox-LDL 组(200 mg/L ox-LDL)、Sciobio-Ⅱ 组(150 mg/L Sciobio-Ⅱ)及 ALL 组(200 mg/L ox-LDL+150 mg/L Sciobio-Ⅱ)、LY 组[200 mg/L ox-LDL+150 mg/L Sciobio-Ⅱ+25 μmol/L 血管内皮生长因子(VEGF)/Notch 信号通路抑制剂 LY450139]。刚果红染色宏观定性观察短肽成胶能力;CCK-8 试验检测各组细胞增殖;末端 DNA 转移酶 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)、Annexin V/PI 试验法检测细胞凋亡;实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)和蛋白免疫印迹(Western blot)试验检测 Bax、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Notch1、血管内皮生长因子受体 2(VEGFR-2)基因及蛋白的表达情况。结果 刚果红染色结果表明 Sciobio-Ⅱ 可以自组装形成三维体系;细胞增殖结果显示:与 control 组比较,ox-LDL 组的 HUVEC 增殖能力受抑制($P<0.05$);与 ox-LDL 组比较,Sciobio-Ⅱ 组、ALL 组的 HUVEC 增殖能力提高,Sciobio-Ⅱ 组高于 ALL 组($P<0.05$)。细胞凋亡实验结果:与 control 组比较,ox-LDL 组细胞凋亡率增加($P<0.05$);与 ox-LDL 组比较,Sciobio-Ⅱ 组和 ALL 组细胞凋亡率均降低,Sciobio-Ⅱ 组低于 ALL 组($P<0.05$);qRT-PCR 及 Western blot 实验(SYBR 法)结果表明:ox-LDL 组 Bcl-2、VEGFR-2 基因与蛋白表达水平低于 control 组,ALL 组高于 ox-LDL 组,LY 组低于 ALL 组;ox-LDL 组 Bax、Notch1 基因与蛋白表达水平高于 control 组,ALL 组低于 ox-LDL 组,LY 组高于 ALL 组(均 $P<0.05$)。结论 自组装短肽 Sciobio-Ⅱ 可通过激活 VEGF/Notch 信号通路减轻 ox-LDL 引起的 HUVEC 凋亡。

[关键词] 自组装短肽;氧化低密度脂蛋白;人脐静脉内皮细胞;增殖;细胞凋亡

[中图分类号] R318.08

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2022)22-3786-06

Self-assembling short peptide Sciobio-Ⅱ in protecting apoptosis of OX-induced human umbilical vein endothelial cells by Notch signal pathway^{*}

GONG Xinyan, ZHU Lingbo, ZHENG Juanqing, GONG Jianping

(Department of Cardiology, Yiwu Central Hospital, Yiwu, Zhejiang 322000, China)

[Abstract] **Objective** To preliminarily investigate the action mechanism of self-assembling short peptide Sciobio-Ⅱ in inhibiting the apoptosis of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) induced by oxidized low density lipoprotein (ox-LDL). **Methods** The self-assembling short peptides system was constructed. HUVEC were cultured in vitro, and were divided into five groups and given different reagents of DMEM complete medium: the control group (PBS), the ox-LDL group (200 mg/L of ox-LDL), Sciobio-Ⅱ group (150 mg/L of Sciobio-Ⅱ) and ALL group (200 mg/L of ox-LDL + 150 mg/L of Sciobio-Ⅱ), LY group (200 mg/L of ox-LDL + 150 mg/L of Sciobio-Ⅱ + 25 μmol/L of signal pathway inhibitor LY450139). The Congo red staining was used to observe the gelatinizing ability of short peptides. The cell proliferation in each group was detected by the CCK-8 experiment. The cellular apoptosis was detected by TUNEL and Annexin V/PI experiment. The expression levels of Bax, Bcl-2, Notch1 and VEGFR-2 gene and protein were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results** The Congo red staining results showed that Sciobio-Ⅱ could be self-assembled to form a three-dimensional system. The cell proliferation results showed that compared with the control group, the proliferation of HUVEC in the ox-LDL group was inhibited ($P<0.05$). Compared with the ox-LDL group,

^{*} 基金项目:浙江省义乌市科技计划项目(19-3-05);浙江省金华市科技计划项目(2019-4-136)。 作者简介:龚心琰(1982—),副主任医师,硕士,主要从事动脉粥样硬化病理研究。

the HUVEC proliferation in the Sciobio-Ⅱ group and the ALL group was increased, and the Sciobio-Ⅱ group was higher than the ALL group ($P<0.05$). The cell apoptosis experiment results showed that compared with the control group, the apoptosis in the ox-LDL group was increased ($P<0.05$), compared with the ox-LDL group, the apoptosis in the Sciobio-Ⅱ group and ALL group was decreased, the Sciobio-Ⅱ group was lower than ALL group ($P<0.05$); the qRT-PCR and Western blot experiment results showed that the gene and protein expression levels of Bcl-2 and VEGFR-2 genes and proteins in the ox-LDL group were lower than those in the control group, the ALL group was higher than the ox-LDL group, the LY group was lower than the ALL group. The gene and protein expression levels of Bax and Notch1 in the ox-LDL group were higher than those in the control group ($P<0.05$), and the ALL group was lower than the ox-LDL group, the LY group was higher than the ALL group ($P<0.05$). **Conclusion** Self-assembling short peptide Sciobio-Ⅱ alleviates the HUVEC apoptosis induced by ox-LDL, which possibly through activating the VEGF/Notch signaling pathway.

[Key words] self-assembling peptides; oxidized low density lipoprotein; human umbilical vein endothelial cells; proliferation; apoptosis

心脑血管疾病是目前中老年群体的常见病及多发病,多基于动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)发生,机制较为复杂^[1]。在 AS 形成的过程中,氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)可以损伤血管内皮细胞,使脂质及炎性细胞等在损伤区浸润,形成粥样斑块^[2-3]。因此,目前研究认为减轻 ox-LDL 引起的血管内皮细胞损伤是干预 AS 的有效靶点之一^[4]。本研究选用的自组装短肽(self-assembling peptide, SAP)Sciobio-Ⅱ,是由 16 个氨基酸残基构成的一种可以仿细胞外基质(extracellular matrix, ECM)功能的生物支架纳米材料,能够模仿 ECM 与细胞因子、生长因子之间的相互作用,进一步影响细胞的增殖与分化^[5]。目前,Sciobio-Ⅱ对 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤是否具有保护作用,以及其可能的相互作用机制未见相关文献报道。因此,本研究采用脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)作为实验对象,通过体外实验,验证和探究 Sciobio-Ⅱ对 ox-LDL 诱导 HUVEC 损伤的实验效应及其相关分子机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料

自组装短肽 Sciobio-Ⅱ(序列: RLEVKADAR-LEVKADA-NH₂)由成都赛恩贝生物科技有限公司赠送;ox-LDL(Cat 号: 20605ES05)、TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(Alexa Fluor 640, Cat 号: 40308ES20)、Annexin V/碘化丙啶(PI)细胞凋亡检测试剂盒(Cat 号: 40305ES20)、鼠抗二抗抗体(批号: 33201ES60)均购自上海翊圣生物科技有限公司;细胞活力检测试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8)购自上海碧云天生物技术有限公司(Cat 号: C0043);HUVEC 购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库;血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)/Notch 信号通路

抑制剂 LY450139 (Cat 号: 425386-60-3) 购自美国 MCE 公司。PBS (Cat 号: SH30256.01) 购自美国 HyClone 公司;DMEM 高糖培养基(REF: 12430047) 购自美国 Gibco 公司;RNA 提取试剂(Cat 号: 79306) 购自上海凯杰公司;血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR-2, 批号: ab237634)、Notch1 (批号: ab52627)、B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2, 批号: ab32124)、Bax (批号: ab32503) 一抗抗体购自英国 Abcam 公司;β-肌动蛋白(β-actin) 一抗抗体(批号: A5441) 购自美国 Sigma 公司;Bax、Bcl-2、VEGF-2、Notch1 引物由上海生工生物公司合成,引物序列见表 1;qPCR (SYBR® Premix Ex Taq™ II) 试剂盒(Cat 号: RR820A)、PrimeScript™ 反转录试剂盒(Cat 号: RR047A) 购自日本 TaKaRa 公司;PCR 扩增仪(型号 Life ECO) 购自杭州博日公司;荧光定量 PCR 仪(型号 ABI7500) 购自美国 ABI 公司;Western blot 电泳系统购自美国 Bio-Rad 公司;凝胶成像系统(型号: e-Blot 100) 购自德国易勃特生物科技有限公司。见表 1。

表 1 各基因引物序列

基因	方向	引物序列(5'-3')	产物大小 (bp)
β-actin	正向	TCCTGGGTGAGTGGAGACTG	105
	反向	ATGCCTGAGAGGGAAATGAGG	
Bcl-2	正向	GAAGCACAGATGGTTGATGG	496
	反向	CAGCCTCACAAGGTTCCAAT	
Bax	正向	CACAACTCAGCGAAACATT	519
	反向	ACAGCCATCTCTCTCCATGC	
VEGFR-2	正向	GGGACTTGGAAGTGGCTTT	131
	反向	CGCTCCAGTGTTCATATC	
Notch1	正向	CGACGATTGTCCAGGAAAC	87
	反向	CACTCTGGCGGGCAGC	

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及分组

HUVEC 用含有 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基贴壁培养(CO_2 浓度为 5%),待细胞融合度为 90%时(细胞计数约为 2×10^7 个),移除培养基,传代后继续培养扩增,得到足够数量的细胞后(本实验传至第 3 代)接种在不同规格的培养板内并进行相应的分组处理。设置不同浓度(0、10、20、50、100、150、200、250、300 mg/L)的 Sciobio-Ⅱ,分组处理细胞,筛选出最佳浓度进一步行后续实验,经预实验结果显示,Sciobio-Ⅱ浓度为 150 mg/L 时各组表型均较为显著。再根据给予含不同试剂的 DMEM 完全培养基将细胞分 5 组:control 组(PBS)、ox-LDL 组(200 mg/L ox-LDL)、Sciobio-Ⅱ组(150 mg/L Sciobio-Ⅱ)、ALL 组(200 mg/L ox-LDL+150 mg/L Sciobio-Ⅱ)、LY 组(200 mg/L ox-LDL+150 mg/L Sciobio-Ⅱ+25 $\mu\text{mol/L}$ VEGF/Notch 信号通路抑制剂 LY450139)。

1.2.2 刚果红染色

用 PBS 配制 150 mg/L Sciobio-Ⅱ溶液,在 25 $^{\circ}\text{C}$ 适宜条件下自组装 24 h,分别于 0、8、12、24 h 时取 5~10 μL 前述溶液,滴于载玻片上,用配好的刚果红染色液染色 30 s,置于光镜下观察,分别拍照留存。

1.2.3 细胞增殖能力的检测

HUVEC 接种在 96 孔培养板内(最外侧 36 个孔加入空白培养基),每孔约 3 000 个细胞,每组 6 孔,8 h 后镜下观察细胞贴壁情况,确认贴壁良好后,加入 ox-LDL、Sciobio-Ⅱ等试剂,分别在 0、24、48、72 h 时加入 CCK-8 试剂盒的检测液,10 微升/孔,按照 CCK-8 试剂盒说明书操作,继续培养 4 h,使用多功能酶标仪于 450 nm 波长测定吸光度(A_{450})值,绘制曲线图。

1.2.4 细胞凋亡的检测

1.2.4.1 末端 DNA 转移酶 dUTP 缺口末端标记 (TUNEL)法检测

HUVEC 培养后接种在 24 孔培养板上,每孔 3×10^4 个细胞,8 h 后镜下确认细胞贴壁,加入 ox-LDL、Sciobio-Ⅱ、LY450139 等试剂,处理 48 h 后,弃去细胞培养基并用 PBS 洗涤 2 次,加入 TUNEL 试剂盒中的固定液(4%多聚甲醛),固定 20 min,加入 PI,每孔 50 μL ,置于 CO_2 培养箱中避光孵育 60 min, PBS 洗涤 3 次后封片,使用共聚焦荧光显微镜进行观察(激发波长为 550 nm,发射波长为 570 nm),分别拍照留存,计算凋亡率。

1.2.4.2 Annexin V/PI 双染法检测

HUVEC 培养后接种在 6 孔培养板上,每孔 4×10^5 个细胞,8 h 后镜下确认细胞贴壁良好,加入 ox-LDL、Sciobio-Ⅱ、LY450139 等试剂,干预 48 h 后,移

除细胞培养基, PBS 洗涤 2 次,加入 250 μL 0.25% 无乙二胺四乙酸(EDTA)的胰酶消化细胞(37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 培养箱孵育 3 min),离心(1 000 $\times g$, 5 min)后弃上清液,加入 195 μL Annexin V/PI 结合液,轻轻重悬细胞,再加入 5 μL Annexin V/PI 结合液和 10 μL PI,混合均匀,在室温下避光孵育 15 min,使用流式细胞仪进行检测(Annexin V-FITC 为绿色荧光,PI 为红色荧光),分析数据,计算凋亡率。

1.2.5 蛋白免疫印迹(Western blot)试验

HUVEC 接种、贴壁且融合度为 60%后,加入 ox-LDL、Sciobio-Ⅱ、LY450139 等试剂处理 48 h;加入 250 mL 含 1 mmol/L 苯甲基磺酰氟的蛋白裂解液,使用 BCA 试剂盒进行蛋白定量[稀释 10 倍,使用酶标仪测定 562 nm 处吸光度($A_{562 \text{ nm}}$)值];采用 70~120 V 的恒压进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),待目的条带电泳至分离胶中间。300 mA 恒电流进行聚偏氟乙烯(PVDF)膜转印,转印结束后做好标记;加入 Bcl-2、Bax、VEGFR-2、Notch1、 β -actin 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;次日回收一抗,加入各自对应的二抗;回收二抗,洗膜后每张膜加入配好的化学发光液,在凝胶成像仪中曝光得到蛋白条带(压片式)。使用 Image-J 软件扫描各条带灰度值,根据灰度值计算蛋白表达水平。

1.2.6 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)

HUVEC 培养后接种在 6 孔培养板,每孔 4×10^5 个细胞,8 h 镜下确认细胞贴壁后,加入 ox-LDL、Sciobio-Ⅱ、LY450139 等试剂处理 48 h, PBS 洗涤 2 遍,提取总 RNA(具体按试剂盒说明操作),琼脂糖电泳检测 RNA 完整性,并确认各标本 RNA 合格后,取 1 μg 总 RNA 进行反转录 PCR,制备 cDNA,再进行 RT-qPCR 检测(SYBR 法),检测基因包括 Bcl-2、Bax、VEGFR-2、Notch1,以 β -actin 为内参,使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算各基因的表达水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 和 Graph-Pad Prism8.0 软件分析数据。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示;多组间比较采用单因素方差分析;两两比较采取 LSD- t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 自组装短肽形成结果

刚果红染色结果观察到 Sciobio-Ⅱ动态的宏观自组装过程,开始自组装 2 h 时,镜下可见短肽形成多层疏松薄膜(图 1A);自组装 4 h 后,层片状的薄膜形成片状松散状(图 1B);自组装 12 h 后,片状薄膜的厚度较前增加,同时薄膜之间开始相互连接(图 1C);自组装 24 h 后,较为致密的单层膜状结构已经形成(图

1D)。

2.2 细胞增殖情况的比较

与 control 组比较, ox-LDL 组的 A_{450} 值明显下降

($P < 0.05$); 与 ox-LDL 组比较, Sciobio-Ⅱ组、ALL 组的 A_{450} 值升高, Sciobio-Ⅱ组明显高于 ALL 组($P < 0.05$)。见图 2。

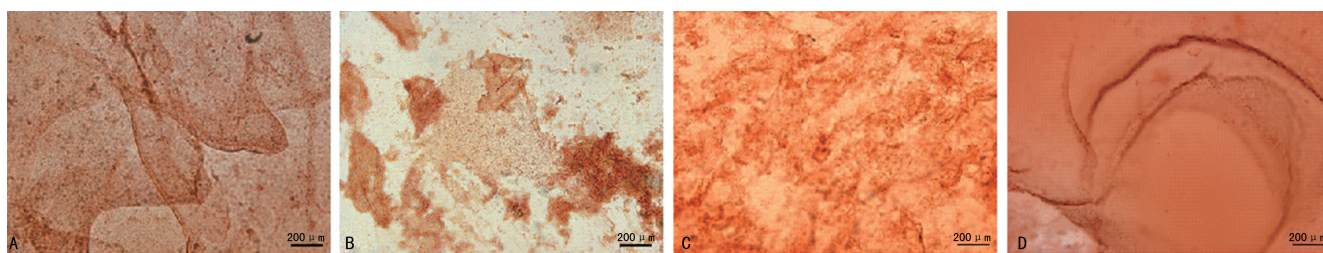


图 1 自组装短肽的刚果红染色图

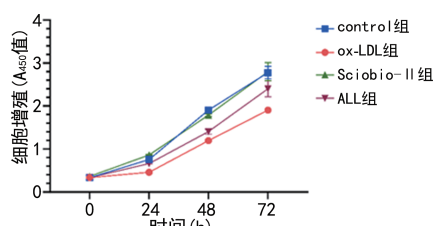


图 2 各实验组细胞增殖情况

2.3 细胞凋亡率的比较

TUNEL 法与 Annexin V/PI 双染法均发现, 与 control 组比较, ox-LDL 组的细胞凋亡率明显增加($P < 0.05$); 与 ox-LDL 组比较, Sciobio-Ⅱ组和 ALL 组的细胞凋亡率明显下降($P < 0.05$), Sciobio-Ⅱ组明

显低于 ALL 组($P < 0.05$)。见图 3。

2.4 各组 Bcl-2、VEGFR-2、Bax、Notch1 基因水平的表达

与 control 组比较, ox-LDL 组细胞中 Bax、Notch1 的基因表达水平升高, Bcl-2、VEGFR-2 的基因表达水平降低($P < 0.05$); 与 ox-LDL 组比较, ALL 组细胞中 Bax、Notch1 的基因表达水平降低, Bcl-2、VEGFR-2 的基因表达水平升高($P < 0.05$); 与 ALL 组比较, LY 组 Bax、Notch1 的基因表达水平升高, Bcl-2、VEGFR-2 的基因表达水平降低($P < 0.05$)。见图 4。

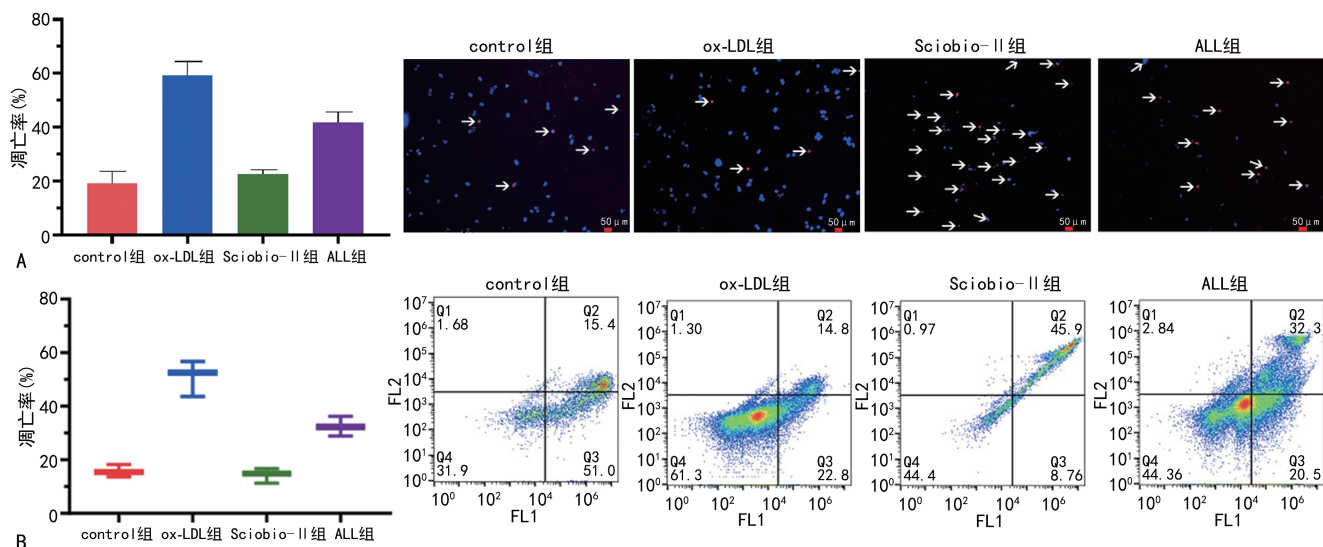


图 3 细胞凋亡实验结果

2.5 各组 Bcl-2、VEGFR-2、Bax、Notch1 蛋白表达水平的比较

与 control 组比较, ox-LDL 组细胞中 Bax、Notch1 的蛋白表达水平升高, Bcl-2、VEGFR-2 的蛋白表达水平降低($P < 0.05$); 与 ox-LDL 组比较, ALL

组细胞 Bax、Notch1 的蛋白表达水平降低, Bcl-2、VEGFR-2 的蛋白表达水平升高($P < 0.05$); 与 ALL 组比较, LY 组 Bax、Notch1 的蛋白表达水平升高, Bcl-2、VEGFR-2 的蛋白表达水平降低($P < 0.05$)。见图 5。

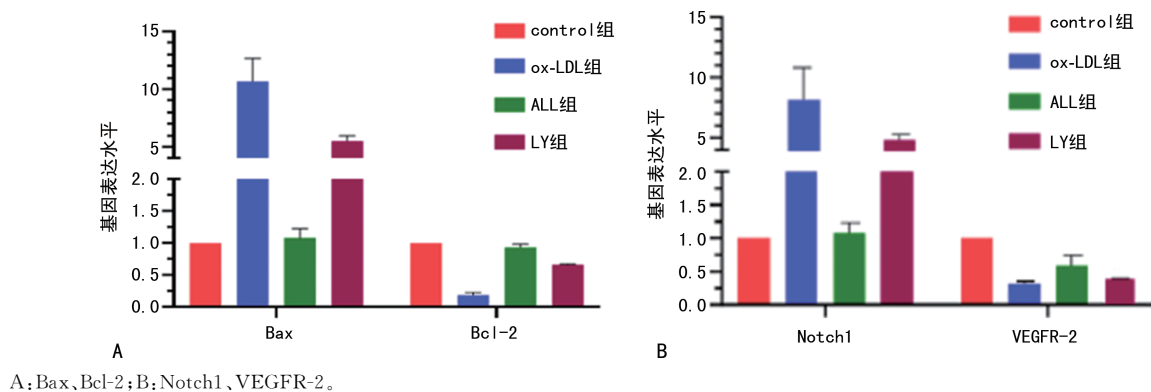


图4 各实验组细胞 Bcl-2、VEGFR-2、Bax、Notch1 基因表达比较

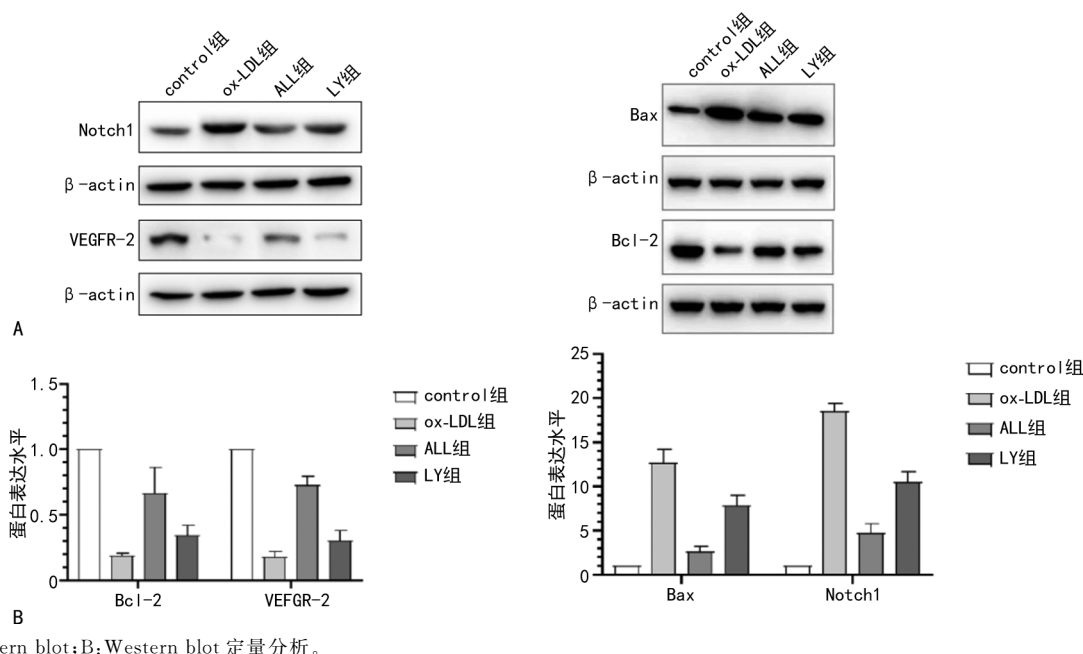


图5 各实验组细胞 Bcl-2、VEGFR-2、Bax、Notch1 蛋白表达比较

3 讨论

自组装短肽是近年新兴的一种多功能生物材料,其形成的纳米纤维支架可以模仿体内细胞生长的微环境,控制释放生长因子,从组织、细胞到信号因子,蛋白表达促进细胞和组织原位修复和再生,具有高生物活性与高生物相容性,因而被广泛应用^[5-7]。HUVEC 已证实可通过多种途径在炎性细胞的黏附和迁移,以及新生血管的形成等病理生理过程中发挥作用,且结构和功能与动脉内皮细胞相似^[8-9]。而 ox-LDL 可以增加血管内皮细胞对某些生长因子、细胞因子的表达和分泌,促进泡沫细胞的形成,抑制内皮依赖性血管松弛,诱导细胞凋亡和坏死,是内皮功能损伤的危险因素^[10-11]。低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)通过氧化应激作用形成 ox-LDL, ox-LDL 可以与内皮细胞表面受体(LOX-1)特异性结合,引起内皮功能失调、损伤,是促进斑块形成的重要机制^[2,12]。

为了明确 Sciobio-Ⅱ 在 ox-LDL 诱导血管内皮损

伤中的作用,本实验以 ox-LDL 刺激 HUVEC 作为体外细胞模型,通过检测细胞增殖情况及细胞凋亡,可观察到 ox-LDL 刺激后 HUVEC 的增殖明显下降、细胞凋亡率则明显增加,说明 ox-LDL 能够诱导 HUVEC 发生损伤。在 ox-LDL 刺激的基础上引入 Sciobio-Ⅱ 后发现细胞增殖较 ox-LDL 组能明显恢复,细胞凋亡率下降,说明 Sciobio-Ⅱ 能够改善 ox-LDL 引起的 HUVEC 损伤,结合本实验研究结果表明其具体作用机制可能与 Bax/Bcl-2 通路有关。结合本课题组现有的研究结果,筛选探索 Bax/Bcl-2 相关信号通路,认为这一恢复作用的分子介导机制可能与 VEGF/Notch 信号通路相关。VEGF 是已证实的能够在血管损伤及再生过程中发挥作用的一种生长因子,可以介导 Notch 信号通路,刺激信号通路中的 Bax、Bcl-2 基因,使 Bcl-2 基因表达水平增多, Bax 基因表达水平减少,从而促进血管内皮细胞迁移、黏附及微血管网络的生成,抑制血管内皮细胞凋亡^[13-15]。本实验结果显示在引入 VEGF/Notch 信号通路抑制剂后, Bax 和

Notch1 的蛋白及基因表达水平升高, Bcl-2 和 VEGFR-2 的蛋白及基因表达水平降低, 说明 Sciobio-II 是可以通过被激活的 VEGF/Notch 信号通路来减轻 ox-LDL 引起的 HUVEC 凋亡。

综上所述, 自组装短肽 Sciobio-II 通过激活 VEGF/Notch 信号通路减轻 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤, 这也可能是 Sciobio-II 发挥细胞保护作用的机制与作用途径, 今后可进一步开展体内实验来验证, 并进一步研究其对动脉粥样硬化的预防或延缓作用, 为临床治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] DONG Z, JING L, MIAO W, et al. Epidemiology of cardiovascular disease in China: current features and implications[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16(4): 203-212.
- [2] TIAN K, OGURA S, LITTLE P J, et al. Targeting LOX-1 in atherosclerosis and vasculopathy: current knowledge and future perspectives [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2019, 1443(1): 34-53.
- [3] CHEN X, LIN J, HU T, et al. Galectin-3 exacerbates ox-LDL-mediated endothelial injury by inducing inflammation via integrin β 1-RhoA-JNK signaling activation [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7): 10990-11000.
- [4] 彭琴, 周琴怡, 黄柯, 等. 早发冠心病相关脂质代谢基因变异的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(3): 264-270.
- [5] LUO Z, ZHANG S. Designer nanomaterials using chiral self-assembling peptide systems and their emerging benefit for society[J]. *Chem Soc Rev*, 2012, 41(13): 4736-4754.
- [6] GELAIN F, LUO Z, ZHANG S. Self-assembling peptide EAK16 and RADA16 nanofiber scaffold hydrogel[J]. *Chem Rev*, 2020, Dec 23; 120(24): 13434-13460.
- [7] ZHANG S. Self-assembling peptides: from a discovery in a yeast protein to diverse uses and beyond[J]. *Protein Sci*, 2020, Nov; 29(11): 2281-2303.
- [8] PAN L, LIAN W, ZHANG X, et al. Human circular RNA-0054633 regulates high glucose-induced vascular endothelial cell dysfunction through the microRNA-218/roundabout 1 and microRNA-218/heme oxygenase-1 axes[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(1): 597-606.
- [9] LI Y, ZHU H, WEI X, et al. LPS induces HUVEC angiogenesis in vitro through miR-146a-mediated TGF- β 1 inhibition [J]. *Am J Transl Res*, 9(2): 591-600.
- [10] ZHAOLIN Z, JIAOJIAO C, PENG W, et al. Ox-LDL induces vascular endothelial cell pyroptosis through miR-125a-5p/TET2 pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 7475-7491.
- [11] WANG Y, CHE J, ZHAO H, et al. Osteolysis alleviates oxidized low-density lipoprotein-induced vascular endothelial injury through suppression of transforming growth factor- β 1/Smad pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 65(65): 373-381.
- [12] 俞菊梅, 胡利琳. 人剪切修复基因 D 介导 ox-LDL 促进 HUVEC 凋亡作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(1): 19-24.
- [13] ZHANG Q, WANG L, WANG S, et al. Signaling pathways and targeted therapy for myocardial infarction[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 78.
- [14] LÓPEZ-GUERRA M, XARGAY-TORRENT S, FUENTES P, et al. Specific NOTCH1 antibody targets DLL4-induced proliferation, migration, and angiogenesis in NOTCH1-mutated CLL cells[J]. *Oncogene*, 2020, 39(6): 1185-1197.
- [15] SHANGBIN L, GUANGQI X, FENG G, et al. Expression and association of VEGF-Notch pathways in infantile hemangiomas[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 3737-3743.

(收稿日期: 2022-05-28 修回日期: 2022-08-21)