

动脉粥样硬化中的miRNA：诊断和治疗

郑攀^{1#}, 龙海蛟^{2#}, 林海月³, 杨扬^{1*}, 赵国军^{1,3*}

(¹桂林医学院药学院, 桂林 541199; ²中南大学湘雅医院, 长沙 421000; ³广州医科大学附属第六医院, 清远 511518)

摘要：在过去的十几年中，microRNA(miRNA)尤其是其调节基因表达的功能受到了广泛的关注。越来越多的研究表明，miRNA与动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的发生发展密切相关，主要体现在影响内皮细胞、单核/巨噬细胞和平滑肌细胞功能失调方面，从而引发和促进AS斑块的生长。患者外周血细胞中的miRNA水平可以作为判断疾病严重程度的标志物。此外，从miRNA角度开发新的治疗方法，有助于更好地治疗AS。本文总结了miRNA在AS发生发展中的作用机制，并着重关注了miRNA作为AS诊断的新型生物标志物以及AS潜在的治疗靶点的最新研究进展，为AS的临床诊疗提供了新的理论基础。

关键词：动脉粥样硬化；microRNA；斑块；生物标志物；治疗

MiRNA in atherosclerosis: diagnosis and therapy

ZHENG Pan^{1#}, LONG Haijiao^{2#}, LIN Haiyue³, YANG Yang^{1*}, ZHAO Guojun^{1,3*}

(¹College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541199, China; ²Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 421000, China; ³the Sixth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan 511518, China)

Abstract: In the past decade, microRNA (miRNA), especially its function of regulating gene expression, has received a lot of attention. More and more studies have shown that miRNA is closely related to the occurrence and development of atherosclerosis (AS). This correlation is mainly reflected in the dysfunction of endothelial cells, monocytes/macrophages and smooth muscle cells, thereby triggering and promoting the growth of AS plaques. The level of miRNA in patients' peripheral blood cells can be used as a marker to judge the severity of the disease. In addition, the development of new therapeutic methods from the perspective of miRNA is conducive to better treatment of AS. This paper summarizes the mechanism of action of miRNA in the occurrence and development of AS, and focuses on the latest progress of miRNA as a novel biomarker in the diagnosis of AS and a potential therapeutic target for AS, which provides a new theoretical basis for the clinical diagnosis and treatment of AS.

Key Words: atherosclerosis; microRNA; plaque; biomarkers; therapy

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)的标志，也是心血管疾病死亡的主要因素之一。AS由脂质代谢紊乱、炎性细胞浸润以及血管平滑肌细胞异常

增殖等病理因素引起。MicroRNA(miRNA)是一类基因编码长度为21~24个核苷酸的非编码RNA分子，通过与信使RNA(mRNA)相互作用影响蛋白质合成^[1]。据统计，miRNA可以调控超过半数的蛋白

收稿日期: 2022-09-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(81870337)

*共同第一作者: 郑攀, E-mail: 1093524626@qq.com; 龙海蛟, E-mail: 198101007@csu.edu.cn

*通信作者: 赵国军, E-mail: zhaoguojun@gzhmu.edu.cn; 杨扬, E-mail: 35112908@qq.com

质编码基因,与AS的发生发展密切相关。此外,在外周循环中可以检测到miRNA,这也让人们认识到,可以将循环miRNA用作心血管疾病诊断、治疗以及预后的生物标志物。本文主要就miRNA在AS诊断和治疗中的潜在用途进行综述。

1 MiRNA参与AS发生发展的分子机制

在AS初始阶段,血管内膜的内皮细胞发生功能障碍之后,循环中的单核细胞被招募到血管壁,分化为巨噬细胞,巨噬细胞吞噬脂质产生泡沫细胞并分泌炎症因子,诱发炎症。同时,平滑肌细胞迁移至内膜下并增殖,最终形成AS斑块^[2]。近年来,研究发现,miRNA在调节胆固醇代谢、细胞黏附、炎症发生和平滑肌细胞增殖等过程中都发挥重要的作用^[3]。MiRNA全面参与调控了AS发生发展的几种重要细胞,如内皮细胞、巨噬细胞和平滑肌细胞(图1)。

1.1 内皮细胞

内皮细胞是血管壁内膜的单层扁平细胞,正常的内皮细胞功能包括维持血管舒张、血管生成和抗血栓等,在调控体内平衡方面发挥着关键的作用,最初驱动AS发病的一个因素是内皮细胞功能障碍^[4]。MiRNA在影响内皮细胞基因表达以及功能方面起着至关重要的作用。有研究表明,miR-221-3p通过靶向过氧化物酶体增殖受体 γ 辅激活因子-1 α (peroxisome proliferators-activated receptor γ coactivator 1-alpha, PGC-1 α),诱导内皮细胞内PGC-1 α 表达下调,活性氧过量积累,导致内皮细胞线粒体功能障碍,从而加速AS发展^[5]。除此之外,miRNA也可以通过加速内皮细胞衰老引起内皮细胞功能障碍。研究显示,miR-34a在AS小鼠斑块中表达增加,体外实验发现,miR-34a通过抑制沉默调节蛋白1(Sirtuin 1, SIRT1)加剧内皮细胞衰老,从而促进AS发展^[6]。炎症是AS发展中的一个关键因素,miRNA能调控内皮细胞炎症反应。MiR-21-5p可抑制信号诱导增殖相关蛋白1样蛋白2(signal induced proliferation associated 1 like 2, SIPA1L2)的表达减轻氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)诱导的血管内皮细胞损伤^[7]。此外,Gu等^[8]发现,miR-199a-3p显著抑制内皮细胞中血管细胞黏附分子-1

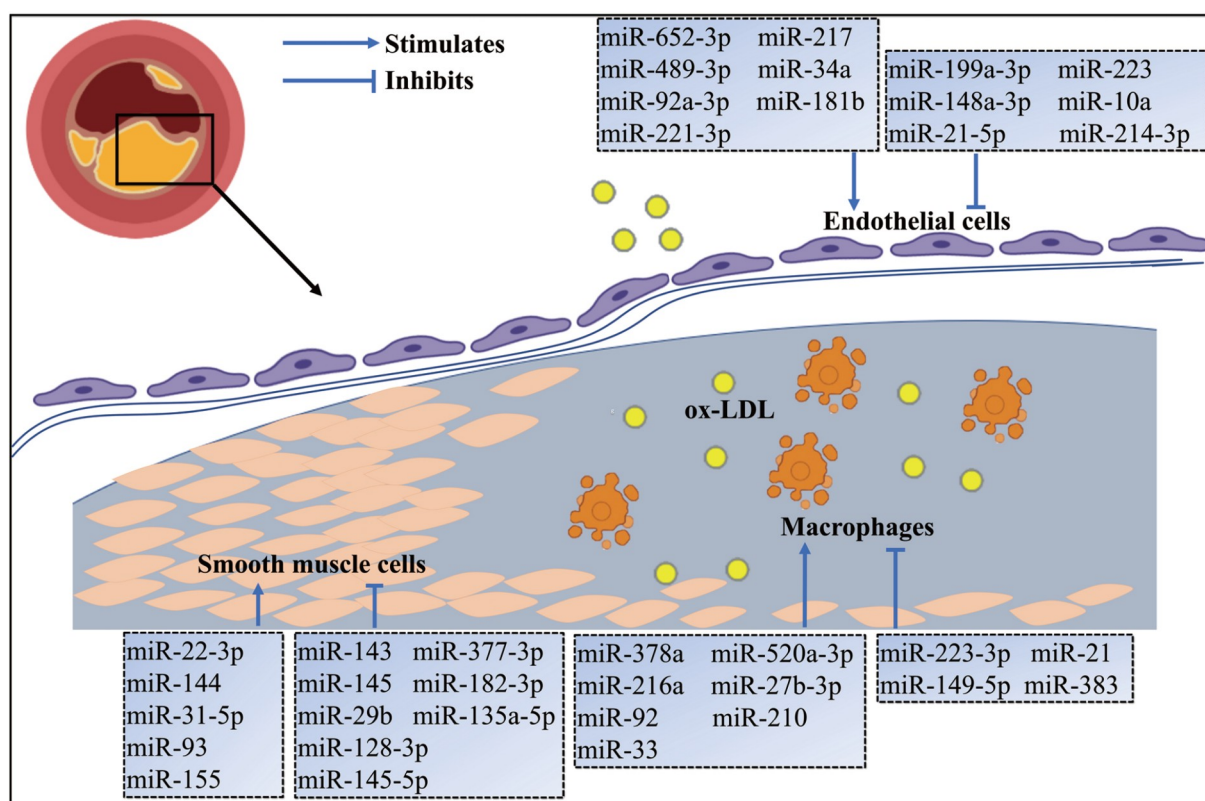
(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)和细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)的活性,减弱单核细胞和内皮细胞的相互作用,从而改善AS初期的血管病变。

1.2 巨噬细胞

在AS发展过程中,巨噬细胞吞噬大量脂质形成泡沫细胞,并沉积在血管内膜下,促进斑块的生长,同时分泌炎症因子,诱导炎症反应并减少斑块的稳定性,加速AS进程。一些miRNA参与AS中巨噬细胞介导的炎症反应。You等^[9]确定了miR-223-3p在AS患者颈动脉斑块中与巨噬细胞共定位,进一步的机制研究发现,miR-223-3p通过靶向MEK1/ERK1/2信号通路减少了ApoE^{-/-}小鼠的斑块面积以及巨噬细胞的数量,并通过抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达降低了炎症反应,从而缓解AS。在另一项研究中,ApoE^{-/-}小鼠的斑块和动脉组织中miR-520a-3p的表达升高,体外抑制巨噬细胞中miR-520a-3p的表达后,可明显降低M1型巨噬细胞极化标志物和促炎基因的表达,证明miR-520a-3p可调节巨噬细胞的炎症状态^[10]。此外,本实验室的研究证实,miR-19b通过靶向抑制巨噬细胞中三磷酸腺苷结合盒转运体A1(ATP binding cassette transporter A1, ABCA1),减少胆固醇流出,进而促进泡沫细胞的形成和AS的发展^[11]。

1.3 平滑肌细胞

平滑肌细胞是血管壁中的主要细胞成分,在维持血管张力方面起关键作用。平滑肌细胞的表型可从“收缩型”转变为“分泌型”,加剧AS进展,抑制平滑肌细胞表型转换在AS中起保护作用^[12]。Zeng等^[13]分别通过体内和体外实验证明,抑制miR-22-3p的水平,能进一步促进甲基双加氧酶(Ten eleven translocation 2, TET2)的表达并诱导平滑肌细胞分化,抑制平滑肌细胞增殖,减轻小鼠动脉的血管内膜增生。MiR-145-5p主要在平滑肌细胞中表达,并调控平滑肌细胞的迁移、增殖以及表型转化^[14]。有研究发现,miR-145-5p在AS患者血液以及血管斑块中低表达,进一步在体外实验证实,miR-145-5p在平滑肌细胞中通过抑制钙/钙调素依赖蛋白激酶2 δ (calcium/calmodulin dependent protein kinase 2 delta, CaMKII δ)表达,



内皮细胞中, miR-652-3p、miR-217、miR-489-3p、miR-34a、miR-92a-3p、miR-181b、miR-221-3p等miRNA促进AS, miR-199a-3p、miR-148a-3p、miR-214-3p、miR-10a、miR-21-5p、miR-223等miRNA抑制AS^[5-8,17-23]; 巨噬细胞中, miR-378a、miR-520a-3p、miR-216a、miR-27b-3p、miR-92、miR-210、miR-33等miRNA促进AS, miR-223-3p、miR-149-5p、miR-21、miR-383等miRNA抑制AS^[9-11,24-29]; 平滑肌细胞中, miR-22-3p、miR-144、miR-31-5p、miR-93、miR-155等miRNA促进AS, miR-143、miR-377-3p、miR-145、miR-182-3p、miR-29b、miR-135a-5p、miR-128-3p、miR-145-5p等miRNA抑制AS^[13-16,30-37]。ox-LDL: 氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein)

图1 部分参与AS发生发展的miRNA

进而阻断AMPK/mTOR/ULK1信号通路和抑制细胞的自噬, 最终发挥抗AS的作用^[15]。另有研究表明, 过表达miR-143和miR-145可以调节平滑肌细胞从“分泌型”转变为“收缩型”, 减少血管病变, 并且促进平滑肌细胞重编程为内皮细胞, 为血管内皮新生提供新的研究方向^[16]。

2 MiRNA作为AS诊断的新型生物标志物

有研究表明, 循环miRNA的水平与AS密切相关, 它们的表达水平可能反映AS发生发展的状态, 并可作为AS诊断的新型生物标志物^[38](表1)。

2.1 MiR-99a-5p

众所周知, 早期发现无症状冠状动脉疾病是非常必要的, 但是目前的诊断技术很难做到。根据冠状动脉CT血管造影将受试者分为对照组和CAD患者组, 研究者发现, miR-99a-5p在CAD组中持续上调两倍以上^[39]。体外实验发现, 在ox-

LDL诱导的THP-1巨噬细胞中miR-99a-5p表达明显下调, 在小鼠AS模型中过表达miR-99a-5p, 巨噬细胞自噬上调, AS斑块面积减少^[40], 表明miR-99a-5p与AS的发展密切相关, 其在CAD中表达升高可能是代偿性的。总之, miR-99a-5p显示了作为生物标志物的巨大潜力, 但其在AS发生发展过程中的具体机制还值得进一步探索。

2.2 MiR-221

据报道, miR-221与多种恶性肿瘤相关^[41]。近年来已有研究表明, miR-221也参与AS的发展^[42-43]。与正常小鼠相比, miR-221在AS小鼠颈动脉组织中表达显著增加^[42]。从机制上讲, miR-221可以通过抑制SIRT1对前蛋白转化酶枯草溶菌素转化酶9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, *Pcsk9*)启动子区域的去乙酰化, 从而促进AS斑块面积和脂质沉积面积的增加^[42]。最新一项研究通过对52名AS患者和53名健康人群的临床资料进行回顾性

表1 MiRNA作为AS的潜在生物标志物

病例/对照	MiRNA类型	来源	表达情况	AUC值	参考文献
16/16	MiR-17-5p	外周血	上调	—	[39]
	MiR-29b-3p				
	MiR-210-3p				
	MiR-7-5p				
	MiR-99a-5p				
110/70	MiR-675-3p	血清	上调	0.918	[47]
110/68	MiR-18a-5p	血清	上调	0.894	[52]
52/53	MiR-221	血清	上调	0.670	[43]
	MiR-144		下调	0.613	
203/192	MiR-223-3p	斑块	上调	0.76	[44]
	MiR-122-5p	血清	上调	0.90	
26/30	MiR-17-5p	血浆	下调	—	[51]
105/72	MiR-145-5p	血清	上调	—	[49]
	MiR-let7c				

—: 未检测

分析,发现AS患者血清中miR-221显著升高并且miR-221的表达与颈动脉内膜中层厚度(carotid intima-media thickness, CIMT)呈正相关,血清miR-221单独诊断AS的受试者工作特征曲线的曲线下面积(area under curve, AUC)为0.670,然而miR-221和miR-144两者联合诊断的AUC则为0.858,特异性明显高于单独诊断^[43]。以上研究说明,miR-221在AS中具有诊断价值,而且这种价值可以通过联合其他指标为AS的诊断和病情评估提供更加精确的依据。

2.3 MiR-223-3p

为了准确预测心血管疾病的风险并尽早治疗,根据生物标志物在早期区分稳定型CAD和不稳定型CAD至关重要。一项研究通过冠状动脉CT血管造影将受试者分为健康人、稳定型CAD患者以及不稳定型CAD患者,并检测以上三种人群斑块组织的miRNA表达情况。结果显示,miR-223-3p在不稳定型CAD患者组上调最多,此外,与斑块中结果一致,不稳定型CAD患者血清中的miR-223-3p相较于稳定型CAD患者同样显著上调^[44]。以上结果提示,miR-223-3p可作为不稳定型CAD的生物标志物。然而,最新的研究表明,颈动脉粥样硬化患者血清中miR-223表达降低,并且miR-223与斑块不稳定相关指标如冠状动脉CT扫描中冠状动脉钙评分呈负相关^[45]。结合上述研究,未来miR-223-3p可能是区分稳定型CAD和不稳定型CAD的标志miRNA之一,但是目前呈现的结果不一致,需要进一步的研究证明其在AS发生发展中

的作用机制。

2.4 MiR-675-3p

糖尿病的全球患病率一直呈不断上升的趋势,糖尿病性动脉粥样硬化(diabetic atherosclerosis, DA)是大多数糖尿病患者发病、住院和死亡的主要原因之一,因此,探索在DA发生发展中的生物标志物是刻不容缓的。Li等^[46]分别对3只DA大鼠和3只无AS的糖尿病大鼠的髂动脉组织样本进行miRNA分析,鉴定出9个DA大鼠髂主动脉组织中上调的miRNA,其中包括miR-675-3p。与上述研究对应的是,Wang等^[47]对110名AS患者和70名健康受试者的血清检测发现,AS患者血清中的miR-675-3p也明显高于健康组,并且通过Spearman相关系数分析血清中miR-675-3p水平与CIMT呈正相关,为了进一步明确miR-675-3p水平在AS中的临床预后价值,研究人员根据5年的随访记录分析了患者的不良预后事件,结果显示miR-675-3p高表达的患者预后较差。以上研究证实了miR-675-3p可能是糖尿病及其他多种诱因导致的AS的潜在诊断生物标志物,并且提示不良预后,为AS的早期预防和筛查以及干预提供了理论依据。

2.5 MiR-145-5p

高血压是AS的重要危险因素之一,血压水平与CIMT增加和颈动脉斑块形成有关。目前,利用miRNA作为高血压患者亚临床AS的诊断生物标志物仍处于探索阶段。既往研究指出,miR-145-5p在高血压患者的AS斑块中高表达^[48],此后的一项病例对照研究发现,对比无颈动脉斑块的高血压患者,高血压合并有颈动脉斑块患者的血清中miR-145-5p的表达水平增加^[49]。进一步使用双因素相关分析结果显示,高血压合并颈动脉斑块患者血清中miR-145-5p表达与CIMT呈正相关^[49]。相反,一项体内实验显示,AS小鼠主动脉斑块处miR-145-5p表达明显下调^[50]。以上结果说明,需要通过扩大样本量,并构建高血压AS小鼠模型进一步研究,验证miR-145-5p作为高血压患者亚临床AS的诊断价值。

除了上述我们总结的几个具有作为AS生物标志物潜力的代表性miRNA之外,AS患者血浆中降低的miR-17-5p也可被视为CAD的生物标志物,而升高的miR-146a-5p和miR-21-5p则可用作预测急性

冠状动脉综合征的生物标志物^[51]。除此之外, 利用多变量Cox回归分析证明, miR-18a-5p是AS患者发生不良心血管事件的独立预后因素^[52]。总之, 与传统的生物标志物相比, 利用miRNA作为AS早期诊断和预后的生物标志物具有许多优势。首先, miRNA在循环中容易检测, 使其具有成为诊断AS的新型生物标志物的巨大潜力。另外, miRNA在不同组织以及细胞之间的表达特征不同, 具有较好的组织或细胞特异性, 因此可以作为一些组织或细胞的特异性分子标志^[53]。当然, 未来还需要更多的临床研究来提高循环miRNA作为AS独立预测因子的能力, 进一步明确他们作为生物标志物的作用。

3 MiRNA作为AS潜在的治疗靶点

MiRNA可以调节AS中多种细胞的功能, 突出了靶向miRNA对AS的治疗潜力。目前, 基于miRNA的治疗方法正处于临床开发阶段, 包括miRNA模拟物、反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)和抗miRNA分子(antimiR)^[54]。MiRNA模拟物是合成的双链小分子RNA, 与相应的miRNA序列匹配, 可以模拟内源性miRNA发挥作用, 因此, 其功能为补充疾病中下调的miRNA水平。ASO则用于靶向mRNA或修饰锁核酸(locked nucleic acid, LNA), 在ASO的基础上, 研究人员设计出了单链小分子RNA antimiR, 带有2'-O-甲基乙基修饰的antimiR, 也被称为antagomiR。与miRNA模拟物相反, antimiR与miRNA具有互补序列, 可以特异性地与内源性miRNA结合来抑制或阻断其功能^[55]。

利用miRNA模拟物恢复疾病期间下调的miRNA的水平是目前常用的治疗方法。鉴于平滑肌细胞表型转换受miR-145调控, Chin等^[56]通过合成靶向C-C趋化因子受体2(C-C chemokine receptor 2, CCR2)的miR-145纳米颗粒, 在合成型平滑肌细胞中高表达miR-145, 结果显示, 使用miR-145模拟物维持了平滑肌细胞的收缩表型, 进一步对早期AS小鼠注射miR-145纳米颗粒治疗后, 降低了平滑肌细胞CCR2的表达, 减少了49%的血管病变, 并且在治疗后两周miR-145表达水平依然持续增加, 此外, 中期AS小鼠注射miR-145纳米颗粒后,

与对照组相比可减少43%的斑块面积。以上结果说明, 可以将miR-145模拟物作为新的治疗策略, 在早期和中期干预AS的发展。MiR-181b同样拥有作为AS治疗靶点的潜力, 已有研究报道miR-181b的表达与炎症呈负相关^[57], 最新的一项研究利用miR-181b的模拟物高表达高脂饮食小鼠体内的miR-181b, 可以改善主动脉内皮依赖性血管舒张, 同时抑制血管炎症因子的产生^[58]。

另外一种治疗方式是将人工合成的ASO或antimiR递送至靶细胞内与内源性miRNA结合, 降低miRNA对靶基因的抑制作用。MiR-33是AS进展中一个关键的miRNA。Zhang等^[59]使用低pH插入肽(pH low insertion peptides, pHLP)构建体作为载体, 将miR-33的ASO递送至小鼠的AS斑块内巨噬细胞, 然后进行单细胞RNA测序分析显示, 纤维化基因(*Col2a1*、*Col3a1*、*Col1a2*、*Fnl*等)和人基质金属蛋白酶抑制因子-3(tissue inhibitor of metalloproteinases-3, TIMP-3)高表达, 而基质金属蛋白酶12(matrix metalloproteinases 12, MMP12)表达下调。进一步通过免疫组化发现, 使用ASO靶向抑制miR-33后, 增加了胶原蛋白含量并减少了血管内的脂质蓄积, 改善了*ApoE*^{-/-}小鼠的血管病变。除此之外, 本实验室的研究证明, 在ox-LDL处理的THP-1巨噬细胞中使用antimiR抑制miR-33表达可以增加*ABCA1*水平^[60]。与我们的研究结果一致的是, 在另一项对喂食高脂饮食的非人灵长类动物研究中也发现, 使用antimiR-33处理能增加*ABCA1*转录水平, 升高高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)而降低极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)以及甘油三酯的水平^[61]。此外, 在高脂饮食的非洲绿猴体内特异性敲降miR-33a/b可明显提高血浆中HDL的水平, 并且上调肝脏中的*ABCA1*表达, 进而促进泡沫细胞胆固醇流出, 减少巨噬细胞内脂质蓄积, 这也充分体现了抗miR-33a/b对AS的潜在治疗作用^[62]。由此可见, 开发靶向miRNA的药物治疗AS具有重要的临床意义。

4 总结与展望

利用miRNA调节蛋白表达的功能从而影响AS的发生发展已经受到广泛的关注。迄今为止, 大

量研究结果已经证明miRNA可以影响AS中的关键细胞包括内皮细胞、单核/巨噬细胞和平滑肌细胞的表型,调控细胞中下游靶基因的表达,从而导致细胞的功能失调,驱动AS斑块的形成。然而,miRNA同样也受到上游因子的调控。目前对miRNA的上游调控机制研究较少,本实验室在探索上游调控miRNA的表达方面取得了一定成果,如核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)可促进miR-33表达^[60],未来有待深入探讨miRNA的上游调控机制。

循环miRNA为我们提供了判断AS患者血管狭窄程度以及斑块稳定性的依据。未来高特异性的miRNA在诊断AS严重程度以及判断患者将面临的疾病风险方面有很大的发展前景。然而,为了最大程度地发挥miRNA作为诊断生物标志物的潜力,我们还需要克服对循环miRNA检测和分析技术上的困难。许多miRNA仅相差1~2个核苷酸,相较于细胞中的miRNA,大多数循环miRNA在病理状态对比健康状态差异极小,因此,我们在明确具有诊断作用的miRNA方面仍需做出更多的努力。

尽管多年来进行了大量涉及miRNA的临床研究,但迄今为止只有少量miRNA进入到临床治疗的开发阶段。开发以miRNA作为靶向AS的治疗药物,最大的挑战之一就是针对AS的发病程度来确定最佳的miRNA靶点。此外,目前利用miRNA的治疗方法侧重于miRNA模拟物或antimiR的全身给药,但这种给药方式可能会面临miRNA的脱靶问题,导致各种无法预测和不必要的副作用。因此,靶向miRNA开发治疗药物的研究仍不全面,亟待更多的研究集中在设计miRNA递送载体方面,以提高治疗药物稳定性,避免潜在毒性和脱靶效应,确保将miRNA精准地递送到预期的病理部位,为AS患者提供更高效的治疗方法。

参考文献

- [1] Zhang X, Price NL, Fernández-Hernando C. Non-coding RNAs in lipid metabolism. *Vascular Pharmacol*, 2019, 114: 93-102
- [2] Barrett TJ. Macrophages in atherosclerosis regression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(1): 20-33
- [3] Zhou S, Jin J, Wang J, et al. Mirnas in cardiovascular diseases: potential biomarkers, therapeutic targets and challenges. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(7): 1073-1084
- [4] Mussbacher M, Schossleitner K, Kral-Pointner JB, et al. More than just a monolayer: the multifaceted role of endothelial cells in the pathophysiology of atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*, 2022, 24(6): 483-492
- [5] Xue Y, Wei Z, Ding H, et al. MicroRNA-19b/221/222 induces endothelial cell dysfunction via suppression of PGC-1 α in the progression of atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 2015, 241(2): 671-681
- [6] Zhang L, Guo Y, Shi S, et al. Tetrahydroxy stilbene glycoside attenuates endothelial cell premature senescence induced by H₂O₂ through the microRNA-34a/SIRT1 pathway. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 1708
- [7] Chen L, Heikkinen L, Wang C, et al. Trends in the development of miRNA bioinformatics tools. *Briefings Bioinf*, 2019, 20(5): 1836-1852
- [8] Gu X, Weng R, Hou J, et al. Endothelial miR-199a-3p regulating cell adhesion molecules by targeting mTOR signaling during inflammation. *Eur J Pharmacol*, 2022, 925: 174984
- [9] You D, Qiao Q, Ono K, et al. MiR-223-3p inhibits the progression of atherosclerosis via down-regulating the activation of MEK1/ERK1/2 in macrophages. *Aging*, 2022, 14(4): 1865-1878
- [10] Qi JR, Zhao DR, Zhao L, et al. MiR-520a-3p inhibited macrophage polarization and promoted the development of atherosclerosis via targeting UVRAG in apolipoprotein E knockout mice. *Front Mol Biosci*, 2021, 7: 621324
- [11] Lv YC, Tang YY, Peng J, et al. MicroRNA-19b promotes macrophage cholesterol accumulation and aortic atherosclerosis by targeting ATP-binding cassette transporter A1. *Atherosclerosis*, 2014, 236(1): 215-226
- [12] Liu M, Gomez D. Smooth muscle cell phenotypic diversity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(9): 1715-1723
- [13] Zeng Z, Xia L, Fan S, et al. Circular RNA CircMAP3K5 acts as a MicroRNA-22-3p sponge to promote resolution of intimal hyperplasia via TET2-mediated smooth muscle cell differentiation. *Circulation*, 2021, 143(4): 354-371
- [14] Zhang J, Starkuviene V, Erfle H, et al. High-content analysis of microRNAs involved in the phenotype regulation of vascular smooth muscle cells. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 3498
- [15] Zhang X, Zai L, Tao Z, et al. miR-145-5p affects autophagy by targeting CaMKII δ in atherosclerosis. *Int J Cardiol*, 2022, 360: 68-75
- [16] McCoy MG, Pérez-Cremades D, Belkin N, et al. A miRNA cassette reprograms smooth muscle cells into endothelial cells. *FASEB J*, 2022, 36(4): e22239
- [17] Zhang Y, Liu X, Bai X, et al. Melatonin prevents

- endothelial cell pyroptosis via regulation of long noncoding RNA MEG3/miR-223/NLRP3 axis. *J Pineal Res*, 2018, 64(2): e12449
- [18] Wang J, Wang WN, Xu SB, et al. MicroRNA-214-3p: a link between autophagy and endothelial cell dysfunction in atherosclerosis. *Acta Physiol*, 2018, 222(3): e12973
- [19] Wang F, Ge J, Huang S, et al. KLF5/LINC00346/miR-148a-3p axis regulates inflammation and endothelial cell injury in atherosclerosis. *Int J Mol Med*, 2021, 48(2): 152
- [20] Wiese CB, Zhong J, Xu ZQ, et al. Dual inhibition of endothelial miR-92a-3p and miR-489-3p reduces renal injury-associated atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 2019, 282: 121-131
- [21] Huang R, Hu Z, Cao Y, et al. MiR-652-3p inhibition enhances endothelial repair and reduces atherosclerosis by promoting cyclin D2 expression. *EBioMedicine*, 2019, 40: 685-694
- [22] Zhu J, Du S, Zhang J, et al. MicroRNA-10a-5p from gastric cancer cell-derived exosomes enhances viability and migration of human umbilical vein endothelial cells by targeting zinc finger MYND-type containing 11. *Bioengineered*, 2022, 13(1): 496-507
- [23] Sun Y, Zhang L, Hong L, et al. MicroRNA-181b-2 and microRNA-21-1 negatively regulate NF- κ B and IRF3-mediated innate immune responses via targeting TRIF in teleost. *Front Immunol*, 2021, 12: 734520
- [24] Ye Z, Yang S, Xia Y, et al. LncRNA MIAT sponges miR-149-5p to inhibit efferocytosis in advanced atherosclerosis through CD47 upregulation. *Cell Death Dis*, 2019, 10(2): 138
- [25] Karshovska E, Wei Y, Subramanian P, et al. HIF-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α) promotes macrophage necroptosis by regulating miR-210 and miR-383. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(3): 583-596
- [26] Chen W, Li X, Wang J, et al. MiR-378a modulates macrophage phagocytosis and differentiation through targeting CD47-SIRP α axis in atherosclerosis. *Scand J Immunol*, 2019, 90(1): e12766
- [27] Su Y, Guan P, Li D, et al. Intermedin attenuates macrophage phagocytosis via regulation of the long noncoding RNA Dnm3os/miR-27b-3p/SLAMF7 axis in a mouse model of atherosclerosis in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 583: 35-42
- [28] Sung HY, Choi EN, Han J, et al. Protective role of ABCA1 in ischemic preconditioning is mediated by downregulation of miR-33-5p and miR-135-5p. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 12511
- [29] Gao F, Chen X, Xu B, et al. Inhibition of MicroRNA-92 alleviates atherogenesis by regulation of macrophage polarization through targeting KLF4. *J Cardiol*, 2022, 79(3): 432-438
- [30] Shen L, Song Y, Fu Y, et al. MiR-29b mimics promotes cell apoptosis of smooth muscle cells via targeting on MMP-2. *Cytotechnology*, 2018, 70(1): 351-359
- [31] Sun L, Lin P, Chen Y, et al. MiR-182-3p/Myadm contribute to pulmonary artery hypertension vascular remodeling via a KLF4/p21-dependent mechanism. *Theranostics*, 2020, 10(12): 5581-5599
- [32] Lian X, Lv M, Shi B. MicroRNA-144 silencing attenuates intimal hyperplasia by directly targeting PTEN. *Clin Exp Hypertension*, 2022, 44(8): 678-686
- [33] Feng S, Gao L, Zhang D, et al. MiR-93 regulates vascular smooth muscle cell proliferation, and neointimal formation through targeting Mfn2. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(12): 2615-2626
- [34] Tang Y, Song H, Shen Y, et al. MiR-155 acts as an inhibitory factor in atherosclerosis-associated arterial pathogenesis by down-regulating Nox A1 related signaling pathway in ApoE^{-/-} mouse. *Cardiovasc Diagn Ther*, 2021, 11(1): 1-13
- [35] Farina FM, Hall IF, Serio S, et al. MiR-128-3p is a novel regulator of vascular smooth muscle cell phenotypic switch and vascular diseases. *Circ Res*, 2020, 126(12): e120
- [36] Wang H, Wei Z, Li H, et al. MiR-377-3p inhibits atherosclerosis-associated vascular smooth muscle cell proliferation and migration via targeting neuropilin2. *Biosci Rep*, 2020, 40(6): BSR20193425
- [37] Chang M, Liu G, Wang Y, et al. Long non-coding RNA LINC00299 knockdown inhibits ox-LDL-induced T/G HA-VSMC injury by regulating miR-135a-5p/XBP1 axis in atherosclerosis. *Panminerva Med*, 2022, 64(1): 38-47
- [38] Zhang J, Li S, Li L, et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genomics Proteomics BioInf*, 2015, 13(1): 17-24
- [39] Patterson AJ, Song MA, Choe D, et al. Early detection of coronary artery disease by micro-RNA analysis in asymptomatic patients stratified by coronary CT angiography. *Diagnostics*, 2020, 10(11): 875
- [40] Wang G, Jing SY, Liu G, et al. MiR-99a-5p: a potential new therapy for atherosclerosis by targeting mTOR and then inhibiting NLRP3 inflammasome activation and promoting macrophage autophagy. *Dis Markers*, 2022, 2022: 7172583
- [41] Di Martino MT, Arbitrio M, Caracciolo D, et al. MiR-221/222 as biomarkers and targets for therapeutic intervention on cancer and other diseases: a systematic review. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2022, 27: 1191-1224
- [42] Wang H, He F, Liang B, et al. LincRNA-p21 alleviates

- atherosclerosis progression through regulating the miR-221/SIRT1/Pcsk9 axis. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(19): 9141-9153
- [43] Zhang J, Cao Q, Zhang Z, et al. Analysis on value of applying serum miR-144 and miR-221 levels in diagnosing atherosclerosis. *J Health Eng*, 2022, 2022: 2261854
- [44] Singh S, de Ronde MWJ, Kok MGM, et al. MiR-223-3p and miR-122-5p as circulating biomarkers for plaque instability. *Open Heart*, 2020, 7(1): e001223
- [45] Zhu L, Wang Y, Qiao F. MicroRNA-223 and microRNA-126 are clinical indicators for predicting the plaque stability in carotid atherosclerosis patients. *J Hum Hypertens*, 2022. doi: 10.1038/s41371-022-00760-3
- [46] Li Y, Xiao L, Li J, et al. MicroRNA profiling of diabetic atherosclerosis in a rat model. *Eur J Med Res*, 2018, 23(1): 55
- [47] Wang S, Shao W, Gao Y, et al. Diagnostic and prognostic significance of miR-675-3p in patients with atherosclerosis. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2021, 27: 107602962110247
- [48] Santovito D, Mandolini C, Marcantonio P, et al. Overexpression of microRNA-145 in atherosclerotic plaques from hypertensive patients. *Expert Opin Therapeutic Targets*, 2013, 17(3): 217-223
- [49] Minin EOZ, Paim LR, Lopes ECP, et al. Association of circulating miR-145-5p and miR-let7c and atherosclerotic plaques in hypertensive patients. *Biomolecules*, 2021, 11(12): 1840
- [50] Liu C, Qin Q, Xu J, et al. Phthalate promotes atherosclerosis through interacting with long-non coding RNA and induces macrophage foam cell formation and vascular smooth muscle damage. *Chemosphere*, 2022, 308: 136383
- [51] Zhelankin AV, Stonogina DA, Vasiliev SV, et al. Circulating extracellular miRNA analysis in patients with stable CAD and acute coronary syndromes. *Biomolecules*, 2021, 11(7): 962
- [52] Teng PP, Liu Y, Zhang M, et al. Diagnostic and prognostic significance of serum miR-18a-5p in patients with atherosclerosis. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2021, 27: 107602962110506
- [53] Sampath P, Periyasamy KM, Ranganathan UD, et al. Monocyte and macrophage miRNA: potent biomarker and target for host-directed therapy for tuberculosis. *Front Immunol*, 2021, 12: 667206
- [54] Yu AM, Tu MJ. Deliver the promise: RNAs as a new class of molecular entities for therapy and vaccination. *Pharmacol Ther*, 2022, 230: 107967
- [55] Barwari T, Joshi A, Mayr M. MicroRNAs in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 68(23): 2577-2584
- [56] Chin DD, Poon C, Wang J, et al. MiR-145 micelles mitigate atherosclerosis by modulating vascular smooth muscle cell phenotype. *Biomaterials*, 2021, 273: 120810
- [57] Sun X, Icli B, Wara AK, et al. MicroRNA-181b regulates NF- κ B-mediated vascular inflammation. *J Clin Invest*, 2012, 122(6): 1973
- [58] Cheng CK, Shang W, Liu J, et al. Activation of AMPK/miR-181b axis alleviates endothelial dysfunction and vascular inflammation in diabetic mice. *Antioxidants*, 2022, 11(6): 1137
- [59] Zhang X, Rotllan N, Canfrán-Duque A, et al. Targeted suppression of miRNA-33 using pHLP improves atherosclerosis regression. *Circ Res*, 2022, 131(1): 77-90
- [60] Zhao G, Mo ZC, Tang SL, et al. Chlamydia pneumoniae negatively regulates ABCA1 expression via TLR2-Nuclear factor-kappa B and miR-33 pathways in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Atherosclerosis*, 2014, 235(2): 519-525
- [61] Rottiers V, Obad S, Petri A, et al. Pharmacological inhibition of a microRNA family in nonhuman primates by a seed-targeting 8-mer antimir. *Sci Transl Med*, 2013, 5(212): 212ra162
- [62] Rayner KJ, Esau CC, Hussain FN, et al. Inhibition of miR-33a/b in non-human primates raises plasma HDL and lowers VLDL triglycerides. *Nature*, 2011, 478(7369): 404-407