文章编号:1000-5404(2013)08-0707-05

论著

miR-145表达状态对大鼠高血压动脉内膜增生的影响

皮 燕,张莉莉,胡子成,黎炳护,尹延伟,高长越,李敬诚 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所神经内科)

[摘要] **目的** 观察微小RNA-145(microRNA-145,miR-145)在高血压血管内膜增生中的作用。**方法** 常规HE染色观察自发性高血压大鼠(SHR)和对照大鼠(WKY)主动脉内膜增生情况,逆转录多聚酶链反应(RT-PCR)方法检测不同病程SHR大鼠主动脉中miR-145的表达水平,并应用miR-145前体premiR-145和抑制剂2'OMe-miR-145分别升高和抑制血管平滑肌细胞(smooth muscle cell, VSMC)中miR-145的表达水平,从分化标志蛋白α平滑肌肌动蛋白(α-SMA)表达水平、VSMC的增殖和迁移能力等方面检测VSMC表型转化情况。**结果** ①SHR大鼠主动脉内膜增生,内膜/中膜面积百分比(39.7±12.1)%显著高于WKY组(3.8±1.2)%($P=0.001$),α-SMA染色阳性的VSMC是增生内膜的主要细胞成分;②与WKY相比,SHR大鼠主动脉来源的VSMC表型转化明显增多,表现为增殖和迁移能力升高,而α-SMA表达降低($P<0.01$);③SHR大鼠主动脉中的miR-145水平在8周龄时开始下降($P=0.045\,6$),至18周龄时降至仅为WKY组的7.5%;④应用premiR-145可上调SHR-VSMC中α-SMA的表达($P=0.005\,6$)并促进VSMC增殖迁移过程($P<0.01$),而2'OMe-miR-145可抑制VSMC中α-SMA的表达($P=0.023\,2$)和VSMC增殖迁移过程($P<0.01$)。**结论** 高血压时动脉中miR-145水平呈进行性下降,可能是引起VSMC表型转化并促进动脉内膜增生的一个重要机制。

[关键词] 高血压;血管平滑肌细胞;内膜增生;miR-145
[中图法分类号] R322.121;R394.2;R544.1 [文献标志码] A

Role of miR-145 expression in arterial intimal hyperplasia of hypertension in rats

Pi Yan, Zhang Lili, Hu Zicheng, Li Binghu, Yin Yanwei, Gao Changyue, Li Jingcheng (Department of Neurology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of miR-145 on arterial intimal hyperplasia in hypertension. **Methods** Spontaneous hypertension rats (SHR) and Wistar-Kyoto (WKY) rats were used in this study. Aortic intimal hyperplasia was evaluated pathologically. The expression of miR-145 in aorta of SHR was detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). The phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells (VSMCs) was assessed by detecting the expression of α-smooth muscle actin (α-SMA) and the capability of proliferation and migration in the presence of miR-145 precursor, premiR-145, or inhibitor 2'OMe-miR-145. **Results** SHR aortas exhibited obvious neo-intima formation which was composed primarily of VSMCs, with the ratios of intima/media significant higher than WKY rats ($P=0.001$). SHR-derived VSMCs exhibited marked phenotypic modulation, however, the expression of α-SMA was lower ($P<0.01$). The expression of miR-145 in SHR aortas was declined at the 8th week ($P=0.045\,6$) and reduced to 7.5% of that of WKY rats at the 18th week. Expression of α-SMA and proliferative and migratory capacities of VSMCs were respectively upregulated and downregulated by premiR-145 and 2'OMe-miR-145. **Conclusion** The expression of miR-145 decreases progressively during hypertension, which may at least partly contribute to the excessive VSMCs phenotypic modulation and thus arterial intimal hyperplasia.

[**Key words**] hypertension; vascular smooth muscle cell; intimal hyperplasia; miR-145

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30970998) and the Science Foundation of Chongqing for Outstanding Youth (CSTC2012JJJQ10003). Corresponding author: Li Jingcheng, Tel: 86-23-68757841, E-mail: lijingcheng11@hotmail.com

[基金项目] 国家自然科学基金(30970998);重庆市杰出青年科学基金(CSTC2012JJJQ10003)
[通信作者] 李敬诚,电话:(023)68757841,E-mail:lijingcheng11@hotmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130115.1727.009.html(2013-01-15)

高血压引起的动脉内膜增生是其导致动脉硬化性血管病变,并最终引起心脑肾等靶器官损害的病理基础。高血压时位于动脉中膜的血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)被活化而发生表型转化,大量增殖并迁移至内膜下,成为促进内膜增生的直接原因[1]。因此,探明高血压时 VSMC 表型转化机制,并寻找其关键靶点进行有力干预,是预防和延缓高血压动脉内膜增生,防治心脑血管并发症的一项重要策略。

微小 RNA-145(microRNA-145, miR-145)是成熟的 VSMC 中表达最为丰富的 miRNA,由于其在内皮细胞和成纤维细胞中表达极少,因此动脉中 miR-145 含量基本代表了 VSMC 中 miR-145 的水平[2]。近年的研究发现 miR-145 可促进 VSMC 的成熟和分化,抑制其增殖过程,提示 miR-145 在调节 VSMC 表型转化和动脉内膜增生中起到重要的作用[3-5]。但 miR-145 在高血压引起的 VSMC 表型转化和内膜增生中的作用和机制并不清楚。本研究检测高血压时 miR-145 的动态表达情况,并探讨 miR-145 表达改变在高血压 VSMC 表型转化和内膜增生中的可能作用,旨在为寻找新的干预靶点以防治高血压血管并发症提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

RNA 提取试剂盒购自 Invitrogen 公司。miR-145 实时定量 RT-PCR 试剂盒购自 Promega 公司,引物由 TaKaRa 公司合成。α 平滑肌肌动蛋白(α-SMA)、β-actin 抗体、血小板源性生长因子(PDGF)均购自 Sigma 公司。miR-145 前体 premiR-145 和 miR-145 抑制剂 2'OMe-miR-145 均购自 Integrated DNA Technologies 公司。

1.2 实验分组

实验用自发性高血压大鼠(SHR)和对照 Wistar-Kyoto 大鼠(WKY)均购自上海实验动物中心。动物分组:WKY 组、SHR-4 周龄组、SHR-8 周龄组和 SHR-18 周龄组,每组 5 只,用以观察主动脉中 miR-145 含量的动态变化。

采用组织贴块法培养大鼠(8~10 周龄)胸主动脉 VSMC,细胞生长于 DMEM 培养基中,选择第 5~10 代生长良好的 VSMC 用于实验。分别应用 miR-145 前体(premiR-145, 100 nmol/L)和抑制剂 2'OMe-miR-145(100 nmol/L)升高和降低培养的 VSMC 中 miR-145 含量。细胞分组情况:WKY 组、SHR-con 组(SHR 对照组)、SHR-pre-145 组(SHR 来源的 VSMC 经 premiR-145 处理)、SHR-2'OMe-145 组(SHR 来源的 VSMC 经 2'OMe-miR-145 处理)。

1.3 细胞免疫荧光染色鉴定培养的 VSMC

大鼠平滑肌细胞用 4% 多聚甲醛固定,进行免疫细胞化学染色,检测平滑肌肌动蛋白(α-SMA)的表达情况。0.1% Triton X-100(Sigma,美国)破膜,用 4% 的山羊血清(Santa Cruz,美国)封闭 1 h,加 1∶200 稀释的大鼠抗 α-SMA(Santa Cruz,美国),4 ℃过夜,PBS 缓冲液洗(0.01 mol/L,pH 7.4)4 遍,加入1∶200 稀释羊抗大鼠的二抗(Santa Cruz,美国)避光室温孵育1 h,PBS 缓冲液洗 4 遍,荧光显微镜下观察细胞染色情况。

1.4 SHR 大鼠主动脉内膜增生的检测

18 周龄 SHR 和 WKY 大鼠取主动脉组织做常规石蜡包埋,病理切片,HE 染色,Motic image advance 3.0 图像分析系统测量各组大鼠增生动脉的内膜面积(管腔和内弹力层之间的横截面积)和中膜面积(外弹力层和内弹力层之间的横截面积),并计算内膜/中膜的百分比。石蜡切片常规病理切片,行免疫组织化学法染色,观察主动脉内膜中 α-SMA 阳性细胞含量,以确定 VSMC 在主动脉增生内膜中的聚集情况。

1.5 VSMC 中分化蛋白 α-SMA 表达检测

采用 Western blot 方法检测细胞分化标志蛋白 α-SMA 的表达。细胞蛋白的提取应用蛋白裂解液直接裂解细胞,组织蛋白提取先将腹主动脉剪碎置于裂解液中,再用匀浆机充分匀浆,4 ℃离心后收集上层蛋白溶液,定量后用于检测。蛋白质经聚丙烯酰胺凝胶电泳后,电转移至 PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉封闭 4 ℃过夜,加入 α-SMA(1∶1 000 稀释)的抗体,4 ℃孵育过夜,加入相应的二抗 37 ℃孵育 2 h。化学发光法显色,凝胶成像系统进行图像分析。

1.6 VSMC 增殖和迁移能力的检测

采用四甲基偶氮唑蓝(MTT)染色法检测细胞增殖率。把处于对数增长期的细胞制备成密度约 5×10^5/mL 细胞悬液,将其接种于 96 孔板上,每孔 200 μL,放入培养箱中培养 24 h 后,根据分组情况加入不同的药物进行干预。24 h 后每孔加入 20 μL MTT 染液(终浓度为 0.15 mg/mL),置培养箱中继续培养 4 h,培养结束后将各孔中液体吸净,加入 200 μL 二甲基亚砜,在酶标仪中振荡 10 min,至紫色结晶全部溶解,于 570 nm 波长处测定其光密度值[D(570)]。

采用改良的 Boyden 小室的方法测定细胞迁移能力。VSMCs 生长至 80% 融合时换用含 0.5% 胎牛血清的 DMEM 培养基继续培养 48 h。将细胞以 4×10^3/孔细胞数接种于上室(膜孔径 8 μm),取 450 mL 含有不同浓度 PDGF 的 DMEM 培养基,加入 Boyden 小室的下层小室。上下两室以预先包被Ⅰ型胶原的聚碳酸酯微孔膜相隔,将 Boyden 小室置于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中培养 8 h 后,从 Boyden 小室中取出聚碳酸酯微孔膜,用甲醇于室温下固定,然后用 DAPI 染色细胞核。显微镜下随机选择视野,计数迁移至聚碳酸酯微孔膜下表面的细胞数,每孔随机取 5 个视野在 400 倍视野下计数。每个实验重复 5 次,取平均数进行统计分析。

1.7 RT-PCR 方法检测大鼠主动脉中 miR-145 的表达

抽提胸主动脉血管的总 RNA,测定含量后取 400 ng RNA 作为模板,在逆转录酶的作用下 50 ℃ 2 h 进行反转录,70 ℃下 15 min 灭活逆转录酶。实时定量 PCR 的总反应体系 20 μL,含 SYBR Green Master Mix 10 μL,梯度稀释的 cDNA 模板 2 μL,引物终浓度为 0.3 μmol/L。反应条件为:95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s, 60 ℃ 1 min, 40 个循环。含量计算通过测得的 Ct 值和校正曲线获得。以 GAPDH 作为内参。miR-145 逆转录引物:5′-CTCAACTGGTGTCGTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGAGGGATTC-3′;miR-145 上游引物:5′-ACACTCCAGCTGGGCAGGTCAAAA-

GGGTCC-3′,下游引物:5′-GGTGTCGTGGAGTCG-3′,产物长度 45 bp;GAPDH 上游引物:5′-AAGCTCACTGGCATGGCCTT-3′,下游引物:5′-CGGCATGTCAGATCCACAAC-3′,产物长度 40 bp。

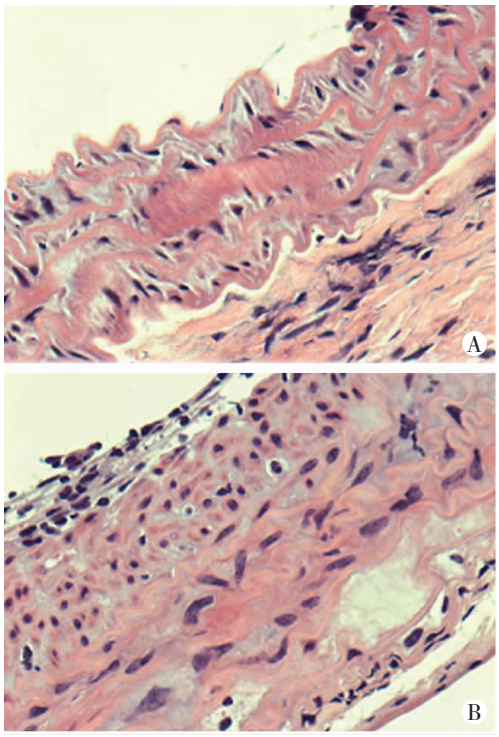
1.8 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较行独立样本 t 检验。

2 结果

2.1 大鼠主动脉内膜增生情况

18 周龄的 WKY 组大鼠主动脉无明显的内膜增生,内膜/中膜面积百分比为(3.8 ± 1.2)%;而 SHR 组大鼠主动脉血管内膜增生明显,内膜/中膜面积百分比为(39.7 ± 12.1)%,显著高于 WKY 组(P = 0.001)。见图 1。



A:WKY 组;B:SHR 组

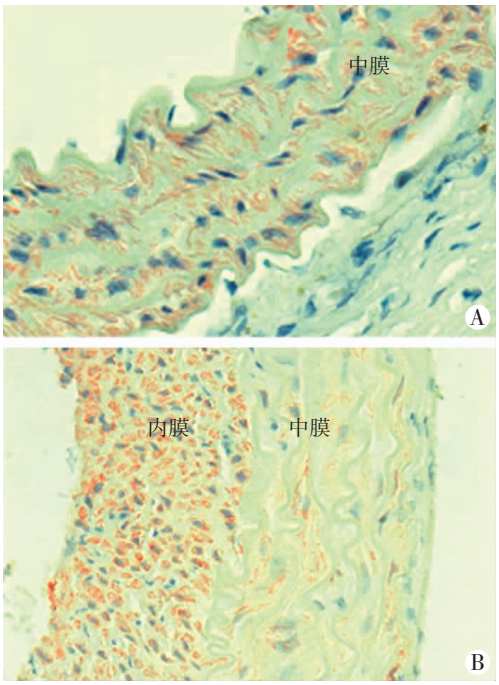
图 1 各组大鼠主动脉内膜增生情况 (HE ×400)

2.2 VSMC 在增生内膜中的聚集情况

以 α-SMA 阳性染色作为 VSMC 的标志。结果显示,WKY 组大鼠主动脉中的 α-SMA 阳性细胞位于血管中膜,而 SHR 组大鼠增厚的主动脉内膜中含有大量 α-SMA 阳性细胞,提示 VSMC 在增生内膜中大量聚集,成为动脉内膜增生中的主要细胞成分,VSMC 迁移至内膜并过度增殖促进了高血压动脉内膜增生过程。见图 2。

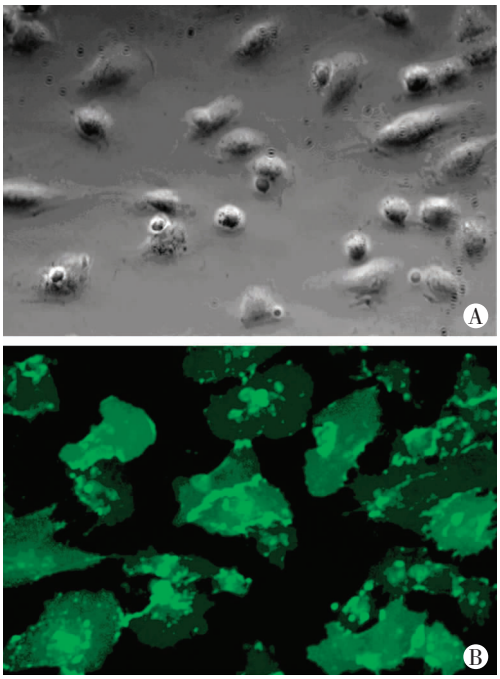
2.3 VSMCs 的鉴定

α-SMA 是 VSMCs 中最主要的收缩蛋白,从而作为 VSMCs 的标志性蛋白。应用 α-SMA 进行免疫荧光染色,荧光显微镜下观察发现 95% 以上的细胞为 α-SMA 染色阳性,证实采用组织贴块法成功进行 VSMCs 的体外培养(图 3)。



A:WKY 组大鼠主动脉中 VSMC(α-SMA 阳性)分布于血管中膜;B:SHR组大鼠增厚的主动脉内膜中含有大量 α-SMA 阳性细胞

图 2 各组大鼠主动脉增生的内膜中 VSMC 的聚集情况 (SABC ×400)



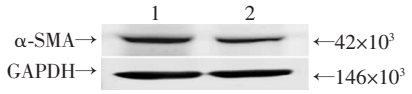
A:普通显微镜下观察贴块法培养的 VSMC;B:抗 α-SMA 染色后在荧光显微镜下观察 VSMC

图 3 α-SMA 免疫荧光染色鉴定培养的 VSMC (×400)

2.4 VSMC 表型转化情况的测定

分离培养 WKY 和 SHR 大鼠主动脉 VSMC,并从 α-SMA 表达水平以及细胞的增殖和迁移能力几个方面来反映 VSMC 的表型转化情况。结果显示,SHR-VSMC 中 α-SMA 的含量较 WKY-VSMC 显著减少(0.478 ± 0.093 *vs* 1.054 ± 0.078,P < 0.01)(图 4);同时 SHR-VSMC 的增殖(0.638 ± 0.067 *vs* 0.318 ±

0.043)和迁移能力(80.4±7.9 *vs* 44.8±5.6)也较WKY-VSMC显著增强($P<0.01$),提示高血压状态促进了VSMC由分化表型向未分化表型的转化,表现为增殖、迁移能力增强和分化标志蛋白α-SMA表达减少。

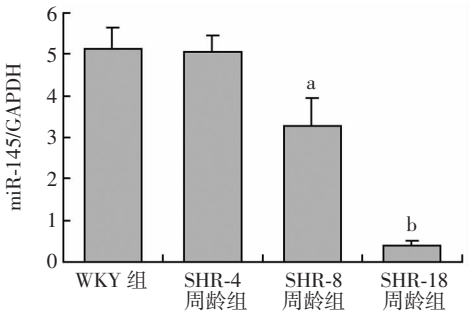


1:WKY-VSMC;2:SHR-VSMC

图4 Western blot检测α-SMA在VSMC的表达

2.5 大鼠主动脉中miR-145的表达

实时定量RT-PCR检测SHR不同病程阶段主动脉中miR-145的表达情况,结果发现,与WKY大鼠相比,4周龄的SHR大鼠主动脉中miR-145的水平无明显改变($P>0.05$),而SHR大鼠在高血压出现前期(8周龄)时,其主动脉中的miR-145表达即开始明显下降($P=0.045\ 6$),至18周龄时已降到极低的水平,仅为WKY组大鼠的7.5%($P<0.01$),提示随着高血压病程的进展,主动脉中miR-145的表达呈逐渐下降趋势。见图5。

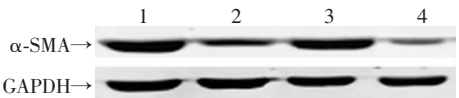


a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与WKY组比较

图5 实时定量RT-PCR检测各组大鼠主动脉中miR-145的相对表达

2.6 调控miR-145表达对高血压VSMC表型转化的影响

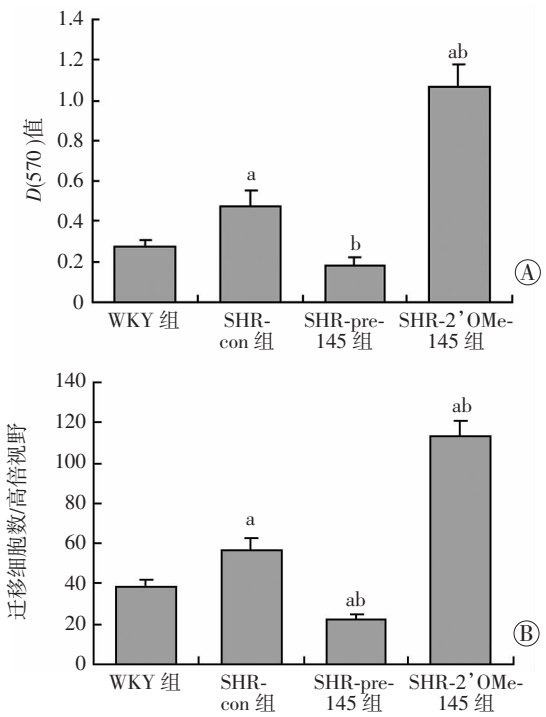
分别应用miR-145前体和抑制剂处理培养的VSMC,再用Western blot检测各组VSMC中α-SMA的表达。结果显示,SHR-VSMC中α-SMA的含量较WKY-VSMC显著减少(0.585±0.153 *vs* 1.115±0.183,$P=0.004\ 3$),应用premiR-145升高SHR-VSMC中的miR-145,可上调SHR-VSMC中α-SMA的表达(1.198±0.247),与SHR-VSMC相比两者存在显著性差异($P=0.005\ 6$),而应用miR-145抑制剂2'OMe-miR-145则进一步降低α-SMA的表达(0.300±0.110),与SHR-VSMC相比两者存在显著性差异($P=0.023\ 2$)(图6)。表明VSMC中miR-145水平对α-SMA表达起到重要的调控作用,miR-145可使高血压时VSMC中降低的α-SMA表达显著上调。



1:WKY组;2:SHR-con组;3:SHR-pre-145组;4:SHR-2'OMe-145组

图6 Western blot检测各组miR-145在VSMC α-SMA蛋白表达中的作用

SHR-VSMC的增殖和迁移能力显著高于WKY-VSMC($P<0.05$)。应用premiR-145升高SHR-VSMC中的miR-145可明显抑制细胞的增殖和迁移能力($P<0.01$),而应用miR-145抑制剂2'OMe-miR-145则促进其增殖和迁移($P<0.01$,图7),提示miR-145水平对VSMC增殖和迁移能力起到重要的调控作用,miR-145可显著抑制高血压时VSMC的增殖和迁移能力。



A:VSMC增殖能力比较;B:VSMC迁移能力比较;a:$P<0.05$,与WKY组比较;b:$P<0.01$,与SHR-con组比较

图7 miR-145在VSMC增殖和迁移中的作用

3 讨论

高血压是脑卒中和冠心病最重要和独立的危险因素。高血压诱发的动脉内膜增生以及随后的管腔狭窄是高血压引起各级动脉损伤的病理基础,也是动脉粥样硬化的早期改变。VSMC是参与动脉内膜增生最重要的细胞成分。正常成年个体中的VSMC为分化表型,主要位于中膜,但在各种损伤因素刺激下可转化为未分化表型,细胞大量增殖并迁移至内膜层,导致内膜增生和管腔狭窄。

研究发现高血压可促进VSMC向未分化表型转化,并促进动脉内膜增生过程。SHR主动脉中VSMC的增殖能力较对照的WKY组明显增强[6-7];在兔的肾血管性高血压模型中,主动脉中的VSMC明显增生,伴有主动脉内膜和中膜增厚[8];此外在卒中易感的SHR大鼠[9]以及原发性肺动脉高压患者[10]的动脉中均出现明显的VSMC表型改变,标志细胞未分化表型的分子表达显著升高。本研究发现18周龄的SHR大鼠主动脉呈现明显的内膜增生,且增生内膜中主要为α-SMA阳性染色细胞,提示VSMC在内膜中大量聚集并成为动脉内膜增生的主要细胞成分。进一步的研究显示,SHR大鼠来源的VSMC呈现明显的表型转化,

表现为细胞的增殖和迁移能力显著增强而分化标志蛋白α-SMA的表达明显减少,提示高血压促进了VSMC由分化表型向未分化表型的转化。上述研究结果进一步证实了高血压时VSMC的表型转化,以及活化的VSMC在高血压动脉内膜增生中的重要作用。这一结果与以往的研究相一致[11]。

高血压促进内膜增生和VSMC表型转化的具体分子机制尚未阐明,最新的研究提示miR-145可能是调控这一过程的关键分子。miR-145是成熟的VSMC中表达最为丰富的miRNA,研究证实miR-145是调节VSMC分化的重要因子,miR-145基因敲除小鼠的VSMC被锁定在未分化状态,收缩能力降低而增殖和迁移能力增强[12]。增加miR-145则可促进VSMC分化,抑制VSMC的增殖,而miR-145敲除则促进PDGF诱导的细胞迁移[5]。miR-145还参与调节内膜增生过程。在动脉结扎和球囊损伤引起的颈动脉内膜增生中miR-145的表达量显著减少[3-4,12]。miR-145基因缺陷小鼠可出现明显的动脉内膜增生[5,12],而miR-145表达增多则显著抑制球囊损伤引起的颈动脉内膜增生[3]。因此,miR-145具有促进VSMC分化成熟,并抑制血管内膜增生的重要作用。但高血压对VSMC中miR-145的表达有何影响,目前并不清楚;miR-145作为新近确定的VSMC表型调控因子,其是否参与高血压时的VSMC表型转化和内膜增生,涉及哪些可能的分子机制,至今少见报道。

本研究检测SHR不同病程阶段的主动脉中miR-145的表达情况,发现miR-145的表达随高血压病程进展而进行性下降,提示miR-145可能参与了高血压性动脉病变的病理过程。为进一步明确高血压时下降的miR-145对VSMC的可能作用,本研究分别应用miR-145前体premiR-145和抑制剂2'OMe-miR-145以升高和降低SHR-VSMC中的miR-145水平,结果发现premiR-145可上调VSMC中α-SMA的表达,同时显著抑制细胞的增殖和迁移能力;而2'OMe-miR-145则进一步降低SHR-VSMC中α-SMA的表达,并促进细胞的增殖和迁移过程,提示miR-145水平对SHR-VSMC的表型转化起到重要的抑制作用,高血压时持续降低的miR-145水平可能是导致VSMC表型转化,进而促进动脉内膜增生的一个重要机制。

本研究发现随着鼠龄的增长,SHR大鼠主动脉中的miR-145表达呈进行性下降,在8周龄时miR-145的表达即开始下降,在18周龄进入老龄期后,SHR大鼠主动脉中的miR-145表达仅为WKY组的7.5%,同时伴随着主动脉内膜的显著增生。提示miR-145在大鼠动脉系统的老龄化过程中发挥作用。我们将在下一步的工作中对此进行更深入的研究。

综上所述,本研究发现高血压动脉中miR-145水平呈进行性下降趋势,并揭示了这一病理改变对高血压VSMC表型转化以及随后的动脉内膜增生过程的重要促进作用,从一个新的角度探讨了高血压动脉病变的分子机制,并为寻找新的干预靶点以防治高血压血管并发症提供了实验依据。

参考文献:

[1] Owens G K, Kumar M S, Wamhoff B R. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease[J]. Physiol Rev, 2004, 84(3): 767-801.

[2] Zhang C. MicroRNA-145 in vascular smooth muscle cell biology: a new therapeutic target for vascular disease[J]. Cell Cycle, 2009, 8(21): 3469-3473.

[3] Cheng Y, Liu X, Yang J, *et al*. MicroRNA-145, a novel smooth muscle cell phenotypic marker and modulator, controls vascular neointimal lesion formation[J]. Circ Res, 2009, 105(2): 158-166.

[4] Cordes K R, Sheehy N T, White M P, *et al*. miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity[J]. Nature, 2009, 460(7256): 705-710.

[5] Elia L, Quintavalle M, Zhang J, *et al*. The knockout of miR-143 and -145 alters smooth muscle cell maintenance and vascular homeostasis in mice: correlates with human disease[J]. Cell Death Differ, 2009, 16(12): 1590-1598.

[6] Li Y, Levesque L O, Anand-Srivastava M B. Epidermal growth factor receptor transactivation by endogenous vasoactive peptides contributes to hyperproliferation of vascular smooth muscle cells of SHR[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 299(6): H1959-H1967.

[7] 张莉莉, 李敬诚, 王景周, 等. PPAR-γ在高血压血管平滑肌细胞表型转化中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(4): 311-314.

[8] Pauletto P, Chiavegato A, Giuriato L, *et al*. Hyperplastic growth of aortic smooth muscle cells in renovascular hypertensive rabbits is characterized by the expansion of an immature cell phenotype[J]. Circ Res, 1994, 74(5): 774-788.

[9] Contard F, Sabri A, Glukhova M, *et al*. Arterial smooth muscle cell phenotype in stroke-prone spontaneously hypertensive rats[J]. Hypertension, 1993, 22(5): 665-676.

[10] Davis-Dusenbery B N, Wu C, Hata A. Micromanaging vascular smooth muscle cell differentiation and phenotypic modulation[J]. Arterioscler Thromb Vasb Biol, 2011, 31(11): 2370-2377.

[11] Zhang L, Xie P, Wang J, *et al*. Impaired peroxisome proliferator-activated receptor-gamma contributes to phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells during hypertension[J]. J Biol Chem, 2010, 285(18): 13666-13677.

[12] Boettger T, Beetz N, Kostin S, *et al*. Acquisition of the contractile phenotype by murine arterial smooth muscle cells depends on the Mir143/145 gene cluster[J]. J Clin Invest, 2009, 119(9): 2634-2647.

(**收稿**:2012-10-31;**修回**:2013-01-05)

(编辑 王小寒)