

·实验研究 Experimental research·

微小 RNA-155 通过 Notch 信号通路对脑缺血-再灌注损伤的影响

房裕钞, 王黎洲, 黄学卿, 杨登科, 周 石, 李 兴, 蒋天鹏

【摘要】 目的 探讨微小 RNA(miR)在小鼠大脑中动脉闭塞(MCAO)所造成缺血-再灌注(I-R)损伤中的调控作用。**方法** 构建 C57BL/6 小鼠 MCAO 模型,采用氯化三苯四氮唑(TTC)染色和神经功能评分了解脑 I-R 损伤对小鼠神经功能的影响。实时定量聚合酶链反应(RT-qPCR)技术检测 miR-155 表达,苏木精-伊红(HE)染色观察 miR-155 对脑组织病理学的影响,伊文氏蓝(EB)和脑组织含水量检测观察 miR-155 对血脑屏障(BBB)通透性的影响,一氧化氮(NO)含量和内皮型一氧化氮合酶(eNOS)表达检测评估 miR-155 对血管内皮细胞功能的影响,免疫印迹法检测 Notch1、Notch1 胞内结构域(NICD)、Jagged1 和 Hes1 表达,RT-qPCR 检测 Notch1 和 Hes1 mRNA 水平,以明确 miR-155 在 Notch 信号通路中的作用。**结果** miR-155 缺失提高 Notch1、NICD、Hes1 表达,降低脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)染色阳性细胞百分比和半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(caspase)-3 水平;干扰 miR-155 表达增加 NO 产生和 eNOS 表达,导致脑组织含水量和 EB 含量下调。miR-155 过度表达使所有这些改变恢复至脑 I-R 损伤水平。Notch1、NICD、Hes1 表达减轻脑 I-R 损伤状态。**结论** miR-155 可通过 Notch 信号通路阻断正常 NO 产生和 eNOS 表达,这一调控机制可能是未来缺血性脑卒中治疗潜在靶点之一。

【关键词】 脑缺血-再灌注损伤;微小 RNA-155; Notch 通路;一氧化氮;内皮型一氧化氮合酶

中图分类号:R743.3 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2019)-07-0661-08

The effect of microRNA -155 on cerebral ischemia -reperfusion injury through regulation of Notch signaling FANG Yuchao, WANG Lizhou, HUANG Xueqing, YANG Dengke, ZHOU Shi, LI Xing, JIANG Tianpeng. School of Medical Imaging, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou Province 550004, China

Corresponding author: JIANG Tianpeng, E-mail: 26900988@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the molecular mechanism of microRNA-155 (miR-155) in the regulation of cerebral ischemia-reperfusion (I-R) injury caused by middle cerebral artery occlusion (MCAO) in experimental mice. **Methods** The MCAO model was established in C57BL/6 mice. The effect of cerebral I-R injury on the neural function of mice was evaluated by triphenyltetrazole chloride (TTC) staining and nerve function scoring. The real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) technique was used to test the expression of miR-155. By using hematoxylin-eosin (HE) staining the effect of miR-155 on brain histopathology was assessed. The effect of miR-155 on the permeability of blood brain barrier was evaluated by measuring Evans blue (EB) and water content in brain tissue. The effect of miR-155 on endothelial function was estimated by measuring nitric oxide (NO) content and expression of endothelial nitric oxide synthase (eNOS). Immunoblotting was employed to check the expressions of Notch1, Notch1 intracellular domain (NICD), Jagged1 and Hes1, and RT-qPCR was adopted to check Notch1 and Hes1 mRNA levels in order to clarify the role of miR-155 in Notch signaling pathway. **Results** The deletion of miR-155 enhanced the expressions of Notch1, NICD, Hes1 and decreased the percentage of TUNEL staining positive cells and

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2019.07.011

基金项目:贵州省科技合作计划项目(黔科合基础 2016-1126)、贵阳市科技计划项目(筑科合同 2017-5-28)

作者单位:550004 贵阳 贵州医科大学影像学院

通信作者:蒋天鹏 E-mail: 26900988@qq.com

the caspase-3 levels. Interference with the expression of miR-155 could increase NO production and eNOS expression, leading to downregulation of the brain water content and EB level. However, over-expression of miR-155 could restore all these changes back to the cerebral I-R injury levels. The expression of Notch1, NICD and Hes1 could improve the cerebral I-R injury status. **Conclusion** The results of this study indicate that miR-155 can block normal NO production and eNOS expression through the Notch signaling pathway. This regulatory mechanism may be one of the potential targets for the treatment of ischemic stroke in the future. (J Intervent Radiol, 2019, 28: 661-668)

[Key words] cerebral ischemia-reperfusion injury; microRNA-155; Notch pathway; nitric oxide; endothelial nitric oxide synthase

缺血性脑卒中血管再通术后缺血-再灌注 (ischemia-reperfusion, I-R) 损伤可引起神经功能障碍和脑内皮细胞损伤, 增加脑血管通透性和血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 渗漏, 对疗效产生较大影响。目前迫切需要了解脑 I-R 损伤分子机制, 寻找新治疗策略。Notch 信号转导通路可控制细胞在组织发育过程中自我更新和存活^[1], 其配体与受体结合引发一系列蛋白分解与细胞内受体结构域释放和移位偶联, 进而激活 Notch 靶基因转录并调节细胞凋亡^[2]。中枢神经系统 Notch 信号通路与神经祖细胞分化、成熟和功能有关^[3]。近年研究发现 Notch 通路参与脑 I-R 调节, 脑缺血时 Notch1 表达增加^[4-5]。Notch 通路也参与内皮细胞增殖和血管生长调控^[6-8]。但 Notch 通路在脑 I-R 损伤后 BBB 功能障碍中的作用机制尚不清楚。研究发现微小 RNA (microRNA, miRNA, miR) 在缺血性脑卒中病理过程中起重要作用^[9-10], miR-155 异常表达对脑缺血产生显著影响^[11], 对内皮细胞有调节作用^[12]。本研究探讨 miR-155 在小鼠大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 所致 I-R 损伤中的调控作用, 旨在为缺血性脑卒中治疗提供新靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

本研究实验动物为 8 月龄、体重 20~25 g C57BL/6 雌性小鼠 (贵州医科大学实验动物中心), 均于无菌饲养箱喂养, 保持恒温 (20±2)℃, 保证充足食物、水及 12 h 光照 (晨 8 点始)、12 h 黑暗交替循环。16 只小鼠随机分为假手术组 (sham, $n=8$) 和 I-R 组 (Pre-IR, $n=8$), I-R 组 I-R 后 24 h 连续观察 miR-155 表达变化。

120 只小鼠随机分为 6 组: 假手术组 (sham, $n=20$)、I-R 组 (Pre-IR, $n=20$)、假手术+miR-155 拮抗剂组 (miR-155^{-/-}sham, $n=20$)、I-R+miR-155 拮抗剂

组 (miR-155^{-/-}Pre-IR, $n=20$)、假手术+miR-155 激动剂组 (miR-155^{+/+}sham, $n=20$)、I-R+miR-155 激动剂组 (miR-155^{+/+}Pre-IR, $n=20$)。sham 组小鼠在不阻塞动脉情况下接受相同手术, 其它各组小鼠均接受 MCAO 手术, 通过 miR-155 基因敲除及应用 miR-155 拮抗剂、激动剂了解 Notch 信号通路在缺血性脑损伤中的作用。

1.2 MCAO 小鼠模型构建

4%水合氯醛麻醉小鼠, 仔细分离左颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉; 6-0 尼龙缝线插入颈外动脉残端, 轻轻引入颈内动脉, 于大脑中动脉开放处停止 (颈内动脉/颈外动脉分岔处至大脑中动脉距离约为 10 mm); 一次结扎到位 90 min 后将尼龙缝线从颈内动脉轻轻取出, 再灌注^[13]。整个手术过程小鼠体温保持在 37℃。sham 组小鼠接受相同手术, 但不插入尼龙缝线。

1.3 小鼠体内慢病毒转染

小鼠麻醉、固定在立体定向框架上, 纯化慢病毒颗粒 (上海吉玛制药技术公司) 结构 (miR-155 激动剂、miR-155 拮抗剂及相应阴性 miR-155 对照剂, 10⁹ TU/mL) 与阳离子脂质聚丙烯酰胺 (4 μg/μL) 在 37℃ 下混合并孵育 15 min, 20 min 内对每只小鼠右脑室中缓慢注入 7 μL 混合液, 14 d 后对各小鼠实施 MCAO 模型步骤。

1.4 神经功能评估

MCAO 模型构建 24 h 后, 采用分级评分法对各组小鼠脑 I-R 损伤后神经功能作评估: 0 分, 无缺损; 1 分, 前肢无力; 2 分, 向受累侧旋转; 3 分, 患侧部分瘫痪; 4 分, 无自主运动或活动^[14]。

1.5 组织学分析

MCAO 模型构建 24 h 后, 水合氯醛腹腔麻醉小鼠并取出脑组织 (1 g/mL 乙腈, 0.04 mL/100 g 体重, 美国 Sigma 公司), 冠状切成 2 mm 切片, 37℃ 黑暗下以 2% 氯化三苯四氮唑 (TCC, 美国 Sigma 公司) 染

色 20 min; MetaMorph 软件(美国 Universal imaging 公司)测量梗死体积:左半球体积(右半球所测量到梗死的体积)/左半球体积。4%多聚甲醛 4℃下固定脑组织一整夜;0.9%氯化钠溶液冲洗并脱水,石蜡包埋后切取 5 μ m 切片,苏木精-伊红(HE)染色;光学显微镜(日本 Olympus 公司)下观察切片。

1.6 吸光度测定

将 2%伊文氏蓝(Evans blue, EB)(0.4 mL/100 g 体重;德国 Sigma 公司)经小鼠颈静脉注入,循环 24 h 后麻醉处死,迅速移除大脑并称重,2.5 mL 磷酸缓冲液(PBS)中匀浆,4℃下以 10 000 g 转速离心 30 min;用分光光度计(美国 Thermo Fisher 科技公司)在 610 nm 处测定吸光度,并根据标准曲线量化。

1.7 脑组织含水量和一氧化氮释放量检测

水合氯醛腹腔麻醉小鼠,迅速取脑称重(湿重);120℃下将脑组织干燥 24 h,再称重(干重),计算含水量百分比:(湿重-干重)/湿重 \times 100%。根据一氧化氮(NO)检测试剂盒(碧云天生物技术研究所在)使用说明检测 NO 释放量:小鼠麻醉处死后迅速取脑,裂解缓冲液(碧云天生物技术研究所在)中组织匀浆,4℃下以 15 000 g 转速离心 15 min;96 孔板中将 50 μ L 上清液或标准 NaNO₂ 与 50 μ L Griess 试剂 I 和 50 μ L Griess 试剂 II 混合 10 min;用分光光度计在 560 nm 处测定吸光度,并根据标准曲线量化。

1.8 细胞凋亡检测

根据脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)染色试剂盒(德国 Roche Applied Science 公司)使用说明检测细胞凋亡:石蜡切片在二甲苯中浸洗,梯度乙醇再水化,37℃下以蛋白酶 K(20 μ g/mL)消化切片 30 min;预处理后切片在含生物素化核苷酸混合物混合溶液中平衡和孵化,37℃下用重组脱氧核糖核苷酸末端转移酶(rTdT)作用 1 h。

1.9 实时定量聚合酶链反应检测

用 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司)从小鼠大脑提取总 RNA,合成互补 DNA;Moloney 鼠白血病病毒(MMLV)逆转录酶(美国 Promega 公司)合成 cDNA,37℃下反应 30 min,42℃下反应 30 min,85℃下反应 5 min;SYBR Green IQTM 预混液和 CFX96 实时聚合酶链反应(PCR)检测系统(美国 Bio-Rad Laboratories 公司)定量记录转录产物(PCR 在 95℃下反应 3 min,再予 95℃下 12 s、60℃下 40 s \times 40)。比较阈值循环法和内部对照法对靶基因表达正常化,扩增基因片段引物:miR-155(正向:5'-GCTTC-

GGTTAATGCTAATCGT G-3', 反向:5'-CAGAGCA-GGGTCCGAGGTA-3');Notch1(正向:5'-TCAATGT-TCGAGGACCAGATG-3', 反向:5'-TCACTGTTGC-CTGTCTCAAG-3');Hes1(正向:5'-AGCCAACTG-AAAACACCTGATT-3', 反向:5'-GGACTTTATGATT-AGCAGTGG-3');3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)(正向:5'-CATGGCCTTCCGTGTTCTTA-3', 反向:5'-CCTGCTTCACCACCTTCTTGA-3')。比较循环阈值(Ct)法计算基因相对表达量, Δ Ct=(Ct mRNA-Ct mRNA 对照)和倍数变化。

1.10 免疫印迹检测

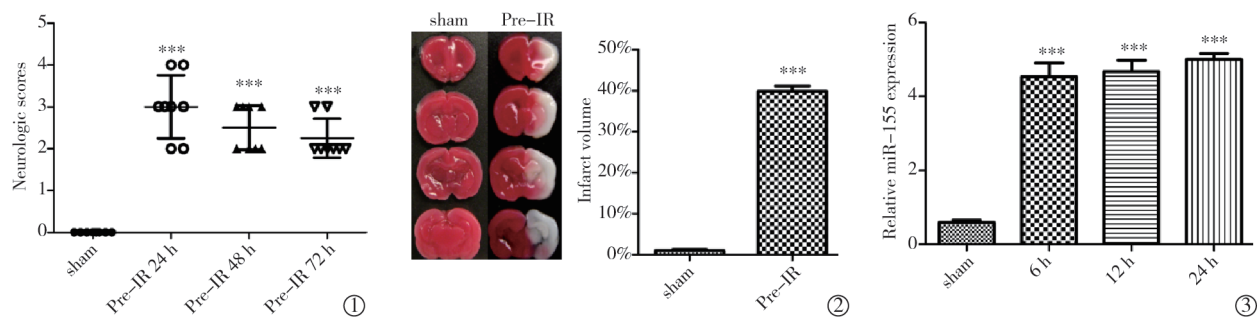
小鼠脑组织在放射免疫沉淀试验(RIPA)裂解液缓冲液(碧云天生物技术研究所在)中匀浆,4℃下 12 000 g 转速离心 15 min,收集上清液并保存在-80℃;蛋白质经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)(碧云天生物技术研究所在)分离,转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,4℃孵化一夜,并配以适当初级抗体[抗-内皮型一氧化氮合酶(eNOS, 1:1 000)、抗-半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(caspase)-3(1:1 000)、抗-Notch1(1:1 000)、抗-Hes1(1:1 000)、抗- β -肌动蛋白(actin)(1:2 000, 美国 CST 公司)、抗-Notch1 胞内结构域(NICD)(1:1 000, 美国 Abcam 公司)]孵育后,用 0.05%含 Tween® 20 磷酸盐缓冲液(PBST)冲洗 3 次,再用合适的辣根过氧化物酶(HRP)结合二次抗体孵育(1:2 000, 美国 CST 公司);用增强化学发光分析试剂盒(美国 Merck Millipore 公司)对 PVDF 膜作可视化处理;对条带作数字扫描,并用 QualityOne 软件量化。

1.11 数据分析

实验数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。各组间差异用独立样本 *t* 检验/Student-Newman-Keuls 检验和单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

神经学评分和 TTC 染色显示,sham 组小鼠无神经功能缺损和脑梗死,Pre-IR 组 MCAO 鼠出现明显神经功能缺损和脑梗死($P<0.001$);随着时间推移,神经功能损伤逐渐减轻,见图 1①②。实时定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测显示,I-R 损伤使脑内 miR-155 表达显著升高,与 sham 组差异有显著统计学意义($P<0.001$),24 h 时 miR-155 表达最高,见图 1③。



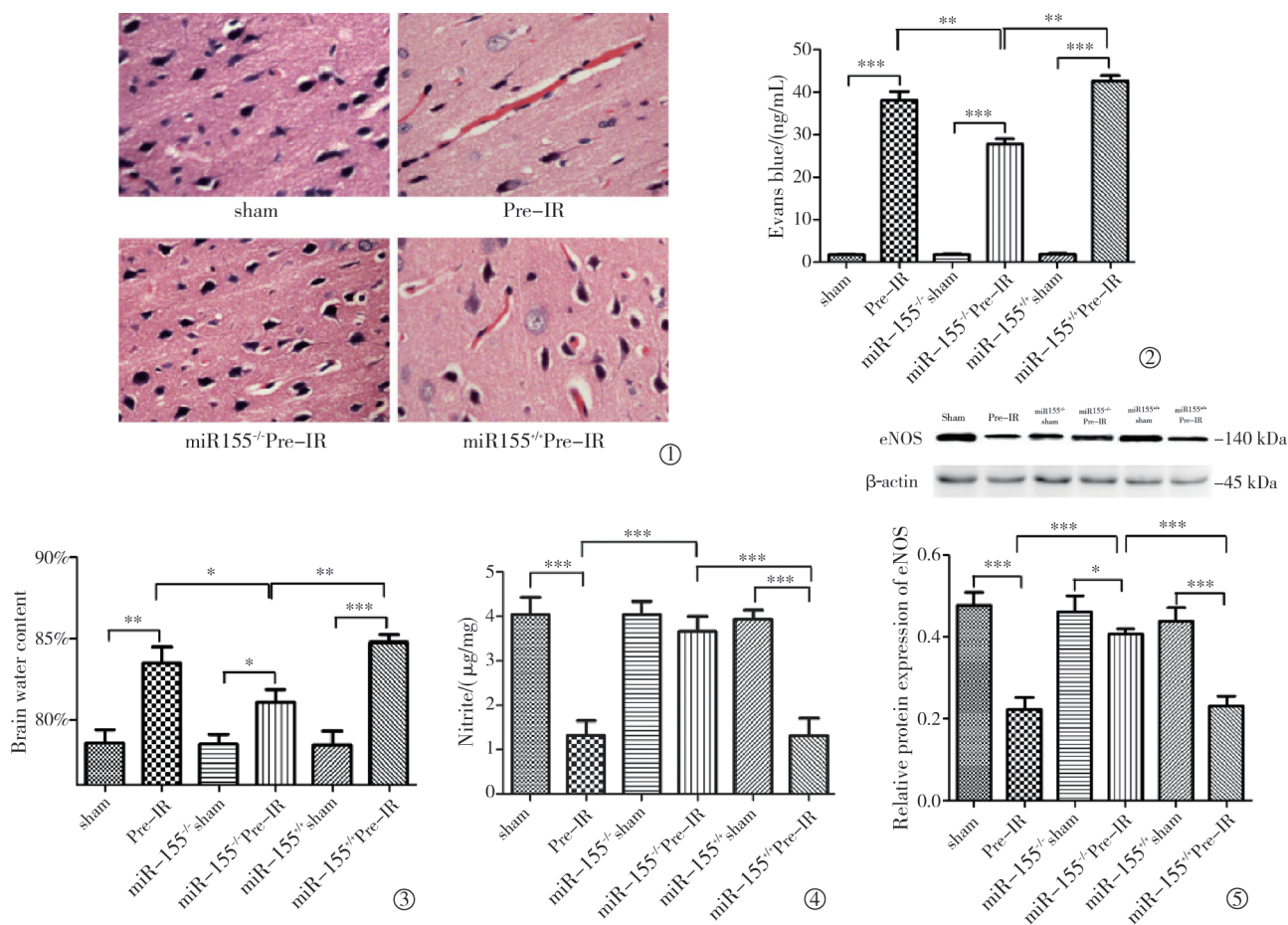
***与 sham 组相比, $P < 0.001$

①MCAO 后 24、48、72 h 神经学评分($n=8$); ②MCAO 后 6、12、24 h TTC 染色示脑梗死范围($n=3$); ③MCAO 后 6、12、24 h RT-qPCR 检测示脑组织 miR-155 表达水平($n=5$)

图 1 脑 I-R 损伤对小鼠的影响

组织学分析显示, sham 组鼠大脑皮层组织完整, 神经元完整, 细胞结构清晰, Pre-IR 组大脑皮层组织充血水肿, 神经细胞数量明显减少; miR-155^{-/-} Pre-IR 组神经元排列整齐, 无明显充血水肿, 与 sham 组相似; miR-155^{+/+} Pre-IR 组与 Pre-IR 组病理改变相似, 脑皮质层组织呈重度充血水肿, 伴有神经元

减少, 见图 2①。脑组织含水量检测显示, Pre-IR 组 EB 染色和脑含水量增加 ($P < 0.05$), miR-155 拮抗剂可降低 miR-155^{-/-} Pre-IR 组 EB 染色和脑含水量 ($P < 0.05$); 与 miR-155^{-/-} Pre-IR 组比较, miR-155^{+/+} Pre-IR 组 EB 染色和脑含水量增加 ($P < 0.05$), 甚至高于 Pre-IR 组水平, 见图 2②③)。脑组织 NO 释放



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

①MCAO 后 24 h HE 染色所示($\times 40$); ②③脑组织含水量和 HE 染色情况($n=3$); ④MCAO 后 24 h 所测脑组织 NO 含量; ⑤MCAO 后 24 h 脑组织 eNOS 水平免疫印迹分析($n=5$)

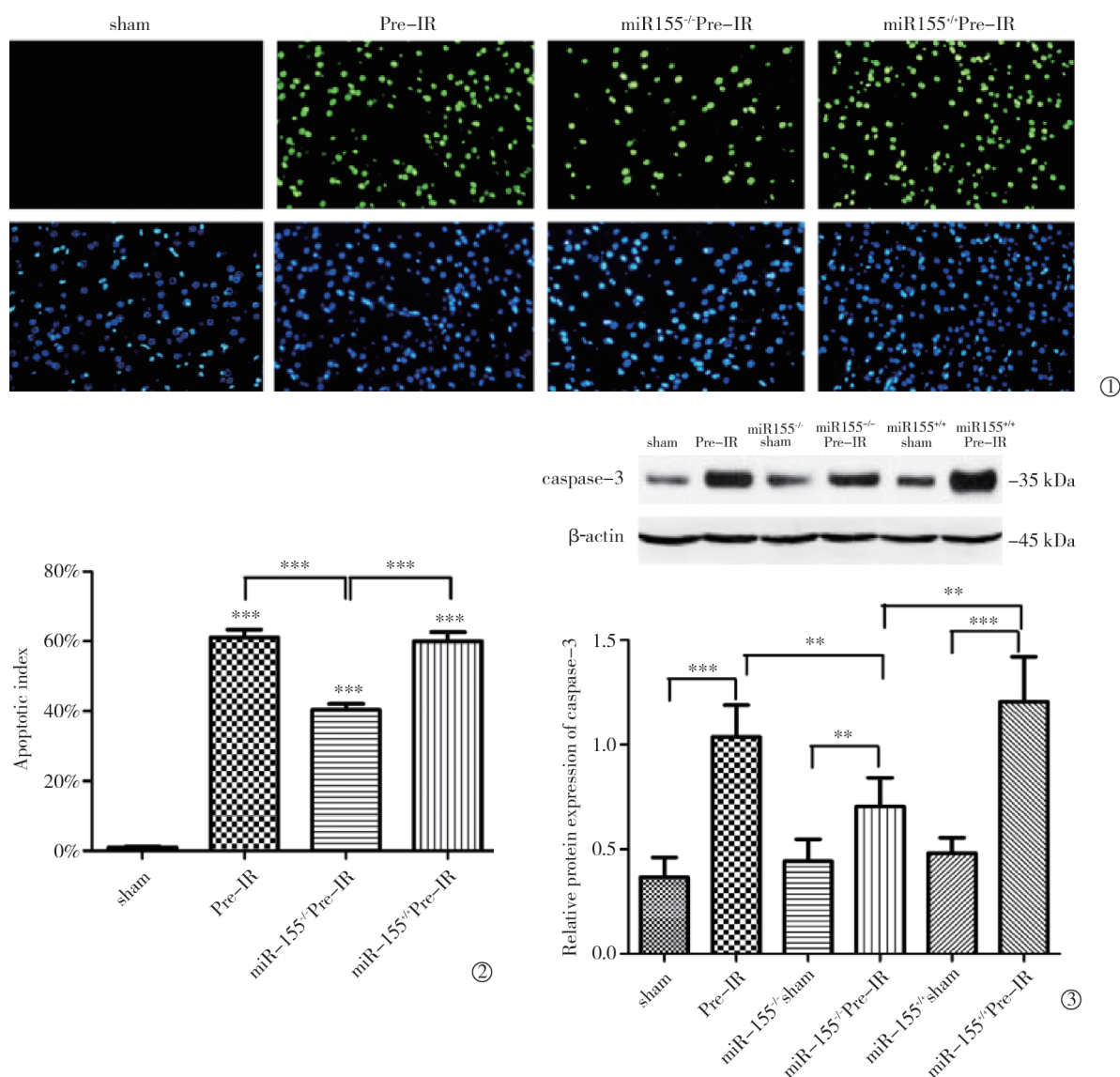
图 2 miR-155 对小鼠脑 I-R 损伤后脑内皮细胞和 BBB 影响

检测显示,Pre-IR 组 NO 含量和 eNOS 表达均下降 ($P<0.05$),miR155 拮抗剂可增加 NO 含量和 eNOS 表达 ($P<0.05$),与 sham 组水平相似;与 miR-155^{-/-}Pre-IR 组比较,miR-155^{+/+}Pre-IR 组 NO 含量和 eNOS 表达均下降 ($P<0.05$),与 Pre-IR 组水平相似,见图 2④⑤)。

细胞凋亡检测显示,sham 组脑缺血区几乎未见凋亡细胞(图 3①),MCAO 后缺血区凋亡细胞百分比增加 ($P<0.05$),miR-155^{-/-}Pre-IR 组 TUNEL 阳性细胞百分率降低 ($P<0.05$);与 miR-155^{-/-}Pre-IR 组对比,miR-155^{+/+}Pre-IR 组 TUNEL 阳性细胞增加 ($P<0.05$),与 Pre-IR 组水平相似,见图 3②。Pre-IR

组脑组织中 caspase-3 表达增加 ($P<0.05$),miR-155^{-/-}Pre-IR 组 caspase-3 表达降低 ($P<0.05$);与 miR-155^{-/-}Pre-IR 组相比,miR-155^{+/+}Pre-IR 组 caspase-3 表达升高 ($P<0.05$),与 Pre-IR 组表达相似,见图 3③)。

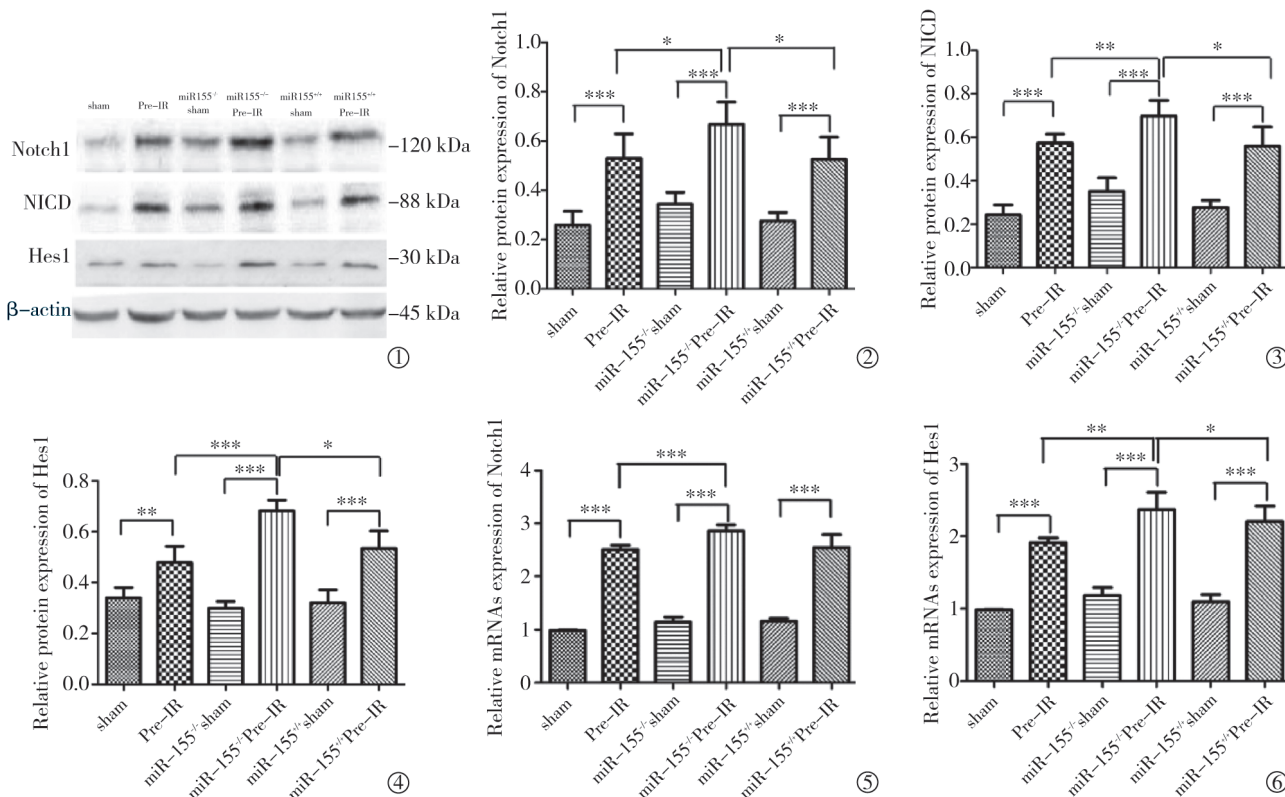
免疫印迹检测显示,Notch1 表达在 Pre-IR 组高于 sham 组 ($P<0.05$),miR-155^{-/-}Pre-IR 组高于 Pre-IR 组 ($P<0.05$),miR-155^{+/+}Pre-IR 组低于 miR-155^{-/-}Pre-IR 组 ($P<0.05$),与 Pre-IR 组水平相似,见图 4①②;NICD、Hes1 表达变化趋势与 Notch1 相似,在 miR-155^{-/-}Pre-IR 组表达增加,miR-155^{+/+}Pre-IR 组表达降低 ($P<0.05$),与 Pre-IR 组水平相似,见图 4



** $P<0.01$, *** $P<0.001$

①②TUNEL 染色示脑 I-R 损伤后神经元细胞凋亡 ($n=3$, $\times 200$, 蓝色荧光为细胞核, 绿色荧光为 TUNEL 阳性细胞; ③MCAO 后 24 h 脑组织 caspase-3 蛋白水平免疫印迹分析 ($n=5$)

图 3 miR-155 对小鼠脑 I-R 损伤后细胞凋亡影响



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

①MCAO 后 24 h 脑组织 Notch 通路蛋白表达($n=5$);②免疫印迹分析脑组织 Notch1 蛋白水平;③免疫印迹分析脑组织 NICD 蛋白水平;④免疫印迹分析脑组织 Hes1 蛋白水平;⑤RT-qPCR 分析 MCAO 后 24 h 脑组织 Notch1 mRNA 水平;⑥RT-qPCR 分析 MCAO 后 24 h 脑组织 Hes1 mRNA 水平($n=5$)

图 4 miR-155 对小鼠脑 I-R 损伤后 Notch 信号通路影响

①③④。RT-qPCR 检测显示,Notch1 mRNA 水平在 Pre-IR 组高于 sham 组($P < 0.05$),miR-155^{+/+}Pre-IR 组高于 Pre-IR 组,miR-155^{-/-}Pre-IR 组高于 miR-155^{+/+}Pre-IR 组($P < 0.05$),与 Pre-IR 组水平相似,见图 4⑤;Hes1 mRNA 变化趋势与 Notch1 相似,在 miR-155^{+/+}Pre-IR 组增加,miR-155^{-/-}Pre-IR 组降低($P < 0.05$),与 Pre-IR 组水平相似,见图 4⑥)。

3 讨论

中枢神经系统含有大量微血管,神经元与内皮细胞关系密切^[15]。作为大脑中一种独特的微血管结构,BBB 有助于维持正常神经元功能微环境稳定,并控制血液和大脑之间物质传递。脑 I-R 损伤状态会损伤内皮细胞功能,可能引起血管源性脑水肿、出血性转化及 BBB 渗漏,最终导致神经元凋亡并造成神经损伤^[16-17]。本研究显示 MCAO 可导致 I-R 损伤状态,如 TUNEL 染色中神经元凋亡、caspase-3 蛋白表达增加、脑含水量和 EB 含量升高,造成 BBB 完整性受损;脑组织 NO 含量和 eNOS 表达均显著

降低。eNOS 主要在血管中表达,可催化氨基酸 L-精氨酸转化为 NO,有助于维持血管内稳态^[18]和调节脑血流^[19]。以往研究表明内皮细胞 NO 和 eNOS 缺乏症,可能引起脑血管病和神经系统疾病,是脑缺血损伤发病机制之一;eNOS 基因多态性往往伴随 NO 降低,据报道与颈动脉粥样硬化或脑缺血有关^[20-21]。本研究结果与上述报道一致。

miR-155 是 B 细胞整合簇基因产物,被认为是在炎症或癌症过程中起关键作用的一种 miRNA^[22-23]。近期研究表明 miR-155 与内皮细胞有一定关系。Liu 等^[24]研究提示 miR-155 能通过调节外源性血管紧张素 II 减少脐静脉内皮细胞损伤。Huang 等^[25]研究报道 miR-155 在糖尿病肾小球内皮损伤中过度表达,可能与炎症介导肾小球内皮损伤有关。此外,Gama-Norton 等^[26]研究认为 Notch 信号通路可调控血管内皮细胞。Ramasamy 等^[7]研究表明 Notch 信号在长骨中能促进内皮细胞增殖和血管生长。既往研究也有报道 miR-155 与 Notch 信号间联系,Notch/RBPJ 信号通路对骨髓内皮细胞 miR-155 作用,导

致核因子(NF)- κ B 活化和促炎细胞因子生成增加^[27]。本研究推测脑 I-R 诱导的神经元凋亡和 BBB 损伤可能与 miR-155 和 Notch 信号通路有关,结果发现 MACO 后 miR-155 mRNA 水平会发生改变,miR-155 缺失可上调 Notch1、NICD 和 Hes1 表达,激活 Notch 信号通路,还可导致 TUNEL 阳性细胞百分比和 caspase-3 水平降低,使神经元凋亡减轻;表明 miR-155 可能是 Notch 信号通路的重要调节因子。

Notch 通路在控制血管平滑肌细胞中起着重要作用,也是血管发育、修复和重建的关键^[28-31];miR-155 可能主要通过 Notch 信号通路下调 eNOS 表达。NICD 可进入细胞核接收信号,调节下游靶基因如 Hes1 表达。Yu 等^[32]研究报道 Notch1 和 Hes1 激活在抗心肌 I/R 损伤中的作用。Tu 等^[33]研究显示 Notch 信号通路激活参与了小鼠动静脉病变。总之,Notch 通路激活上调 eNOS 表达和 NO 产生,减轻了脑 I/R 损伤所致神经系统疾病。

综上所述,miR-155 通过 Notch 信号通路参与了 NO 产生和 eNOS 表达负调控,miR-155 缺失对脑 I-R 损伤的作用是导致 NO 生成、eNOS 表达减少及 Notch1、NICD、Hes1 上调神经元凋亡,miR-155 过度表达会加重 BBB 漏出和神经元凋亡,下调 Notch1、NICD、Hes1 表达。这提示 miR-155 在调节神经系统 Notch 信号通路中起着重要作用,可能是未来缺血性脑卒中治疗潜在靶点之一。

[参考文献]

- [1] Andersson ER, Sandberg R, Lendahl U. Notch signaling: simplicity in design, versatility in function[J]. *Development*, 2011, 138: 3593-3612.
- [2] Bray SJ. Notch signalling in context[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17: 722-735.
- [3] Yoon K, Gaiano N. Notch signaling in the mammalian central nervous system: insights from mouse mutants[J]. *Nat Neurosci*, 2005, 8: 709-715.
- [4] Sun F, Mao X, Xie L, et al. Notch1 signaling modulates neuronal progenitor activity in the subventricular zone in response to aging and focal ischemia[J]. *Aging Cell*, 2013, 12: 978-987.
- [5] Lecomte MD, Shimada IS, Sherwin C, et al. Notch1-STAT3-ETBR signaling axis controls reactive astrocyte proliferation after brain injury[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 8726-8731.
- [6] Pei H, Song X, Peng C, et al. TNF- α inhibitor protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via Notch1-mediated suppression of oxidative/nitrative stress[J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 82: 114-121.
- [7] Ramasamy SK, Kusumbe AP, Wang L, et al. Endothelial notch activity promotes angiogenesis and osteogenesis in bone[J]. *Nature*, 2014, 507: 376-380.
- [8] Patenaude A, Fuller M, Chang L, et al. Endothelial-specific Notch blockade inhibits vascular function and tumor growth through an eNOS-dependent mechanism[J]. *Cancer Res*, 2014, 74: 2402-2411.
- [9] 陈立, 邹伟婕, 张宇, 等. miR-29b 通过抑制 N2a 细胞 p53 凋亡通路减轻氧糖剥夺/再灌注损伤[J]. *介入放射学杂志*, 2018, 27: 451-457.
- [10] Li SH, Su SY, Liu JL. Differential regulation of microRNAs in patients with ischemic stroke[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2015, 12: 214-221.
- [11] Choi GH, Ko KH, Kim JO, et al. Association of miR-34a, miR-130a, miR-150 and miR-155 polymorphisms with the risk of ischemic stroke[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38: 345-356.
- [12] Cerutti C, Soblechero-Martin P, Wu D, et al. MicroRNA-155 contributes to shear-resistant leukocyte adhesion to human brain endothelium in vitro[J]. *Fluids Barriers CNS*, 2016, 13: 8.
- [13] Wang Y, Huang J, Ma Y, et al. MicroRNA-29b is a therapeutic target in cerebral ischemia associated with aquaporin 4[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35: 1977-1984.
- [14] Hara H, Friedlander RM, Gagliardini V, et al. Inhibition of interleukin 1 β converting enzyme family proteases reduces ischemic and excitotoxic neuronal damage[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 2007-2012.
- [15] Del Zoppo GJ, Mabuchi T. Cerebral microvessel responses to focal ischemia[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23: 879-894.
- [16] Obermeier B, Daneman R, Ransohoff RM. Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier[J]. *Nat Med*, 2013, 19: 1584-1596.
- [17] Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments[J]. *Neuron*, 2010, 67: 181-198.
- [18] Srivastava K, Bath PM, Bayraktutan U. Current therapeutic strategies to mitigate the eNOS dysfunction in ischaemic stroke[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2012, 32: 319-336.
- [19] Milsom AB, Patel NS, Mazzon E, et al. Role for endothelial nitric oxide synthase in nitrite-induced protection against renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Nitric Oxide*, 2010, 22: 141-148.
- [20] Fatini C, Sofi F, Gensini F, et al. Influence of eNOS gene polymorphisms on carotid atherosclerosis[J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2004, 27: 540-544.
- [21] Atochin DN, Clark J, Demchenko IT, et al. Rapid cerebral ischemic preconditioning in mice deficient in endothelial and neuronal nitric oxide synthases[J]. *Stroke*, 2003, 34: 1299-1303.
- [22] Woodbury ME, Freilich RW, Cheng CJ, et al. miR-155 is essential for inflammation-induced hippocampal neurogenic dysfunction[J]. *J Neurosci*, 2015, 35: 9764-9781.
- [23] Chen S, Wang L, Fan J, et al. Host miR155 promotes tumor

- growth through a myeloid-derived suppressor cell-dependent mechanism[J]. Cancer Res, 2015, 75: 519-531.
- [24] Liu T, Shen D, Xing S, et al. Attenuation of exogenous angiotensin II stress-induced damage and apoptosis in human vascular endothelial cells via microRNA-155 expression[J]. Int J Mol Med, 2013, 31: 188-196.
- [25] Huang Y, Liu Y, Li L, et al. Involvement of inflammation-related miR-155 and miR-146a in diabetic nephropathy: implications for glomerular endothelial injury[J]. BMC Nephrol, 2014, 15: 142.
- [26] Gama-Norton L, Ferrando E, Ruiz-Herguido C, et al. Notch signal strength controls cell fate in the haemogenic endothelium[J]. Nat Commun, 2015, 6: 8510.
- [27] Wang L, Zhang H, Rodriguez S, et al. Notch-dependent repression of miR-155 in the bone marrow niche regulates hematopoiesis in an NF- κ B-dependent manner[J]. Cell Stem Cell, 2014, 15: 51-65.
- [28] Kurpinski K, Lam H, Chu J, et al. Transforming growth factor-beta and Notch signaling mediate stem cell differentiation into smooth muscle cells[J]. Stem Cells, 2010, 28: 734-742.
- [29] Hofmann JJ, Iruela-Arispe ML. Notch signaling in blood vessels: who is talking to whom about what? [J]. Circ Res, 2007, 100: 1556-1568.
- [30] Holderfield MT, Hughes CC. Crosstalk between vascular endothelial growth factor, notch, and transforming growth factor-beta in vascular morphogenesis[J]. Circ Res, 2008, 102: 637-652.
- [31] Zou S, Ren P, Nguyen M, et al. Notch signaling in descending thoracic aortic aneurysm and dissection[J]. PLoS One, 2012, 7: e52833.
- [32] Yu L, Liang H, Lu Z, et al. Membrane receptor-dependent Notch1/Hes1 activation by melatonin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury: in vivo and in vitro studies[J]. J Pineal Res, 2015, 59: 420-433.
- [33] Tu J, Li Y, Hu Z, et al. Radiosurgery inhibition of the Notch signaling pathway in a rat model of arteriovenous malformations[J]. J Neurosurg, 2014, 120: 1385-1396.

(收稿日期:2018-07-31)

(本文编辑:边 皓)

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

《Journal of Interventional Medicine》

网址: www.j-i-m.net

邮箱: j_intervent_med.@163.com