

· 综 述 ·

微小核糖核酸与抗血小板药物反应异质性的相关研究进展

刘军^{1,2}, 尹彤^{1,2*}

(¹ 解放军总医院心血管内科, ² 国家老年疾病临床医学研究中心, 北京 100853)

【摘 要】 抗血小板药物在心脑血管血栓性疾病的防治过程中发挥核心作用,但存在药物反应异质性所致的严重缺血/出血风险。寻找能够预测抗血小板药物反应性个体差异的生物标志物,对于个体化应用抗血小板药物具有重要的临床价值。近年研究发现,血小板富含丰富的微小核糖核酸(microRNA),其中具有调控血小板 P2Y₁₂ 受体编码基因(P2RY12)表达的 microRNA 与 P2Y₁₂ 受体拮抗剂抗血小板反应性的相关性备受关注。本文将针对与抗血小板药物反应性相关的血小板 microRNA 的生物学特征、相关性研究和可能机制作一综述。

【关键词】 微小核糖核酸;抗血小板药物;反应异质性;P2Y₁₂ 受体拮抗剂

【中图分类号】 R973 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2018.12.217

Micro ribonucleic acid in relation to the heterogeneous reactivity of antiplatelet drugs: progress and perspectives

LIU Jun^{1,2}, YIN Tong^{1,2*}

(¹Department of Cardiology, Chinese PLA General Hospital, ²National Clinical Research Center for Geriatric Diseases, Beijing 100853, China)

【Abstract】 Antiplatelet drugs play an established role in the prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular events associated with atherothrombosis, but heterogeneous reactivity poses risks of serious ischemia or bleeding. Finding predictive biomarkers of the heterogeneous reactivity of antiplatelet drugs is of great clinical value for their personalized use. Studies in recent years have found that platelets are a major source of miRNA, and much attention has been attracted to correlation between the platelet miRNA that can potentially regulate the expression of platelet P2Y₁₂ and antiplatelet reactivity of P2Y₁₂ receptor antagonists. This paper reviews the biological characteristic, correlation studies, and possible mechanisms of platelet microRNA in relation to reactivity of antiplatelet drugs.

【Key words】 micro ribonucleic acid; antiplatelet drug; heterogeneity of reactivity; P2Y₁₂ receptor antagonist

This work was supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (30971259), the Natural Science Foundation of Beijing Municipality (7152129), and the Opening Project of National Clinical Research Center for Geriatric Diseases (NCRCG-PLAGH-2017002).

Corresponding author: YIN Tong, E-mail: yintong2000@yahoo.com

血小板在血栓形成和延续的过程中发挥重要作用^[1],血小板异常激活会导致一系列血栓风险事件发生,如脑卒中、心肌梗死等,而血小板功能异常还会导致严重出血。因此,抗血小板药物在心脑血管血栓性疾病的防治过程中发挥核心作用。目前,临床应用的抗血小板药物主要包括阿司匹林和 P2Y₁₂ 受体拮抗剂(如氯吡格雷、替格瑞洛)等。抗血小板药物是一把双刃剑,抗血栓不足会导致严重心脑血管缺血性事件发生,抗血栓过度又会导致严重出血

事件。研究发现,抗血栓不足和过度所导致的严重缺血和出血事件均会导致患者预后不良,并增加死亡事件的发生风险^[2,3]。新型抗血小板药物(如 P2Y₁₂ 受体拮抗剂替格瑞洛)能够提供更快、更强有效的抗栓效果,但由于抗血小板反应性的个体差异,仍有近 10% 的高危患者因高血小板反应性发生严重的心血管事件^[3,4]。因此,如何预测抗血小板药物的抗栓疗效,实现个性化抗血小板药物治疗,一直是心脑血管领域研究的热点和亟待解决的难题。

收稿日期: 2018-05-22; 修回日期: 2018-07-05

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(30971259);北京市自然科学基金(7152129);国家老年疾病临床医学研究中心开放课题(NCRCG-PLAGH-2017002)

通信作者: 尹彤, E-mail: yintong2000@yahoo.com

目前,临床应用的预测抗血小板反应性的方法主要包括血小板功能检测(如光密度比浊法、血栓弹力图等)和药物基因组学检测,但这些方法均有局限性,尚无法充分预测抗血小板药物反应性的差异。血小板是由巨核细胞胞质片段脱落而形成,尽管没有细胞核,但血小板中存在大量微粒,其中包括核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)等物质^[5,6],尤其是存在丰富的微小 RNA(micro ribonucleic acid, microRNA)^[7]。microRNA 是非编码 RNA 家族中的一员,通过影响信使 RNA(messenger ribonucleic acid, mRNA)的稳定性,负性调控 mRNA 转录,对信号通路和细胞间作用发挥调节功能。近年来多项研究显示,血小板 microRNA 与抗血小板药物反应性密切相关,其中包括能够调控 P2Y12 受体编码基因(P2RY12)表达的 miR-223 和 miR-126,此为寻找能够预测抗血小板药物反应性个体差异的生物标志物提供了新的线索。鉴于此,本文将针对血小板 microRNA 与抗血小板药物反应性的相关性进行如下综述。

1 microRNA 在血小板中的表达情况

microRNA 在血小板中表达极为丰富,目前通过各类研究方法(包括芯片筛查、逆转录聚合酶链式

反应等)发现人类血小板中约有 250 ~ 375 种 microRNA^[7,8]。而早在 2011 年, Nagalla 等^[8]对 19 名健康志愿者的外周血进行血小板提纯后,通过芯片分析发现,血小板中总共存在 284 种 microRNA,其中以 miR-223 的含量最为丰富,其次为 miR-126, miR-21, let-7f 等,这与随后的几个研究结果一致^[10]。这些 microRNA 在血小板中发挥着多种功能,包括血小板 mRNA 翻译和表达的调控、血小板反应性的生物标志物、成熟的巨核细胞 microRNA 水平的标志物等^[9,11-13]。

2 血小板 microRNA 与抗血小板药物反应性的相关研究

自从 2009 年 Landry 等^[7]首先报道了血小板中 miR-223 与血小板 P2Y12 受体通路相关后,一系列关于血小板 microRNA 与抗血小板药物反应性之间的关联性和潜在机制的研究开始问世(表 1)。其中,miR-223 和 miR-126 与 P2Y12 受体拮抗剂抗血小板反应性的相关性备受关注。

2.1 miR-223 与抗血小板药物反应异质性的相关性及其作用机制

miR-223 是一类小的非编码 RNA,其编码基因位于 X 染色体的 Q12 基因位点^[14,15]。最初研究发

表 1 血小板 miRNA 与抗血小板药物反应性相关研究
Table 1 Related studies of microRNAs and the heterogeneity of antiplatelet treatment reactivity

Source	Population	Drug	Detection time	Source of microRNA	Type of microRNA	Relationship
Willeit <i>et al</i> ^[12]	Healthy and SCA	Aspirin/clopidogral/prasugrel/dipyridamole	Healthy: after taking prasugrel and aspirin for a week; SCA: after taking aspirin, dipyridamole and clopidogral for 48 h	Plasma	miR-126/223/150/191	NC
Shi <i>et al</i> ^[18]	CAD	Aspirin/clopidogral	After taking aspirin and clopidogral more than 24 h with LD or 5 d with MD	Platelet	miR-223/96	miR-223: NC miR-96: UN
Chyrchel <i>et al</i> ^[20]	CAD	Clopidogral/prasugrel/ticagrelor	Morning on discharge	Plasma	miR-223	NC
Zhang <i>et al</i> ^[21]	CAD	Aspirin/clopidogral	After taking aspirin and clopidogral more than 24 h with LD or 5 d with MD	Plasma	miR-223	NC
Peng <i>et al</i> ^[22]	ACS	Aspirin/clopidogral	After taking aspirin and clopidogral more than 5 d with MD	Platelet	miR-223/221/21	NC
de Boer <i>et al</i> ^[32]	DM2	Aspirin	More than 6 weeks	Plasma	miR-126	PC
Carino <i>et al</i> ^[30]	ACS	Clopidogral/ticagrelor/aspirin	More than 24 h	Plasma	miR-126/223/150/96	miR126/223/150; PC; miR-96; NC
Chen <i>et al</i> ^[37]	CAD	Clopidogral	More than 7 d	Platelet	miR-26a	PC

ACS: acute coronary syndrome; CHD: coronary heart disease; SCA: symptomatic atherosclerosis; CAD: coronary artery disease; DM2: type 2 diabetes mellitus; LD: loading dose; MD: maintaining dose; NC: negative correlation; UN: uncorrelated; PC: positive correlation

现其在造血系统中发挥着重要作用^[16],能够促进粒细胞分化和抑制红系细胞分化^[15,17]。随后研究发现,在血小板和巨核细胞中其表达同样十分丰富,因此在血栓形成过程中可能具有重要的调控作用,其靶向调控位于 X 染色体上的 7 个 mRNA 的表达,包括与编码腺苷二磷酸 (adenosine diphosphate, ADP) 受体 P2Y12 的 mRNA 结合,抑制 P2Y12 受体表达^[18,19]。

由于血小板中的 miR-223-P2Y12 mRNA 通路在血小板功能调控方面具有重要的作用^[7],因此 P2Y12 受体及 miR-223 也成为临床研究的重要分子,特别是 miR-223 与血小板对 P2Y12 受体拮抗剂氯吡格雷反应性的相关研究较多。Willeit 等^[12]首次发现抗血小板治疗能够降低血小板源性 microRNA 的表达,他们通过对 9 名男性健康志愿者进行普拉格雷联合阿司匹林抗血小板药物干预,采用 TaqMan 定制探针,测定血浆中 92 种 microRNA 含量,结果发现,其中包括 miR-223 在内的 8 种 microRNA 发生显著变化。随后,作者选取了 33 例颈动脉粥样硬化患者,其中随机选取 8 例服用阿司匹林联合双嘧达莫,4 例服用阿司匹林+氯吡格雷,其余单用阿司匹林。结果发现,随着抗血小板治疗的加强,血浆中血小板 miR-223 表达降低。国内 Shi 等^[18]对冠心病患者血小板中 microRNA 与氯吡格雷抗血小板反应性的关系进行研究,他们选取了 33 例需行经皮冠状动脉介入术 (percutaneous coronary intervention, PCI) 治疗的冠心病患者,给予 300 mg 负荷剂量的氯吡格雷后,通过血小板反应指数和血小板聚集区别高血小板反应性和低血小板反应性。在提取血小板 microRNA 后,通过聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 观察 2 组 microRNA 的表达差异,结果发现,低表达 miR-223 与氯吡格雷抗血小板反应性减低相关。随后的几项研究也同样证实,血小板 miR-223 的表达水平与抗血小板药物反应性相关。波兰亚捷隆大学开展的一项包括 21 例非 ST 段抬高急性冠脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 患者血浆中 miR-223 表达情况的研究^[20],以及后续一项包括 62 例不稳定心绞痛患者的研究进一步证实,miR-223 具有独立预测氯吡格雷低反应性的能力,并且随着血小板抑制率增高其表达增加^[21]。我们课题组前期研究还发现,在氯吡格雷低反应性 ACS 患者的血小板中,miR-223 比高反应性组表达降低,但是上述相关性仅见于携带 CYP2C19 * 2 的患者中,提示 miR-223 对氯吡格雷抗血小板反应性的影响受氯吡格雷代谢相关基因 CYP2C19 的影响^[22]。

前期研究证实,血小板 P2Y12 受体是 miR-223 的靶点之一,能够调节血小板功能 (包括血小板聚集和颗粒分泌),且能被 ADP 激活,是一类 G 蛋白偶联受体。miR-223 能够稳定地与人类 P2Y12 受体 mRNA 的 3' 非翻译区 (untranslated region, UTR) 端结合,并且血小板 P2Y12 受体 mRNA 能够与 Ago2 形成免疫共沉淀,miR-223 还可调控 P2Y12 受体水平,进而影响血小板功能^[7]。miR-223 降低可能会促进 P2Y12 表达,增加血小板对 ADP 的敏感性。因此,血小板中 miR-223 的降低可用于预测 P2Y12 受体拮抗剂抗血小板的反应性^[18]。如果在新生血小板中上调 miR-223 表达,将会减少 ADP 受体表达,从而维持血小板的稳定状态。而另一项动物实验显示,miR-223 对血小板产生及其功能的影响并不明显^[23]。Leierseder 等^[23]对 miR-223 基因敲除小鼠与野生型小鼠进行对比发现,二者血小板的数量、形态、寿命及血小板表面活性物质均无明显差异。血小板聚合度实验显示,敲除 miR-223 基因并没有对小鼠血凝块回缩速度、血小板聚集等产生影响。原因可能在于 miR-223 基因敲除小鼠的 P2Y12 受体编码基因 P2RY12 mRNA 的 3' UTR 端并没有 miR-223 的结合位点。前期研究显示,miR-223 正是通过结合基因 P2RY12 mRNA 的 3' UTR 端,调控 P2Y12 受体表达,从而影响血小板活性。

miR-223 还可能通过其直接作用于凝血因子相关蛋白,进而导致血小板聚集和血栓风险增加,削弱抗血小板药物的反应性。在条件性敲除 miR-223 基因的小鼠中,凝血酶诱导的血小板聚集增加,大块稳定血栓形成,血块回缩时间延迟,血小板扩散增加,同时血小板之间或者血小板与白细胞之间会自发性聚集。蛋白组学分析显示,上述功能性改变与一系列蛋白表达增加相关,包括 β 1 整合蛋白、kindlin-3 以及凝血因子 XⅢ-A。凝血因子 XⅢ-A 是 miR-223 的直接靶向结合物,参与维持纤维蛋白凝血块的稳定性,延迟血块回缩时间。在 miR-223 敲除小鼠中,血块回缩减弱,但用腐胺抑制凝血因子 XⅢ-A 后,血块回缩正常 (图 1)^[24]。

总之,血小板 miR-223 能够通过靶向结合人类 P2Y12 受体 mRNA 的 3' UTR 端,或者与凝血相关蛋白结合而影响血小板的活性,其中,与 P2Y12 受体结合在血小板活化过程中发挥着重要作用,是多种抗血小板药物的作用靶点。因此,降低血小板 miR-223 的表达可能会引起 P2Y12 受体活性增加,进而引起血小板活性增加。推测降低血小板 miR-223 的表达可能会增加血栓疾病风险,如心肌

梗死等。多项观察性研究也证实降低血小板 miR-223 的表达与 P2Y₁₂ 受体拮抗剂作用减弱相关。

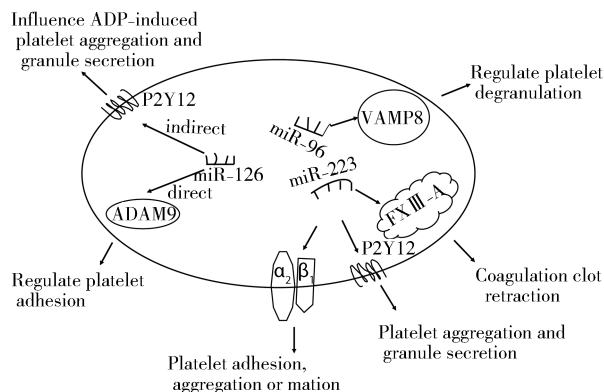


图 1 血小板 microRNA 影响血小板反应性信号通路机制

Figure 1 Signal conduction paths and mechanisms of platelet microRNA influence on platelet reactivity

miR-126 not only regulates the expression of ADAM9, but also targets P2Y₁₂. Confirmed targets of miR-223 include the P2Y₁₂, β_1 integrin and FXIII-A. miR-96 regulates the expression of VAMP8 resulting in altered platelet degranulation

2.2 miR-126 与抗血小板药物反应异质性的相关性及其作用机制

2002 年, Lagos 等^[25]通过测序首次在小鼠的心脏中发现了 miR-126。从动物到人类, miR-126 序列非常保守, 在脊椎动物中, miR-126 来源于编码内皮细胞特异分泌肽的 Eglf7 基因的第 7 个内含子^[26,27], 可以调控新生血管内皮芽细胞的移动和定位^[28]。miR-126 具有内皮细胞特异性, 在内皮细胞中表达异常丰富, 对维持细胞完整性具有重要作用。但循环中的 miR-126 并不完全来源于内皮细胞。巨核细胞同样表达 miR-126, 而循环中的 miR-126 则更多来源于血小板^[12,29]。

Willeit 等^[12]首次发现抗血小板治疗能够降低血小板源性 microRNA 的表达, 其中包括 miR-126。无论在健康人还是颈动脉粥样硬化患者中, 随着抗血小板治疗的加强, 血浆中血小板 miR-126 表达降低。Carino 等^[30]研究发现, 将抗血小板治疗药物从氯吡格雷换成强效抗血小板药物替格瑞洛后, 血浆中的 miR-126 表达水平下降。

一系列研究显示, 血浆中血小板 miR-126 能够作为生物标志物预测 PCI 术后患者心血管不良事件的发生^[31]。但是, 由于抗血小板治疗能够降低血浆中 miR-126 的表达, 因此在以血浆 miR-126 作为冠心病生物标志物时, 应考虑血小板抑制剂如阿司匹

林对其表达的影响^[32]。

前期研究发现, 在小鼠中抑制 miR-126 的表达能够降低花生四烯酸诱导的血小板聚集^[12]。骨髓巨核细胞中含有丰富的 miR-126, miR-126 的过表达能够降低靶基因去整合素样金属蛋白酶 9 (A disintegrin and metalloproteinase domain 9, ADAM9) 的表达, 而 ADAM9 能够降低胶原诱导的血小板聚集^[33]。上述研究证实, miR-126 可能通过直接作用于 ADAM9, 导致血小板聚集功能改变, 进而导致抗血小板药物反应异质性的发生。还有研究发现, 在 miR-126-3p 敲除小鼠的全血中, P2Y₁₂ 受体表达显著降低, 由于 P2Y₁₂ 受体在血小板中的表达远远超过其在白细胞^[34]和红细胞^[35]中的表达, 因此, miR-126 还可能通过间接作用于 P2Y₁₂ 受体的表达, 导致抗血小板药物反应的异质性(图 1)。

总之, 抗血小板治疗能够影响血浆中 miR-126 的表达水平, 随着抗血小板强度的增加, miR-126 的表达水平降低。同时, 血浆 miR-126 还可作为心肌梗死及其他心血管不良事件的生物标志物, 但是需要考虑抗血小板药物的影响。动物实验初步证实, miR-126 对抗血小板药物反应异质性的影响机制可能与其对血小板靶基因 ADAM9 的直接作用和对 P2Y₁₂ 受体的间接作用有关, 但是确切机制仍需进一步探索。

2.3 其他 microRNA 与抗血小板药物反应性的相关研究

除了 miR-223 和 miR-126 以外, 血小板来源的其他 microRNA 也被证实能够与血小板活性相关基因相互作用, 进而影响抗血小板药物的反应性。Kondkar 等^[36]研究证实, 过表达 miR-96 能够通过靶向结合囊泡相关膜蛋白 8 (vesicle-associated membrane protein 8, VAMP8)-mRNA, 抑制血小板活性, 但在氯吡格雷治疗的冠心病患者中, 并没有发现 miR-96 与抗血小板反应性相关^[18]。Chen 等^[37]发现, 血小板中过表达 miR-26a 与 PCI 术后患者氯吡格雷抵抗引起的高血小板反应性相关。Wang 等^[38]发现, miR-31 能够通过抑制血小板活化过程中的重要分子信号血栓素 A₂ (thromboxane A₂, TBXA₂) 受体起到抗血小板作用。本课题组前期研究发现, 在服用氯吡格雷抗血小板治疗的 ACS 患者中, 高血小板反应性组血小板 miR-221 和 miR-21 的表达均显著低于低血小板反应性组, 表明血小板 microRNA 的表达与 ACS 患者氯吡格雷抗血小板疗效相关^[22]。Willeit 等^[12]研究发现, 抗血小板药物能够影响 miR-150 和 miR-191 的表达。

3 展望

在生物学和病理生理学领域,人们对血小板 microRNA 重要性的认识正在逐渐增加,这为血小板 microRNA 的临床转化应用提供了重要的科学依据。越来越多的研究证实,microRNA 的表达量能够反映循环中血小板的反应性。目前对血小板活性的评估主要基于血小板的体外活性检测,因此难以反应体内抗血小板药物的疗效。血小板 microRNA 表达水平的变化能够反应体内抗血小板药物的反应性,未来有必要深入探讨血小板 microRNA 指导下的个体化抗栓治疗是否能够改善临床预后。目前,microRNA 仍需人工提取,因此有必要发展快速提取和监测 microRNA 的手段,加速 microRNA 的临床转化应用。除此之外,由于样本分离及样本组成会对 microRNA 的表达产生影响,因此,有必要对血小板 microRNA 的检测流程进行标准化。随着生物医疗技术的不断进步,相信将来有望通过对血小板 microRNA 的实时监测,实现对抗血小板药物的个体化选择和应用。

【参考文献】

- [1] Gurbel PA, Jeong YH, Navarese EP, *et al.* Platelet-mediated thrombosis: from bench to bedside [J]. *Circ Res*, 2016, 118(9): 1380–1391. DOI: 10.1161/circresaha.115.307016.
- [2] Kang HJ, Clare RM, Gao R, *et al.* Ticagrelor *versus* clopidogrel in Asian patients with acute coronary syndrome: a retrospective analysis from the Platelet Inhibition and Patient Outcomes (PLATO) Trial[J]. *Am Heart J*, 2015, 169(6): 899–905. DOI: 10.1016/j.ahj.2015.03.015.
- [3] Franchi F, Angiolillo DJ. Novel antiplatelet agents in acute coronary syndrome[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(1): 30–47. DOI: 10.1038/nrcardio.2014.156.
- [4] Gurbel PA, Kuliopulos A, Tantry US. G-protein-coupled receptors signaling pathways in new antiplatelet drug development[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(3): 500–512. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303412.
- [5] Kieffer N, Guichard J, Farcet JP, *et al.* Biosynthesis of major platelet proteins in human blood platelets[J]. *Eur J Biochem*, 1987, 164(1): 189–195. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1987.tb11010.x.
- [6] Warshaw AL, Laster L, Shulman NR. Protein synthesis by human platelets[J]. *J Biol Chem*, 1967, 242(9): 2094–2097.
- [7] Landry P, Plante I, Ouellet DL, *et al.* Existence of a microRNA pathway in anucleate platelets[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(9): 961–966. DOI: 10.1038/nsmb.1651.
- [8] Nagalla S, Shaw C, Kong X, *et al.* Platelet microRNA-mRNA coexpression profiles correlate with platelet reactivity[J]. *Blood*, 2011, 117(19): 5189–5197. DOI: 10.1182/blood-2010-

- 09-299719.
- [9] Edelstein LC, McKenzie SE, Shaw C, *et al.* MicroRNAs in platelet production and activation [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11(Suppl 1): 340–350. DOI: 10.1111/jth.12214.
- [10] Pan Y, Liang H, Liu H, *et al.* Platelet-secreted microRNA-223 promotes endothelial cell apoptosis induced by advanced glycation end products *via* targeting the insulin-like growth factor 1 receptor[J]. *J Immunol*, 2014, 192(1): 437–446. DOI: 10.4049/jimmunol.1301790.
- [11] Edelstein LC, Bray PF. MicroRNAs in platelet production and activation[J]. *Blood*, 2011, 117(20): 5289–5296. DOI: 10.1182/blood-2011-01-292011.
- [12] Willeit P, Zampetaki A, Dudek K, *et al.* Circulating microRNAs as novel biomarkers for platelet activation[J]. *Circ Res*, 2013, 112(4): 595–600. DOI: 10.1161/circresaha.111.300539.
- [13] Dangwal S, Thum T. MicroRNAs in platelet biogenesis and function[J]. *Thromb Haemost*, 2012, 108(4): 599–604. DOI: 10.1160/TH12-03-0211.
- [14] Rodriguez AE, Hernandez JA, Benito R, *et al.* Molecular characterization of chronic lymphocytic leukemia patients with a high number of losses in 13q14 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48485. DOI: 10.1371/journal.pone.0048485.
- [15] Johnnidis JB, Harris MH, Wheeler RT, *et al.* Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by microRNA-223[J]. *Nature*, 2008, 451(7182): 1125–1129. DOI: 10.1038/nature06607.
- [16] Sun W, Shen W, Yang S, *et al.* miR-223 and miR-142 attenuate hematopoietic cell proliferation, and miR-223 positively regulates miR-142 through LMO2 isoforms and CEBP-beta[J]. *Cell Res*, 2010, 20(10): 1158–1169. DOI: 10.1038/cr.2010.134.
- [17] Fazi F, Racanicchi S, Zardo G, *et al.* Epigenetic silencing of the myelopoiesis regulator microRNA-223 by the AML1/ETO oncoprotein[J]. *Cancer Cell*, 2007, 12(5): 457–466. DOI: 10.1016/j.ccr.2007.09.020.
- [18] Shi R, Ge L, Zhou X, *et al.* Decreased platelet miR-223 expression is associated with high on-clopidogrel platelet reactivity[J]. *Thromb Res*, 2013, 131(6): 508–513. DOI: 10.1016/j.thromres.2013.02.015.
- [19] Merkerova M, Belickova M, Bruchova H. Differential expression of microRNAs in hematopoietic cell lineages[J]. *Eur J Haematol*, 2008, 81(4): 304–310. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2008.01111.x.
- [20] Chyrchel B, Toton-Zuranska J, Kruszelnicka O, *et al.* Association of plasma miR-223 and platelet reactivity in patients with coronary artery disease on dual antiplatelet therapy: a preliminary report[J]. *Platelets*, 2015, 26(6): 593–597. DOI: 10.3109/09537104.2014.974527.
- [21] Zhang YY, Zhou X, Ji WJ, *et al.* Decreased circulating microRNA-223 level predicts high on-treatment platelet reactivity in patients with troponin-negative non-ST elevation acute coronary syndrome[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2014, 38(1): 65–72. DOI: 10.1007/

- s11239-013-1022-9.
- [22] Peng L, Liu J, Qin L, *et al.* Interaction between platelet-derived microRNAs and CYP2C19 * 2 genotype on clopidogrel antiplatelet responsiveness in patients with ACS [J]. *Thromb Res*, 2017, 157: 97–102. DOI: 10.1016/j.thromres.2017.07.011.
- [23] Leierseder S, Petzold T, Zhang L, *et al.* MiR-223 is dispensable for platelet production and function in mice [J]. *Thromb Haemost*, 2013, 110(6): 1207–1214. DOI: 10.1160/th13-07-0623.
- [24] Elgheznawy A, Shi L, Hu J, *et al.* Dicer cleavage by calpain determines platelet microRNA levels and function in diabetes[J]. *Circ Res*, 2015, 117(2): 157–165. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.305784.
- [25] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, *et al.* Identification of tissue-specific microRNAs from mouse [J]. *Curr Biol*, 2002, 12(9): 735–739. DOI: 10.1016/S0960-9822(02)00809-6.
- [26] Wang S, Aurora AB, Johnson BA, *et al.* The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis[J]. *Dev Cell*, 2008, 15(2): 261–271. DOI: 10.1016/j.devcel.2008.07.002.
- [27] Fish JE, Santoro MM, Morton SU, *et al.* miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity [J]. *Dev Cell*, 2008, 15(2): 272–284. DOI: 10.1016/j.devcel.2008.07.008.
- [28] Campagnolo L, Leahy A, Chitnis S, *et al.* EGFL7 is a chemoattractant for endothelial cells and is up-regulated in angiogenesis and arterial injury[J]. *Am J Pathol*, 2005, 167(1): 275–284. DOI: 10.1016/s0002-9440(10)62972-0.
- [29] Zampetaki A, Willeit P, Burr S, *et al.* Angiogenic microRNAs linked to incidence and progression of diabetic retinopathy in type 1 diabetes[J]. *Diabetes*, 2016, 65(1): 216–227. DOI: 10.2337/db15-0389.
- [30] Carino A, De Rosa S, Sorrentino S, *et al.* Modulation of circulating microRNAs levels during the Switch from clopidogrel to ticagrelor[J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 3968206. DOI: 10.1155/2016/3968206.
- [31] Yu XY, Chen JY, Zheng ZW, *et al.* Plasma miR-126 as a potential marker predicting major adverse cardiac events in dual antiplatelet-treated patients after percutaneous coronary intervention[J]. *Euro Intervention*, 2013, 9(5): 546–554. DOI: 10.4244/eijv9i5a90.
- [32] de Boer HC, van Solingen C, Prins J, *et al.* Aspirin treatment hampers the use of plasma microRNA-126 as a biomarker for the progression of vascular disease[J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(44): 3451–3457. DOI: 10.1093/eurheartj/ehd007.
- [33] Cominetti MR, Martin AC, Ribeiro JU, *et al.* Inhibition of platelets and tumor cell adhesion by the disintegrin domain of human ADAM9 to collagen I under dynamic flow conditions [J]. *Biochimie*, 2009, 91(8): 1045–1052. DOI: 10.1016/j.biochi.2009.05.012.
- [34] Li D, Wang Y, Zhang L, *et al.* Roles of purinergic receptor P2Y₁₂ G protein-coupled 12 in the development of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(8): e81–e89. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.239095.
- [35] Wang L, Olivecrona G, Gotberg M, *et al.* ADP acting on P2Y₁₃ receptors is a negative feedback pathway for ATP release from human red blood cells[J]. *Circ Res*, 2005, 96(2): 189–196. DOI: 10.1161/01.res.0000153670.07559.e4.
- [36] Kondkar AA, Bray MS, Leal SM, *et al.* VAMP8/endobrevin is overexpressed in hyperreactive human platelets; suggested role for platelet microRNA [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(2): 369–378. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03700.x.
- [37] Chen S, Qi X, Chen H, *et al.* Expression of miRNA-26a in platelets is associated with clopidogrel resistance following coronary stenting[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(1): 518–524. DOI: 10.3892/etm.2016.3278.
- [38] Wang HW, Huang TS, Lo HH, *et al.* Deficiency of the microRNA-31-microRNA-720 pathway in the plasma and endothelial progenitor cells from patients with coronary artery disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(4): 857–869. DOI: 10.1161/ATVBAHA.113.303001.

(编辑: 吕青远)