

# 长链非编码 RNA NUTM2A-AS1 靶向 微小 RNA-129-5p 调控氧化低密度脂蛋白诱导的 血管内皮细胞损伤的机制研究

李晓宇<sup>1</sup>, 张永咏<sup>1</sup>, 秦娟<sup>1</sup>, 杨忠信<sup>2</sup>

(河南大学第一附属医院, 1. 心血管内科, 2. 胸外科, 河南 开封, 475000)

**摘要:** 目的 探讨长链非编码 RNA(lncRNA) NUTM2A-AS1 对氧化低密度脂蛋白( $\alpha$ LDL)诱导的血管内皮细胞损伤的影响及分子机制。方法 将人脐静脉血管内皮细胞(HUVEC)在 DMEM 培养基中培养, 采用 100  $\mu$ g/mL  $\alpha$ LDL 处理的 HUVEC 纳入  $\alpha$ LDL 组, 常规培养的细胞纳入 Con 组。将 lncRNA NUTM2A-AS1 干扰表达载体及阴性对照、miR-129-5p 模拟物及阴性对照转染至 HUVEC 后采用 100  $\mu$ g/mL  $\alpha$ LDL 处理后的细胞分别纳入  $\alpha$ LDL + si-NUTM2A-AS1 组、 $\alpha$ LDL + si-NC 组、 $\alpha$ LDL + miR-129-5p 组、 $\alpha$ LDL + miR-NC 组。将 lncRNA NUTM2A-AS1 干扰表达载体与微小 RNA(miR)-129-5p 抑制剂或阴性对照共转染至 HUVEC 后采用 100  $\mu$ g/mL 的  $\alpha$ LDL 处理的细胞分别纳入  $\alpha$ LDL + si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-129-5p 组、 $\alpha$ LDL + si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-NC 组。采用试剂盒测量细胞中丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性; 采用流式细胞术检测细胞凋亡; 采用蛋白质印迹法检测蛋白表达; 采用双荧光素酶报告实验及 RNA 下拉实验检测 NUTM2A-AS1 与 miR-129-5p 的靶向关系。结果 与 Con 组比较,  $\alpha$ LDL 组 lncRNA NUTM2A-AS1 表达水平升高, miR-129-5p 表达水平降低, MDA 含量升高, SOD、GSH-Px 活性降低, 血管内皮细胞凋亡率和 cleaved-caspase3、cleaved-caspase9 表达水平升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。干扰 lncRNA NUTM2A-AS1 表达或过表达 miR-129-5p 后, MDA 含量降低, SOD、GSH-Px 活性升高, 细胞凋亡率降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。lncRNA NUTM2A-AS1 敲低介导的  $\alpha$ LDL 条件下血管内皮细胞的损伤抑制可以被 miR-129-5p 下调逆转。lncRNA NUTM2A-AS1 靶向调控 miR-129-5p。结论 干扰 lncRNA NUTM2A-AS1 表达通过靶向上调 miR-129-5p 抑制  $\alpha$ LDL 诱导的血管内皮细胞损伤。

**关键词:** 长链非编码 RNA NUTM2A-AS1; 微小 RNA-129-5p; 氧化低密度脂蛋白; 血管内皮细胞; 损伤; 氧化应激; 凋亡

中图分类号: R 543; R 446; R -33 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2024)03-045-06 DOI: 10.7619/jcmp.20233032

## Study on the mechanism of long non-coding RNA NUTM2A-AS1 targeting microRNA-129-5p in regulating oxidized low density lipoprotein-induced vascular endothelial cell damage

LI Xiaoyu<sup>1</sup>, ZHANG Yongyong<sup>1</sup>, QIN Juan<sup>1</sup>, YANG Zhongxin<sup>2</sup>

(1. Department of Cardiovascular Medicine, 2. Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Henan University, Kaifeng, Henan, 475000)

**Abstract: Objective** To explore the effect of long non-coding RNA (lncRNA) NUTM2A-AS1 on the damage of vascular endothelial cells induced by oxidized low density lipoprotein ( $\alpha$ LDL) and its molecular mechanism. **Methods** Human umbilical vein endothelial cells(HUVECs) were cultured in DMEM medium. The HUVECs treated with 100  $\mu$ g/mL  $\alpha$ LDL were assigned to  $\alpha$ LDL group, while those cultured under normal conditions were assigned to Con group. After transfection of the lncRNA NUTM2A-AS1 interference expression vector and negative control, microRNA-129-5p mimic and negative control into HUVECs, the cells treated with 100  $\mu$ g/mL  $\alpha$ LDL were assigned to  $\alpha$ LDL + si-NUTM2A-AS1 group,  $\alpha$ LDL + si-NC group,  $\alpha$ LDL + miR-129-5p group, and  $\alpha$ LDL + miR-NC group, respectively. After co-transfection of the lncRNA NUTM2A-AS1 interference expression vector

收稿日期: 2023-09-22 修回日期: 2024-01-11

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20190501)

通信作者: 杨忠信, E-mail: kflxiaoyu@163.com

and miR-129-5p inhibitor or negative control into HUVECs, the cells treated with 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  oxLDL were assigned to oxLDL + si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-129-5p group and oxLDL + si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-NC group. The levels of malondialdehyde (MDA) in cells, as well as the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) were measured using kits. Cell apoptosis was detected by flow cytometry. Protein expression was detected by Western blot. The targeting relationship between NUTM2A-AS1 and miR-129-5p was detected by dual luciferase reporter assay and RNA pull-down experiments. **Results** Compared with the Con group, the expression level of lncRNA NUTM2A-AS1 was increased, the expression level of miR-129-5p was decreased, the content of MDA was increased, the activities of SOD and GSH-Px were decreased, the apoptosis rate of vascular endothelial cells and the expression levels of cleaved-caspase3 and cleaved-caspase9 were increased in the oxLDL group ( $P < 0.05$ ). After interference of lncRNA NUTM2A-AS1 expression or overexpression of miR-129-5p, the content of MDA was decreased, the activities of SOD and GSH-Px were increased, cell apoptosis was reduced ( $P < 0.05$ ). The damage to vascular endothelial cells mediated by knockdown of lncRNA NUTM2A-AS1 under oxLDL conditions can be reversed by downregulation of miR-129-5p. lncRNA NUTM2A-AS1 targeted miR-129-5p for regulation. **Conclusion** Interference of lncRNA NUTM2A-AS1 expression can inhibit oxLDL-induced vascular endothelial cell damage by targeting miR-129-5p for upregulation.

**Key words:** long non-coding RNA NUTM2A-AS1; microRNA-129-5p; oxidized low density lipoprotein; vascular endothelial cells; injury; oxidative stress; apoptosis

动脉粥样硬化 (AS) 是一种慢性血管性疾病<sup>[1]</sup>。内皮细胞损伤是 AS 发生发展的主要诱因<sup>[2]</sup>。氧化型低密度脂蛋白 (oxLDL) 是 AS 的危险因素,其参与内皮功能障碍和泡沫细胞形成,可引起血管内皮损伤<sup>[3]</sup>。研究<sup>[4]</sup>表明,微小 RNA (miRNA) 参与内皮细胞的损伤,例如 miR-129-5p 介导的 Beclin-1 可抑制 AS 中的内皮细胞自噬<sup>[5]</sup>。circ\_0000345 通过靶向 miR-129-5p 轴减轻人脐静脉血管内皮细胞 (HUVEC) 中 ox-LDL 介导的损伤<sup>[6]</sup>。miR-129-5p 还可减轻脂多糖 (LPS) 诱导的急性肾损伤<sup>[7]</sup>。但 miR-129-5p 影响 oxLDL 诱导血管内皮细胞损伤的机制尚不清楚。研究<sup>[8]</sup>报道,敲低长链非编码 RNA (lncRNA) NUTM2A-AS1 通过靶向 let-7c-5p/HMGB1 轴减轻 LPS 诱导的人牙髓细胞损伤。经预测,miR-129-5p 与 lncRNA NUTM2A-AS1 存在互补序列,但 lncRNA NUTM2A-AS1 对 oxLDL 诱导的血管内皮细胞损伤及机制是否与 miR-129-5p 有关尚未完全阐明。本研究探讨 lncRNA NUTM2A-AS1 靶向 miR-129-5p 调控 oxLDL 诱导的血管内皮细胞损伤的机制研究,现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

HUVEC, DMEM 培养基 (上海雅吉生物科技

有限公司); oxLDL (上海高创化学科技有限公司); Trizol 试剂 (南京森贝伽生物科技有限公司); 丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒,超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性检测试剂盒 (上海吉至生化科技有限公司); 荧光定量试剂盒 (上海研卉生物科技有限公司); 细胞凋亡检测试剂盒、RIPA 蛋白裂解液 (北京百奥莱博科技有限公司); 双荧光素酶报告基因检测试剂盒 (武汉纯度生物科技有限公司)。

### 1.2 细胞处理与分组

将 HUVEC 培养于 DMEM 培养基,将 lncRNA NUTM2A-AS1 过表达载体和小干扰 RNA 以及相应对照 (pcDNA 和 si-NC) 分别转染至细胞,分别记为 pcDNA-NUTM2A-AS1 组、pcDNA 组、si-NUTM2A-AS1 组、si-NC 组;用 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 ox-LDL 处理细胞,设为 oxLDL 组,另将常规培养的细胞设为 Con 组。将 lncRNA NUTM2A-AS1 干扰表达载体及阴性对照、miR-129-5p 模拟物及阴性对照转染至 HUVEC 后,用 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 oxLDL 处理,分别记为 oxLDL + si-NUTM2A-AS1 组、oxLDL + si-NC 组、oxLDL + miR-129-5p 组、oxLDL + miR-NC 组;将 NUTM2A-AS1 干扰表达载体与 miR-129-5p 抑制剂或阴性对照共转染至 HUVEC 后,用 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 oxLDL 处理,分别记为 oxLDL + si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-129-5p 组、oxLDL +

si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-NC 组。

### 1.3 实时荧光定量聚合酶链反应 (RT-qPCR)

用 Trizol 试剂提取各组 HUVEC 的总 RNA, 合成 cDNA 后按荧光定量试剂盒说明进行 PCR, 以 GAPDH 和 U6 为内参, 相对表达量用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算。lncRNA NUTM2A-AS1 上游引物 5'-ATAGC TCACTGTAGCCTCG-3', 下游引物 5'-TTTGTGTA TGTAGACCCATC-3'; miR-129-5p 上游引物 5'-AC ACTCCAGCTGGGCTTTTTCGCGTCTGG-3', 下游引物 5'-TGGTGTCTGGAGTTCG-3'; GAPDH 上游引物 5'-GGTACCAGGGCTGCTTT-3', 下游引物 5'-GGAAGATGGTGTATGGGATT-3'; U6 上游引物 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 下游引物 5'-AAC GCTTCACGAATTTGCGT-3'。

### 1.4 氧化应激分析

采用磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗各组细胞, 随后采用超声方法裂解细胞, 离心, 取上清, 按试剂盒说明书检测 MDA 含量和 SOD、GSH-Px 活性。

### 1.5 流式细胞仪检测

采用  $1 \times$  结合缓冲液重悬各组细胞, 随后与  $5 \mu\text{L}$  Annexin V-FITC 和 PI 避光染色 5 min, 最后流式检测。

### 1.6 蛋白质印迹法

使用 RIPA 提取细胞裂解物, 定量后,  $30 \mu\text{g}$  蛋白质样品与  $5 \times$  缓冲液混合,  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  下煮沸 20 min, 15% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 随后转膜。5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后, 与相应一抗于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  孵育过夜, 清洗后, 加入二抗室温孵育 2 h, 然后用化学发光检测试剂盒检测蛋白条带。

### 1.7 双荧光素酶报告实验

将预测的含有 miR-129-5p 序列的片段克隆并插入 psiCHECK-2 质粒构建野生型荧光素酶载体, 随后将片段序列点突变, 插入载体构建突变型荧光素酶载体。在六孔板中, 当细胞培养至约 70% 融合, 将构建的载体和 miR-NC 或 miR-129-5p 共转染至细胞中, 依次将细胞分为 miR-NC 和 WT-NUTM2A-AS1 共转染组、miR-129-5p 和 WT-NUTM2A-AS1 共转染组、miR-NC 和 MUT-NUTM2A-AS1 共转染组、miR-129-5p 和 MUT-NUTM2A-AS1 共转染组。48 h 后, 检测荧光素酶活性。

### 1.8 RNA 下拉实验

构建生物素标记 miR-129-5p 和 miR-NC 探

针, 并将其转染入 HUVEC 细胞, 分别设为 bio-miR-129-5p 组和 bio-miR-NC 组。随后收集细胞裂解液, 与链霉亲和素包被的磁珠孵育。采用 qRT-PCR 检测 lncRNA NUTM2A-AS1 的富集量。

### 1.9 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析, 符合正态分布的计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 两组比较行  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD- $t$  检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Con 组与 oxLDL 组 lncRNA NUTM2A-AS1、miR-129-5p 表达比较

相较于 Con 组, oxLDL 组 lncRNA NUTM2A-AS1 表达水平升高, miR-129-5p 表达水平降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1 Con 组与 oxLDL 组 lncRNA NUTM2A-AS1、miR-129-5p 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	lncRNA NUTM2A-AS1	miR-129-5p
Con 组	9	1.00 $\pm$ 0	1.00 $\pm$ 0
oxLDL 组	9	2.92 $\pm$ 0.23*	0.29 $\pm$ 0.03*

lncRNA: 长链非编码 RNA; miR-129-5p: 微小 RNA-129-5p。与 Con 组比较, \* $P < 0.05$ 。

### 2.2 干扰 lncRNA NUTM2A-AS1 表达对 oxLDL 诱导的血管内皮细胞损伤的影响

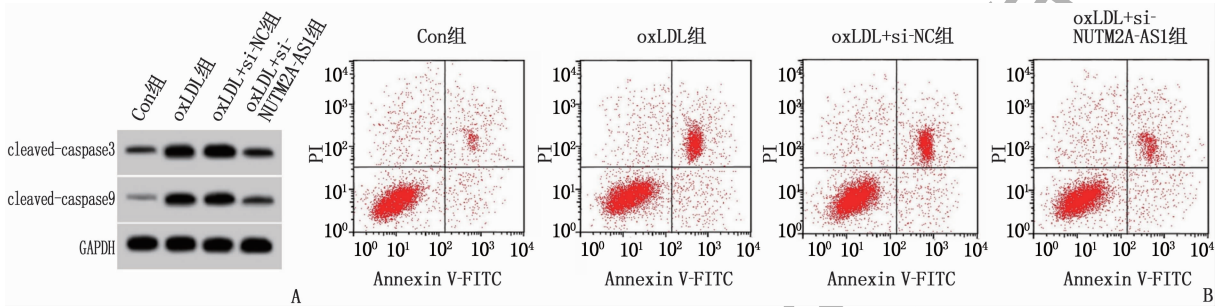
与 Con 组比较, oxLDL 组 lncRNA NUTM2A-AS1 表达水平、MDA 含量升高, SOD、GSH-Px 活性降低, 血管内皮细胞凋亡率和 cleaved-caspase3、cleaved-caspase9 蛋白表达水平升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 oxLDL + si-NC 组比较, oxLDL + si-NUTM2A-AS1 组 lncRNA NUTM2A-AS1 表达水平、MDA 含量降低, SOD、GSH-Px 活性升高, 血管内皮细胞凋亡率和 cleaved-caspase9、cleaved-caspase3 蛋白表达水平降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 1、表 2。

### 2.3 miR-129-5p 是 lncRNA NUTM2A-AS1 的功能靶标

StarBase 预测结果显示, miR-129-5p 与 lncRNA NUTM2A-AS1 存在互补序列, 见图 2。双荧光素酶报告实验结果显示, 上调 miR-129-5p 降低了 WT-NUTM2A-AS1 细胞荧光素酶活性, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。RNA 下拉实验结果显示, 在 bio-miR-129-5p 探针下拉的复合

物中, NUTM2A-AS1 的丰度更高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 4。过表达 lncRNA NUTM2A-AS1 可抑制 miR-129-5p 的表达, 敲低

lncRNA NUTM2A-AS1 可上调 miR-129-5p 的表达, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 5。



A: 凋亡相关蛋白表达; B: 细胞凋亡流式图。

图 1 干扰 lncRNA NUTM2A-AS1 表达对 oxLDL 诱导的血管内皮细胞凋亡的影响

表 2 干扰 lncRNA NUTM2A-AS1 表达对 oxLDL 诱导的血管内皮细胞损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ) ( $n=9$ )

指标	Con 组	oxLDL 组	oxLDL + si-NC 组	oxLDL + si-NUTM2A-AS1 组
NUTM2A-AS1	1.00 ± 0	3.11 ± 0.26*	3.19 ± 0.28	1.62 ± 0.13 <sup>#</sup>
MDA/(nmol/L)	0.78 ± 0.06	8.15 ± 0.64*	8.25 ± 0.74	1.38 ± 0.14 <sup>#</sup>
SOD/(U/mL)	80.79 ± 7.65	25.26 ± 2.18*	24.63 ± 2.39	67.35 ± 5.93 <sup>#</sup>
GSH-Px/(U/mL)	58.31 ± 5.16	17.01 ± 1.22*	15.97 ± 1.14	45.77 ± 4.04 <sup>#</sup>
凋亡率/%	5.58 ± 0.52	32.25 ± 3.02*	34.62 ± 3.16	9.08 ± 0.76 <sup>#</sup>
cleaved-caspase3	0.27 ± 0.03	0.74 ± 0.06*	0.76 ± 0.05	0.34 ± 0.03 <sup>#</sup>
cleaved-caspase9	0.12 ± 0.02	0.61 ± 0.04*	0.63 ± 0.05	0.22 ± 0.02 <sup>#</sup>

MDA: 丙二醛; SOD: 超氧化物歧化酶; GSH-Px: 谷胱甘肽过氧化物酶。

与 Con 组比较, \* $P < 0.05$ ; 与 oxLDL + si-NC 组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

```

WT-NUTM2A-AS1  5'  cuguGCUAAUUCAGCAAAAac  3'
                  |||  |||  |||  |||
miR-129-5p     3'  cuguCGGGUCUGCGUUUUUc  5'
  
```

```

MUT-NUTM2A-AS1  5'  cuguAUUUGUUAAUACCGGuc  3'
  
```

图 2 miR-129-5p 与 lncRNA NUTM2A-AS1 互补序列的 StarBase 预测结果

表 3 双荧光素酶报告实验结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	WT-NUTM2A-AS1	MUT-NUTM2A-AS1
miR-NC 组	9	1.04 ± 0.07	1.02 ± 0.06
miR-129-5p 组	9	0.51 ± 0.04*	1.01 ± 0.07

与 miR-NC 组比较, \* $P < 0.05$ 。

表 4 RNA 下拉实验结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	NUTM2A-AS1 丰度
bio-miR-NC 组	9	1.00 ± 0.09
bio-miR-129-5p 组	9	4.52 ± 0.58*

与 bio-miR-NC 组比较, \* $P < 0.05$ 。

表 5 lncRNA NUTM2A-AS1 调控 miR-129-5p 的表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	miR-129-5p
pcDNA 组	9	1.00 ± 0
pcDNA-NUTM2A-AS1 组	9	0.36 ± 0.04*
si-NC 组	9	1.02 ± 0.06
si-NUTM2A-AS1 组	9	3.12 ± 0.24 <sup>#</sup>

与 pcDNA 组比较, \* $P < 0.05$ ; 与 si-NC 组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.4 过表达 miR-129-5p 对 oxLDL 诱导的血管内皮细胞损伤的影响

与 oxLDL + miR-NC 组比较, oxLDL + miR-129-5p 组 miR-129-5p 表达水平升高, MDA 含量降低, SOD、GSH-Px 活性升高, 血管内皮细胞凋亡率和 cleaved-caspase9、cleaved-caspase3 表达水平降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 6、图 3。

表 6 miR-129-5p 过表达对 oxLDL 诱导的血管内皮细胞损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ) ( $n=9$ )

指标	oxLDL + miR-NC 组	oxLDL + miR-129-5p 组
miR-129-5p	1.00 ± 0	2.76 ± 0.23*
MDA/(nmol/L)	8.52 ± 0.71	3.01 ± 0.23*
SOD/(U/mL)	23.19 ± 2.21	55.32 ± 5.28*
GSH-Px/(U/mL)	16.91 ± 1.65	36.97 ± 3.14*
凋亡率/%	34.64 ± 3.14	12.89 ± 1.22*
cleaved-caspase3	0.78 ± 0.06	0.41 ± 0.04*
cleaved-caspase9	0.65 ± 0.05	0.31 ± 0.03*

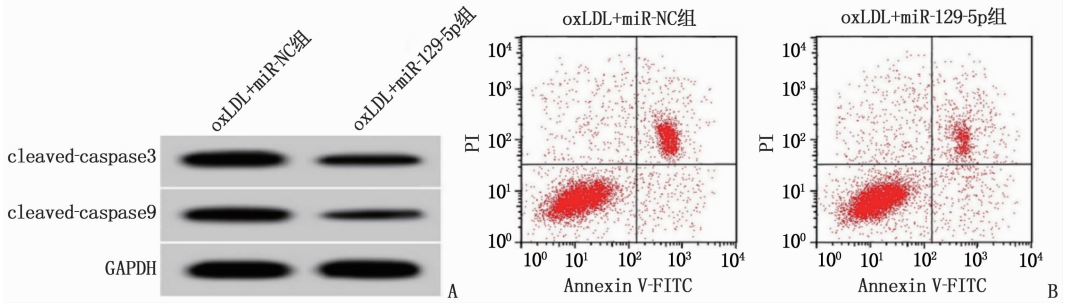
与 oxLDL + miR-NC 组比较, \* $P < 0.05$ 。

### 2.5 下调 miR-129-5p 表达逆转了干扰 lncRNA NUTM2A-AS1 表达对 oxLDL 诱导的血管内皮细胞损伤的作用

与 oxLDL + si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-NC 组比较, oxLDL + si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-129-5p

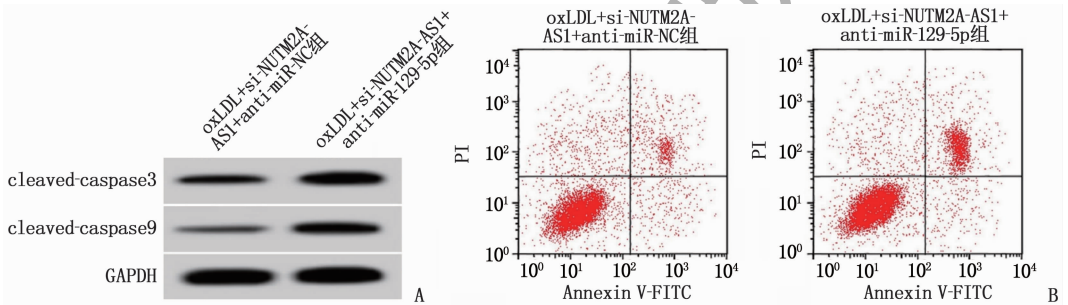
组 miR-129-5p 表达水平降低,MDA 含量升高, SOD、GSH-Px 活性降低,血管内皮细胞凋亡率及

cleaved-caspase3、cleaved-caspase9 表达水平升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图4、表7。



A: 凋亡相关蛋白表达; B: 细胞凋亡流式图。

图3 miR-129-5p 过表达对 oxLDL 诱导的血管内皮细胞凋亡的影响



A: 凋亡相关蛋白表达; B: 细胞凋亡流式图。

图4 下调 miR-129-5p 逆转干扰 lncRNA NUTM2A-AS1 对 oxLDL 诱导的血管内皮细胞的凋亡抑制

表7 下调 miR-129-5p 表达逆转了干扰 lncRNA NUTM2A-AS1 表达对 oxLDL 诱导的血管内皮细胞损伤的作用 ( $\bar{x} \pm s$ ) ( $n = 9$ )

指标	oxLDL + si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-NC 组	oxLDL + si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-129-5p 组
miR-129-5p	1.00 ± 0	0.34 ± 0.04*
MDA/(nmol/L)	1.19 ± 0.14	6.68 ± 0.43*
SOD/(U/mL)	71.48 ± 6.62	36.61 ± 3.19*
GSH-Px/(U/mL)	47.24 ± 4.35	27.57 ± 2.64*
凋亡率/%	9.35 ± 0.69	22.79 ± 2.18
cleaved-caspase3	0.33 ± 0.03	0.64 ± 0.05
cleaved-caspase9	0.20 ± 0.02	0.51 ± 0.04*

与 oxLDL + si-NUTM2A-AS1 + anti-miR-NC 组比较, \* $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

AS 是一种与氧化应激和内皮功能障碍相关的慢性血管炎症性疾病,而炎症反应、氧化应激等是引起内皮细胞损伤的重要因素<sup>[9-11]</sup>。oxLDL 介导的血管内皮细胞损伤是 AS 的早期行为和主要信号<sup>[12]</sup>。因此,本研究采用 oxLDL 处理血管内皮细胞构建损伤模型。结果显示, oxLDL 作用的血管内皮细胞中 MDA 含量升高, SOD、GSH-Px 活性降低,血管内皮细胞凋亡率及 cleaved-caspase3、cleaved-caspase9 表达水平升高,证实 oxLDL 诱导了血管内皮细胞氧化损伤。miRNA 参与调控细胞

损伤过程,研究<sup>[13]</sup>显示,慢性心力衰竭患者血清中 miR-129-5p 下调, miR-129-5p 上调则可减轻慢性心力衰竭大鼠的氧化应激和炎症反应。miR-129-5p 可防止心肌缺血再灌注损伤<sup>[14]</sup>,并可有效抑制血管紧张素 II 诱导的心肌细胞肥大和氧化应激<sup>[15]</sup>。miR-129-5p 通过下调 SOX6 减轻阿尔茨海默病的炎症反应和神经损伤<sup>[16]</sup>。随后,本研究同样观察到 miR-129-5p 在 oxLDL 处理的血管内皮细胞中水平下调,上调其表达后 MDA 含量降低, SOD、GSH-Px 活性升高,血管内皮细胞凋亡得到抑制,表明过表达 miR-129-5p 抑制了 oxLDL 作用后的血管内皮细胞氧化应激及细胞凋亡,说明 miR-129-5p 对内皮细胞同样具有抑制损伤的作用,与既往研究结果相符。

生物学软件预测发现, lncRNA NUTM2A-AS1 与 miR-129-5p 有结合位点。oxLDL 处理的血管内皮细胞中 lncRNA NUTM2A-AS1 表达水平升高,提示 lncRNA NUTM2A-AS1 可能与血管内皮细胞损伤有关。干扰 lncRNA NUTM2A-AS1 表达后, MDA 含量降低, SOD、GSH-Px 活性升高,血管内皮细胞凋亡抑制,表明干扰 lncRNA NUTM2A-AS1 表达可抑制 oxLDL 作用的血管内皮细胞氧化应激和细胞凋亡。此外, lncRNA NUTM2A-AS1 能够

靶向调控 miR-129-5p, 而敲低 miR-129-5p 表达能够逆转 lncRNA NUTM2A-AS1 下调介导的血管内皮细胞损伤抑制。

综上所述,敲低 lncRNA NUTM2A-AS1 可以破坏 oxLDL 诱导的血管内皮细胞氧化及凋亡损伤,主要通过 lncRNA NUTM2A-AS1/miR-129-5p 轴介导,这些发现可能对 AS 未来治疗方法的设计具有指导意义。

参考文献

[1] 方堃,丁岩,霍康. 超重/肥胖与血浆致动脉粥样硬化指数及其交互作用对 45 岁及以上人群 2 型糖尿病患病风险的影响[J]. 郑州大学学报:医学版, 2023, 58(4): 489 - 493.

[2] WANG R Y, WANG M, YE J X, *et al.* Mechanism overview and target mining of atherosclerosis: Endothelial cell injury in atherosclerosis is regulated by glycolysis (Review)[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(1): 65 - 76.

[3] ZHENG J, LU C Z. Oxidized LDL causes endothelial apoptosis by inhibiting mitochondrial fusion and mitochondria autophagy[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 600950.

[4] ZHANG F M, ZHENG W H, WANG H J. MiR-34a-5p inhibition attenuates LPS-induced endothelial cell injury by targeting FOXM1 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(20): 10829 - 10838.

[5] GENG Z H, XU F, ZHANG Y G. MiR-129-5p-mediated Beclin-1 suppression inhibits endothelial cell autophagy in atherosclerosis[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(4): 1886 - 1894.

[6] TILIWALDI H, TURSUN A, TOHTI A, *et al.* Circ\_0000345 protects endothelial cells from oxidized low-density lipoprotein-induced injury by miR-129-5p/ten-eleven translocation axis[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2021, 77(5): 603 - 613.

[7] HUANG X, HOU X P, CHUAN L B, *et al.* MiR-129-5p alleviates LPS-induced acute kidney injury via targeting HMGB1/TLRs/NF-kappaB pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020,

89(Pt A): 107016.

[8] WANG X C, SUN H J, HU Z K, *et al.* NUTM2A-AS1 silencing alleviates LPS-induced apoptosis and inflammation in dental pulp cells through targeting let-7c-5p/HMGB1 axis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 96: 107497.

[9] MARCHIO P, GUERRA-OJEDA S, VILA J M, *et al.* Targeting early atherosclerosis: a focus on oxidative stress and inflammation [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 8563845.

[10] 安芳,丛洪良. ABCA1 在动脉粥样硬化中的调节及作用的研究进展[J]. 河北医科大学学报, 2022, 43(12): 1485 - 1488, 封3.

[11] 任丽,吴锡骅,刘婷,等. 人参皂苷 Rb1 激活 HRD1 信号通路对动脉粥样硬化内皮细胞凋亡的影响[J]. 贵州医科大学学报, 2022, 47(7): 779 - 784, 795.

[12] ZHANG H, FAN L J, LIU J, *et al.* Safflower yellow A protects vascular endothelial cells from ox-LDL-mediated damage[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2022, 42(1): 52 - 59.

[13] XIAO N, ZHANG J, CHEN C, *et al.* MiR-129-5p improves cardiac function in rats with chronic heart failure through targeting HMGB1[J]. *Mamm Genome*, 2019, 30(9/10): 276 - 288.

[14] CHEN Z X, HE D, MO Q W, *et al.* MiR-129-5p protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via targeting HMGB1[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(8): 4440 - 4450.

[15] YE H M, XU G Y, ZHANG D X, *et al.* The protective effects of the miR-129-5p/keap-1/Nrf2 axis on Ang II-induced cardiomyocyte hypertrophy[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(2): 154.

[16] ZENG Z L, LIU Y J, ZHENG W, *et al.* MicroRNA-129-5p alleviates nerve injury and inflammatory response of Alzheimer's disease via downregulating SOX6[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(22): 3095 - 3110.

(本文编辑: 陆文娟 钱锋)

(上接第 44 面)

[16] REINDL M, TILLER C, HOLZKNECHT M, *et al.* Global longitudinal strain by feature tracking for optimized prediction of adverse remodeling after ST-elevation myocardial infarction[J]. *Clin Res Cardiol*, 2021, 110(1): 61 - 71.

[17] WANG J L, MENG Y K, ZHANG C, *et al.* Delays in first medical contact to primary interventional therapy and left ventricular remodelling in ST-segment elevation myocardial infarction[J]. *Ir J Med Sci*, 2023, 192(5): 2143 - 2150.

[18] WANG L, MA Y L, JIN W Y, *et al.* Coronary microcirculation dysfunction evaluated by myocardial contrast echocardiography predicts poor prognosis in patients with ST-segment elevation myocardial infarction after percutaneous coronary intervention[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2022, 22: 572.

[19] 王岚,马玉良,朱天刚,等. 左室整体长轴应变对急性心

肌梗死后冠状动脉微循环障碍的诊断价值[J]. 临床心血管病杂志, 2021, 37(10): 896 - 900.

[20] LIU Y H, YE T, CHEN K, *et al.* A nomogram risk prediction model for no-reflow after primary percutaneous coronary intervention based on rapidly accessible patient data among patients with ST-segment elevation myocardial infarction and its relationship with prognosis[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 966299.

[21] YANG B S, BAI L, ZHANG Y K, *et al.* The value of different short-term risk scoring models in predicting long-term death of acute myocardial infarction[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(17): 5054.

(本文编辑: 周娟 钱锋)