

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2016.01.04

流体剪切力对内皮细胞 miR-21 和 miR-199a 表达的影响

张燕^{1,2,3}, 王玉彩³, 刘振东^{1*}, 赵颖馨¹, 张华¹

(1.山东省医学科学院基础医学研究所, 济南 250062;

2.济南大学, 山东省医学科学院医学与生命科学学院, 济南 250022;

3.山东省齐河县人民医院, 山东齐河 251100)

摘要:为探讨流体剪切力对内皮细胞 microRNAs 表达的影响。采用旋转锥形圆盘剪切力系统对内皮细胞分别加载低(4 dyn/cm²)、中(10 dyn/cm²)和高(15 dyn/cm²)3种不同梯度的剪切力作用24h。对照组未加载剪切力。采用高通量筛选芯片检测 microRNAs 表达变化, qRT-PCR 验证, 并进行生物信息学分析。与对照组比较, 低剪切力组表达差异的 microRNAs 有33个(FC>1.5 或<0.5倍, P<0.05), 其中28个上调, 5个下调; 中剪切力组表达差异的 microRNAs 有8个(FC>1.5 或<0.5倍, P<0.05), 其中6个上调, 2个下调; 高剪切力组表达差异的 microRNAs 有31个(FC>1.5 或<0.5倍, P<0.05), 其中25个上调, 6个下调。miR-21 在高剪切力组中上调最显著(FC = 0.026), 在低剪切力组中显著下调(FC = 3.531)。miR-199a 在低剪切力组中上调最显著(FC = 0.075), 在高剪切力组中显著下调(FC = 3.031)。表达差异的 microRNA 的靶基因主要与内皮细胞的力学信号转导、细胞跨膜迁移、钙离子信号通路、细胞内吞作用等相关。流体剪切力可诱导内皮细胞 miR-21 和 miR-199a 表达发生改变。

关键词:剪切力; 内皮细胞; microRNA; 表达

中图分类号: Q344+.13 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-5565(2016)01-019-07

Effect of fluid shear stress on expression of miR-21 and miR-199a in endothelial cells

ZHANG Yan^{1,2,3}, WANG Yucui³, LIU Zhendong^{1*}, ZHAO Yingxin¹, ZHANG Hua¹

(1. Institute of Basic Medicine, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China;

2. School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250022, China;

3. People's Hospital of Qihe, Qihe Shandong 251100, China)

Abstract: To evaluate the effect of fluid shear stress on expression of microRNAs in endothelial cells. Low (4 dyn/cm²), middle (10 dyn/cm²), and high (15 dyn/cm²) fluid shear stress were loaded onto endothelial cells for 24 h using rotating cone disc shear stress system, respectively. No shear stress was loaded onto endothelial cells in control group. Changes of microRNAs expression were assessed using high throughput screening chip. The results were verified using quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Bioinformatics analysis was performed in difference-expressed microRNAs. Compared to control group, there were 33 differentially expressed microRNAs in low shear stress group. Among them, 28 microRNAs expression were up-regulated and 5 microRNAs expression were down-regulated. In middle shear stress group, there were 8 differentially expressed microRNAs compared to control group. Among them, 6 microRNAs expression were up-regulated and 2 microRNAs expression were down-regulated. In high shear stress group, there were 31 microRNAs expression changed compared to control

收稿日期: 2015-10-26; **修回日期:** 2016-12-18.

基金项目: 国家自然科学基金项目(81470489); 山东省自然科学基金项目(ZR2014HM098,); 山东省医药卫生科技发展计划项目(2014WS0312, 2014WS0316)。

作者简介: 张燕, 女, 主治医师, 硕士研究生, 研究方向: 动脉粥样硬化机制; E-mail: dzqzhzy@163.com.

*** 通信作者:** 刘振东, 男, 博士, 研究方向: 动脉粥样硬化机制; E-mail: zhendongliu876@126.com.

group. Among them, 25 microRNAs expression were up-regulated and 6 microRNAs expression were down-regulated. MiR-21 was markedly up-regulated in high shear stress group (fold change: 0.026) and significantly down-regulated in low shear stress group (fold change:3.531). MiR-199a was markedly up-regulated in low shear stress group (fold change: 0.075) and significantly down-regulated in high shear stress group (fold change:3.031). The results of bioinformatics analysis showed that target genes of differentially expressed microRNAs related to mechanical signal transduction, cell trans membrane transport, calcium ion signaling pathway, and endocytosis of cells. The change of the expressions of miR-21 and miR-199a were induced by fluid shear stress in endothelial cells.

Keywords: Shear stress; Endothelial cell; MicroRNA; Expression

血管内皮细胞(Endothelial cell, EC)是连接血流和血管壁的重要结构,是血流剪切力(Shear stress, SS)作用的靶细胞,其功能障碍是导致动脉粥样硬化形成的关键因素。研究表明^[1-3],不同梯度的血流剪切力对内皮细胞的影响不同。microRNA 是一类高度保守、内源性非蛋白编码小分子 RNA,参与调节细胞分化、增殖、凋亡、代谢以及多种生物组织生长发育的重要过程^[4],并且在机械生物力调节血管细胞生物学效应中也发挥着不可或缺的作用^[5-6]。但目前,血流剪切力对内皮细胞 microRNA 表达的影响仍不清楚。本研究旨在通过高通量芯片筛选技术,探讨剪切力对内皮细胞 microRNA 表达的影响。

1 材料和方法

1.1 主要材料

人脐静脉内皮细胞(Cascade Biologics 公司), TRIzol 试剂(Invitrogen 公司), microRNA 高通量筛选芯片(Exiqon 公司), microRNA 逆转录试剂盒(Exiqon 公司), miR-21 和 miR-199a PCR 引物(Exiqon 公司), U6 引物(Exiqon 公司), microRNA SYBR Green 实时荧光定量试剂盒(Exiqon 公司)。Res(纯度 99.12%)购于陕西赛德生物股份有限公司, TRIzol 试剂购于 Invitrogen 公司;逆转录试剂盒购于 Promega 公司;小鼠 FITC 标记的抗 CD4、PE 标记的 CD25 抗体购于 eBioscience 公司; mirVanaPARIS 试剂盒购于 Ambion 公司, Quant eDNA 第一链合成试剂盒、RealMasterMix (SYBR Green)等 PCR 相关产品均购自天根特殊化科技有限公司; AG490 购自 Sigma 公司; STAT3 及其磷酸化(Tyr705)抗体(p-STAT3)、 β -tubulin 购于 Bioworld 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

将人脐静脉内皮细胞计数后种植在载玻片上,在含 5% CO₂ 的混合气体,温度为 37℃ 的环境下培

养,长满后用于实验。应用旋转锥形圆盘剪切力系统对培养的内皮细胞分别加载低(4 dyn/cm²)、中(10 dyn/cm²)和高(15 dyn/cm²)3 种不同梯度的剪切力作用 24 h。对照组未加载剪切力作用。

1.2.2 总 RNA 提取

剪切力作用结束后,将收集的细胞用 TRIzol 裂解,冰上静置 5 min 后,加入氯仿,剧烈震荡 15 s, 15~30℃ 下孵育 2~3 min,于 4℃、12 000 g 条件下离心 15 min,将上清移至新的离心管,加入等体积异丙醇并混匀,冰上静置 10 min,4℃、12 000 g 条件下离心 5 min。去上清,沉淀加入 75%乙醇洗涤,漩涡振荡 30 s 后,于 4℃、7 500 r/min 离心 5 min, DEPC (Diethylpyrocar-bonate)水溶解 RNA。凝胶电泳鉴定提取 RNA 的完整性,紫外分光光度仪测定 RNA 的含量和纯度。

1.2.3 microRNA 表达谱检测

采用 Exiqon 公司提供的 microRNA 高通量筛选芯片,并按说明书检测 microRNA 的表达谱,筛选表达差异的 microRNA。1 μ g 总 RNA 用 poly (A) polymerase 和 ATP 作用后, microRNA 被加上 poly (A),按 Flash Tag Biotin HSR Ligation 标记并与芯片杂交,洗脱未杂交的分子后,采用 Affymetrix 扫描仪对芯片进行扫描,生成数据并分析差异表达。差异表达以变化倍数(Fold of change, FC)表示。

1.2.4 microRNA qRT-PCR 验证

选择 miR-21 和 miR-199a 用实时定量 PCR (qRT-PCR) 验证。cDNA 合成操作严格按 microRNA 逆转录试剂盒说明书进行,反应体系为 20 μ l,模板 RNA 为 25 ng。反应条件为:42℃, 60 min; 95℃, 5 min,反应结束后直接用于 PCR 反应或-20℃ 保存备用。qRT-PCR 使用 ABI 7 500 检测系统进行,以 rRNA U6 作为内参。反应体系为 20 μ l,反应条件为:95℃ 预变性 10 min;95℃ 变性 20 s,60℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 30 s,循环 40 次。基因相对表达水平采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算^[7-8],计算公式为: Δ Ct 值=目的基因 Ct 值-内参基因 Ct 值, $\Delta\Delta$ Ct = Δ Ct 实验- Δ Ct 对照。表 1 为相关分析的引物序列。

表 1 microRNA 实时定量 PCR 检测相关引物序列

Table 1 Primer sequence of microRNA used in real-time quantitative polymerase chain reaction

microRNA	引物名称	引物序列
miR-21	逆转录引物	5'-GTC GTA TCC AGT GCA GGG TCC GAG GTA TTC GCA CTG GAT ACG ACT CAA CA-3'
	上游引物	5'-GCC GCG TAG CTT ATC AGA CT-3'
	下游引物	5'-CAG TGC AGG GTC CGA GGT ATT-3'
miR-199a	逆转录引物	5'-TCA ACT GGT GTC GTG GAG TCG GCA ATT CAG TTG AGG AAC AGG T-3'
	上游引物	5'-TCC AGC TGG GCC CAG TGT TCA GAC TAC-3'
	下游引物	5'-GTG TCG TGG AGT CCG CAA TTC-3'
U6	逆转录引物	5'-CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT-3'
	上游引物	5'-GCT TGG GCA GGA CAT ATA CTA AAA T-3'
	下游引物	5'-CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT-3'

1.2.5 microRNA 靶基因预测和富集

采用 miRanda、PicTar、TargetScan 及 miRBase 4 个实时更新的在线数据库联合预测,将其交集的基因集合作进一步分析。采用跨平台芯片与路径数据的综合分析(Integrated analysis of Cross-platform MicroArray and Pathway data, IncroMAP)数据库进行靶基因富集分析[9],以 P < 0.01 为显著性阈值,分别得到具有统计学意义的信号转导和疾病通路。该数据库包含靶基因的生物过程 and 分子功能分析,最新 IncroMAP 数据库可从网址(http://www.ra.cs.uni-tuebingen.de/software/InCroMAP/)免费下载,并附有 Video 使用教程。

1.3 统计学分析

qRT-PCR 检测数据采用 SPSS17.0 软件分析。计量资料以均数±标准差表示,采用 t 检验分析,P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高通量筛选表达差异的 microRNAs

内皮细胞经不同梯度剪切力作用后,与对照组比较,低剪切力组表达差异的 microRNAs 有 33 个(FC>1.5或<0.5倍,P<0.05),其中 28 个上调,5 个下调;中剪切力组表达差异的 microRNAs 有 8 个(FC>1.5 或<0.5 倍,P<0.05),其中 6 个上调,2 个下调;高剪切力组表达差异的 microRNAs 有 31 个(FC>1.5 或<0.5 倍,P<0.05),其中 25 个上调,6 个下调。表 2 为不同剪切力作用的内皮细胞表达差异的 microRNAs。表达差异的 microRNAs 的聚类热图(图 1)也显示出相同的结果,表达程度相似的 microRNA 聚类在一起,从绿色*到红色*表达水平依次增高。其中,miR-21 在高剪切力组中上调最显著(FC = 8.91),在低剪切力组中显著下调(FC=0.47)。miR-199a 在低剪切力组中上调最显著(FC=9.27),在高

剪切力组中显著下调(FC=0.33)。

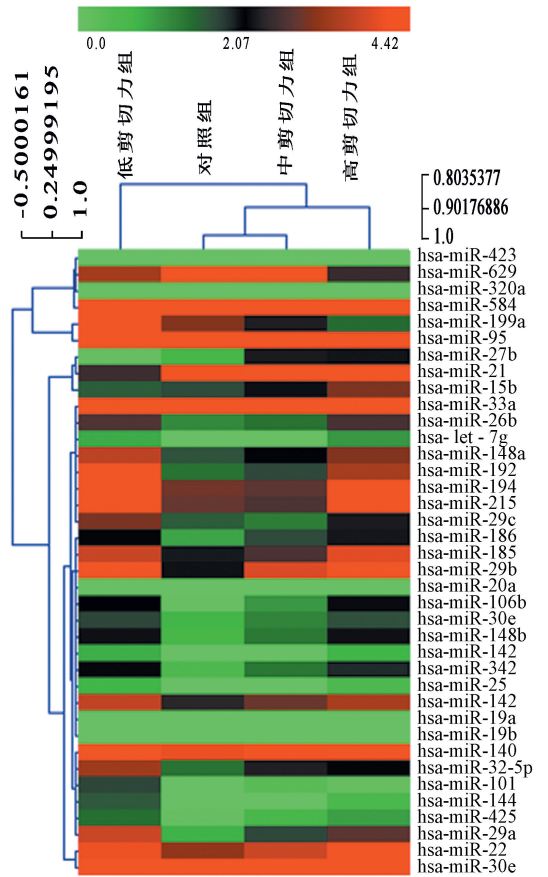


图 1 不同剪切力作用后内皮细胞表达差异的 microRNAs 聚类热图*

Fig. 1 The heat map of differential expressed microRNAs in endothelial cells after effected by different shear stress

注: *彩图见电子版(http://swxxx.alljournals.cn/index.aspx)(2016年第1期)。

2.2 qRT-PCR 鉴定表达差异的 microRNA

选取在低及高剪切力组表达差异最显著的 miR-21和 miR-199a 进行 qRT-PCR 检测。以 rRNA U6 作为内参,对照组及低、中、高剪切力组 miR-21 表达分别为 4.34、2.52、7.69 和 9.58,miR-199a 表达

分别为 3.03、6.76、2.28 和 1.43。与对照组比较,低剪切力组 miR-21 显著下调,miR-199a 显著上调($P < 0.05$);高剪切力组 miR-21 显著上调,miR-199a 显著

下调($P < 0.05$)。图 2 为 miR-21 和 miR-199a 扩增和融解曲线图,图 3 为 miR-21 及 miR-199a qRT-PCR 表达水平。

表 2 3 组内皮细胞表达差异 microRNAs

Table 2 Differential expressed microRNAs in endothelial cells after effected by different shear stress

低剪切力组				中剪切力组			
上调	倍数变化	下调	倍数变化	上调	倍数变化	下调	倍数变化
hsa-miR-185	3.23	hsa-miR-21	0.47	hsa-miR-21	3.03	hsa-miR-199a	0.37
hsa-miR-32-5p	3.71	hsa-miR-423	0.49	hsa-miR-27b	3.04	hsa-miR-584	0.39
hsa-miR-342	3.16	hsa-miR-629	0.35	hsa-miR-29b	3.18		
hsa-miR-194	4.89	hsa-miR-320a	0.40	hsa-miR-101	2.22		
hsa-miR-25	3.20	hsa-miR-584	0.29	hsa-miR-142	2.08		
hsa-miR-33a	4.66			hsa-miR-144	3.41		
hsa-miR-29b	6.48						
hsa-miR-106b	4.11			高剪切力组			
hsa-miR-142	2.36			hsa-miR-27b	2.91	hsa-miR-423	0.38
hsa-miR-30e	2.07			hsa-miR-185	3.86	hsa-miR-629	0.20
hsa-miR-148b	2.89			hsa-miR-21	8.91	hsa-miR-320a	0.31
hsa-miR-20a	3.07			hsa-miR-342	2.73	hsa-miR-199a	0.33
hsa-miR-186	2.25			hsa-miR-194	2.85	hsa-miR-584	0.35
hsa-miR-425	2.53			hsa-miR-25	2.73	hsa-miR-95	0.41
hsa-miR-26b	2.87			hsa-miR-33a	4.11		
hsa-miR-140	2.08			hsa-miR-29b	5.84		
hsa-miR-101	6.06			hsa-miR-106b	3.97		
hsa-miR-215	5.54			hsa-miR-148b	2.89		
hsa-miR-142-5p	6.19			hsa-miR-20a	2.73		
hsa-miR-199a	9.27			hsa-miR-186	2.50		
hsa-miR-19a	4.66			hsa-miR-26b	2.75		
hsa-miR-144	7.78			hsa-miR-215	3.10		
hsa-miR-148a	3.84			hsa-miR-22	4.66		
hsa-miR-192-5p	8.34			hsa-miR-142	5.82		
hsa-miR-29c	2.68			hsa-miR-19a	3.36		
hsa-miR-19b	3.81			hsa-miR-144	5.31		
hsa-miR-95	2.06			hsa-miR-148a	2.60		
hsa-miR-29a	7.73			hsa-miR-192	3.92		
				hsa-let-7g	2.20		
				hsa-miR-15b	2.46		
				hsa-miR-19b	2.77		
				hsa-miR-29a	4.03		
				hsa-miR-30e	3.07		

2.3 microRNAs 靶基因的预测及富集

对在低及高剪切力组内皮细胞表达变化的 39 个 microRNA 的靶基因进行联合预测,结果显示,靶基因数目有 396 个。对预测的靶基因富集后,GO (Gene Ontology) 功能分析表明,这些靶基因与免疫应答、细胞跨膜迁移、力学信号转导等相关。KEGG

(Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 信号通路分析表明,这些信号通路主要与免疫应答(如:PI3K-Akt、细胞受体信号通路)、钙离子信号通路以及细胞内吞作用等相关。表 3 为 has-miR-21 和 has-miR-199a GO 基因功能分析主要结果,表 4 为 has-miR-21 和 has-miR-199a KEGG 信号通路分析主要结果。

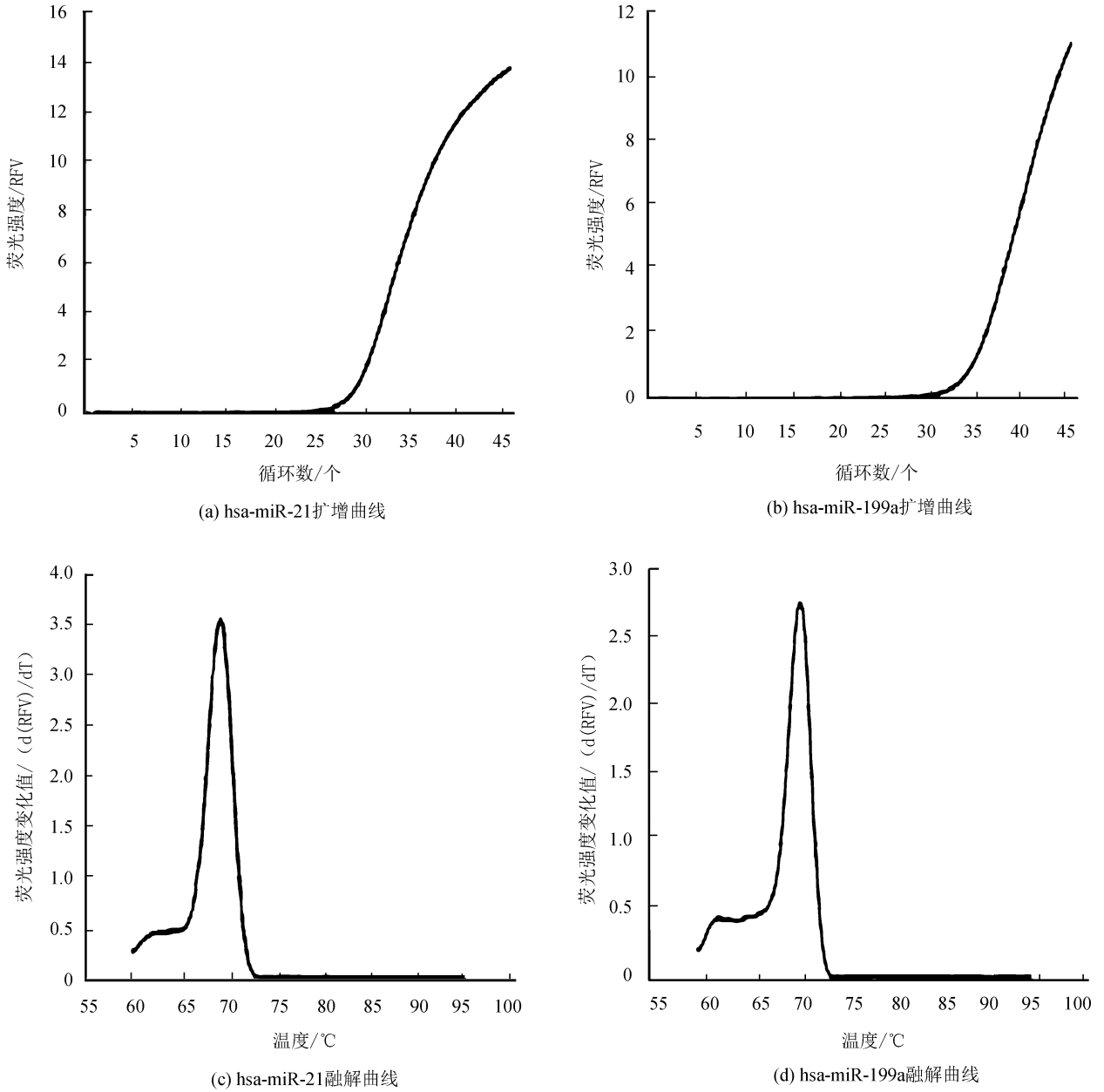


图 2 miR-21 和 miR-199a qRT-PCR 扩增和融解曲线图

Fig. 2 qRT-PCR amplification and melting cures of miR-21 and miR-199a

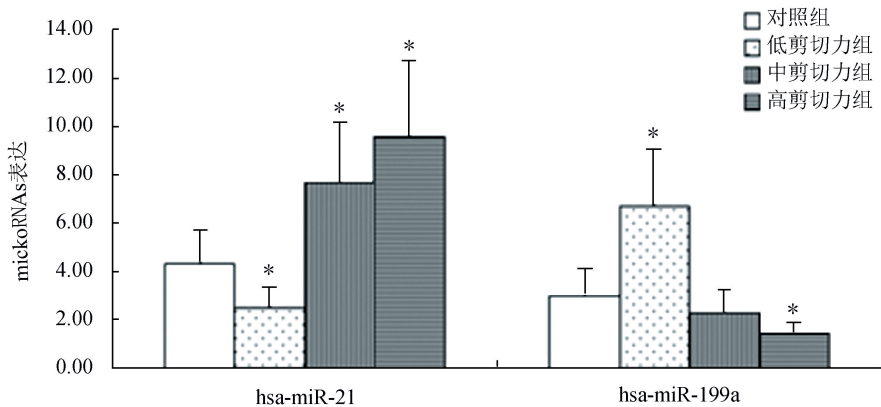


图 3 miR-21 及 miR-199a qRT-PCR 表达水平

Fig. 3 The expression of miR-21 and miR-199a using qRT-PCR

表3 has-miR-21 和 has-miR-199a GO 基因功能分析主要结果

Table 3 Main gene ontology of has-miR-21 and has-miR-199a

has-miR-21				has-miR-199a			
GO 术语	基因个数	所占百分比	P 值	GO 术语	基因个数	所占百分比	P 值
Intracellular non-membrane-bounded organelle	68	17.2	2.46×10^{-5}	Regulation of transcription	65	16.5	1.26×10^{-6}
Regulation of transcription	67	17.0	1.95×10^{-5}	Intracellular non-membrane-bounded organelle	65	16.5	2.59×10^{-4}
Transcription regulator activity	54	13.7	8.77×10^{-5}	Regulation of transcription from RNA polymerase	31	7.8	2.53×10^{-6}
Regulation of transcription, DNA-dependent	39	9.9	1.40×10^{-3}	Cell junction	31	7.8	3.17×10^{-4}
Nucleotide binding	26	6.6	6.52×10^{-4}	Cell fraction	28	7.1	1.27×10^{-2}
Intracellular organelle lumen	26	6.6	4.54×10^{-5}	Plasma membrane part	16	4.1	3.58×10^{-3}
Intracellular signaling cascade	19	4.8	8.06×10^{-3}	Acetylglucosaminy transferase activity	16	4.1	5.44×10^{-3}
ribonucleotid binding	15	3.8	1.63×10^{-2}				
Regulation of RNA metabolic process	14	3.5	1.69×10^{-2}				
Adenyl nucleotide binding	13	3.3	4.22×10^{-2}				
Zinc ion binding	13	3.3	3.93×10^{-5}				

表4 has-miR-21 和 has-miR-199a KEGG 信号通路分析主要结果

Table 4 Main kyoto encyclopedia of genes and genomes signaling pathway of has-miR-21 and has-miR-199a

has-miR-21				has-miR-199a			
通路名称	所占基因数	百分比	P 值	通路名称	所占基因数	百分比	P 值
MAPK signaling pathway	36	9.1	1.50×10^{-7}	Cytokine-cytokine receptor interaction	33	8.3	4.33×10^{-5}
Apoptosis	27	6.8	2.20×10^{-5}	Regulation of actin cytoskeleton	32	8.1	1.69×10^{-4}
Cytokine-cytokine receptor interaction	27	6.8	8.60×10^{-9}	Wnt signaling pathway	24	6.1	1.12×10^{-5}
Wnt signaling pathway	22	5.6	6.53×10^{-7}	mTOR signaling pathway	24	6.1	3.38×10^{-6}
Jak-STST signaling pathway	21	5.3	3.04×10^{-3}	Adherens junction	18	4.5	4.27×10^{-3}
Focal adhesion	19	4.8	5.57×10^{-6}	Insulin signaling pathway	18	4.5	3.41×10^{-3}
mTOR signaling pathway	19	4.8	5.46×10^{-4}	Notch signaling pathway	13	3.3	2.17×10^{-4}
Cell cycle	17	4.3	1.88×10^{-5}	ERBB signaling pathway	13	3.3	2.17×10^{-4}
TGF-beta signaling pathway	15	3.8	3.31×10^{-4}				
P53 signaling pathway	15	3.8	7.80×10^{-3}				
Neurotrophin signaling pathway	12	3.0	4.13×10^{-3}				

3 讨论

研究表明^[5-6], microRNA 在机械生物力调节血管细胞生物学效应中发挥着重要的作用。体外培养的血管内皮细胞在不同剪切力作用下, 其 microRNAs 表达水平具有显著差异, 而这些 microRNAs 在调控内皮细胞的生长周期和凋亡以及调节炎症反应中发挥重要作用^[5-6]。

He 等^[10]研究发现, 在层流剪切力作用下, 阻断 PI3K 信号通路可使 miR-19a 表达下调, 阻断 MAPK 信号通路可下调 miR-23b 和 27b 表达。本研究显

示, 内皮细胞在低剪切力作用后, 有 28 个 microRNA 表达上调, 5 个 microRNA 表达下调; 而在高剪切力作用后, 有 25 个 microRNA 表达上调, 6 个 microRNA 表达下调。选取表达差异显著的 miR-21 和 miR-199a 采用 qRT-PCR 技术验证, 结果也显示, 低剪切力组 miR-21 表达显著下调, miR-199a 表达显著上调; 而高剪切力组 miR-21 表达显著上调, miR-199a 表达显著下调。这表明细胞外的流体剪切力可诱导内皮细胞的 microRNAs 表达发生改变。

microRNAs 表达改变又可导致内皮细胞功能发生变化。Wu 等^[11]研究发现, miR-92a 在剪切力诱导内皮细胞一氧化氮释放增加, 改变内皮细胞功能

过程中发挥重要作用。miR143/145 则在剪切力诱导内皮细胞降低血管紧张素转换酶表达中发挥重要的调控作用^[12]。研究还表明^[13],剪切力还可通过 microRNA 诱导血管内皮细胞的分化,保持不同剪切力作用下内皮细胞的稳态。本研究采用 IncroMAP 对表达差异的 microRNAs 靶基因进行富集分析也发现,这些靶基因与力学信号转导、细胞跨膜迁移、钙离子信号通路、细胞内吞作用以及免疫应答等相关。表明血流剪切可通过 microRNA 诱导内皮细胞功能发生改变。

本研究结果与其他研究者的结果基本一致。结果存在差异的原因可能是对内皮细胞施加的剪切力程度、作用时间不同,而这些条件的不同可能导致 microRNA 表达发生变化,从而导致表达差异的 microRNA 以及靶基因富集分析结果不同。

综上所述,流体剪切力可诱导内皮细胞的 microRNAs 表达谱发生改变,而表达差异的 microRNAs 在剪切力作用下通过其靶基因诱导内皮细胞功能发生改变,这对深入了解剪切力诱导血管内皮依赖性舒缩功能改变,阐明动脉粥样硬化发生发展机制具有重要意义。

参考文献

- [1] CHAI Q, WANG X L, ZELDIN D C, et al. Role of caveolae in shear stress-mediated endothelium-dependent dilation in coronary arteries[J]. Cardiovascular Research, 2013, 100(1): 151-159.
- [2] CHAI Q, LU T, WANG X L, et al. Hydrogen sulfide impairs shear stress-induced vasodilation in mouse coronary arteries[J]. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology, 2015, 467(2): 329-340.
- [3] XU Y P, QI R Q, CHEN W, et al. Aging affects epidermal Langerhans cell development and function and alters their miRNA gene expression profile[J]. Aging, 2012, 4(11): 742-754.
- [4] NETH P, NAZARI-JAHANTIGH M, SCHOBER A, et al. MicroRNAs in flow-dependent vascular remodelling [J]. Cardiovascular Research, 2013, 99(2): 294-303.
- [5] ALEXY T, JAMES A M, SEARIES C D. Shear sensitive microRNAs and atherosclerosis [J]. Biorheology, 2014, 51(2): 147-158.
- [6] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ Method [J]. Method, 2001, 25(4): 402-408.
- [7] 邹阮敏, 胡芝, 陈昊, 等. miR-199a 在宫颈癌及宫颈上皮内瘤样病变中的表达及意义 [J]. 医学研究杂志, 2011, 40(7): 55-59.
ZOU Ruanmin, HU Zhi, CHEN Hao, et al. Clinical significance of miR-199a expression in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia [J]. Journal of Medical Research, 2011, 40(7): 55-59.
- [8] WRZODEK C, EICHNER J, BUCHEL F, et al. IncroMap: integrated analysis of cross-platform MicroArray and Pathway data [J]. Bioinformatics, 2013, 29(4): 506-508.
- [9] HE J, LI Y, YANG X, et al. The feedback regulation of PI3K-miR-19a, and MAPK-miR-23b/27b in endothelial cells under shear stress [J]. Molecules, 2012, 18(1): 1-13.
- [10] WU W, XIAO H, LAGUNA-FERNANDEZ A, et al. Flow-dependent regulation of Kruppel-Like factor 2 is mediated by microRNA-92a [J]. Circulation, 2011, 124(5): 633-641.
- [11] KOHLSTEDT K, TROUVAIN C, BOETTGER T, et al. AMP-activated protein kinase regulates endothelial cell angiotensin-converting enzyme expression via p53 and the post-transcriptional regulation of microRNA-143/145 [J]. Circle Research, 2013, 112(8): 1150-1158.
- [12] CHEN K, FAN W, WANG X, et al. MicroRNA-101 mediates the suppressive effect of laminar shear stress on mTOR expression in vascular endothelial cells [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2012, 427(1): 138-142.