·论　著·

miR-132-3p 与血管内皮细胞凋亡和铁死亡的关系研究

汤珂珂，沃欣欣，高雯洁

【摘要】目的　探讨 miR-132-3p 与血管内皮细胞凋亡和铁死亡之间的内在关联。**方法**　构建血管内皮细胞高糖模型，分析高糖对细胞内 miR-132-3p 表达水平的影响，同时观察该环境下细胞凋亡及铁死亡进程的变化规律。同时将转染 miR-132-3p mimic 的细胞设为 miR-132-3p mimic 组，转染阴性对照序列的细胞设为对照组，观察 miR-132-3p 过表达对细胞凋亡激活及铁死亡的调控作用。**结果**　高糖处理后，血管内皮细胞中 miR-132-3p 表达显著降低，同时细胞凋亡率升高，且铁死亡相关蛋白表达出现特征性改变：铁死亡促进相关蛋白长链脂酰辅酶 A 合成酶 4（ACSL4）、环氧化酶 2（COX2）表达上调，铁死亡抑制相关蛋白铁蛋白重链（FTH）、谷胱甘肽过氧化物酶 4（GPX4）表达下调（均 $P < 0.05$）。与对照组相比，miR-132-3p mimic 组细胞凋亡率下降，ACSL4、COX2 表达下调，FTH、GPX4 表达上调（均 $P < 0.05$）。**结论**　高糖可抑制血管内皮细胞增殖，增加细胞凋亡和铁死亡。miR-132-3p 可调控细胞增殖和凋亡，抑制铁死亡，是高糖相关血管病变的潜在分子治疗靶点。

【关键词】　高糖环境；miR-132-3p；细胞凋亡；铁死亡；血管内皮细胞
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.12.003
【中图分类号】　R587.1　　**【文献标志码】**　A　　**【文章编号】**　1671-0800(2025)12-1219-05

Study on the relationship between miR-132-3p and apoptosis and ferroptosis of vascular endothelial cells

TANG Keke, WO Xinxin, GAO Wenjie (The First Affiliated Hospital of Ningbo Uninversity, Ningbo 315010, Zhejiang, China)

【Abstract】Objective　To clarify the intrinsic association between miR-132-3p and apoptosis and ferroptosis of vascular endothelial cells. **Methods**　A high glucose model of vascular endothelial cells was established to analyze the effect of high glucose on the expression level of miR-132-3p in cells, and to explore the variation rules of cell proliferation, apoptosis and ferroptosis processes. Meanwhile, miR-132-3p mimic was transfected to overexpress miR-132-3p in cells (miR-132-3p group), the negative control sequence was transfected as the control group. The regulatory effects of miR-132-3p overexpression were observed on cell proliferation inhibition, apoptosis activation and ferroptosis. **Results**　After high glucose treatment, the expression of miR-132-3p in vascular endothelial cells was significantly decreased, while the cell apoptosis rate was increased. The expression of ferroptosis-promoting proteins, including long-chain acyl-CoA synthetase 4 (ACSL4) and cyclooxygenase 2 (COX2), were upregulated; while the expression of ferroptosis-inhibiting proteins, such as ferritin heavy chain (FTH) and glutathione peroxidase 4 (GPX4), were downregulated(all $P < 0.05$). Compared with the control group, the cell apoptosis rate was decreased, the expression of ACSL4, COX2 were downregulated, and the expression of FTH, GPX4 were upregulated in miR-132-3p mimic group (all $P < 0.05$). **Conclusions**　High glucose can suppress the proliferation of vascular endothelial cells and increase both apoptosis and ferroptosis. MiR-132-3p can regulate cell proliferation and apoptosis, and inhibit ferroptosis. It is a potential molecular target for high glucose-related vascular diseases.

【Key words】　High glucose environment; miR-132-3p; Cell apoptosis; Ferroptosis; Vascular endothelial cells
[Modern Practical Medicine,2025,37(12):1219-1223]

2 型糖尿病（type 2 diabetes mellitus，T2DM）是遗传易感性与环境风险因素共同作用引发的慢性代谢性疾病[1]。当前临床常用的干预手段仅能延缓疾病进展，无法根治，且长期高糖环境易诱发血管内皮

基金项目：　浙江省医药卫生科技计划项目（2023KY285）
作者单位：　315010 宁波，宁波大学附属第一医院
通信作者：　汤珂珂，Email：lcyxtkk@126.com

损伤，进而导致多种糖尿病并发症。因此，深入解析高糖相关病理损伤的分子机制，对开发新型靶向治疗药物至关重要。

铁死亡是一种以线粒体皱缩、脂质过氧化升高为特征的新型程序性死亡方式[4]。多项研究提示，T2DM 的发病进程与体内铁代谢失衡密切相关，过量游离铁离子可诱导细胞铁死亡[2-3]。有研究发现，铁死亡调节剂可显著影响胰岛β细胞的胰岛素分泌功能[5]，这提示调控铁死亡相关通路可能是 T2DM 防治的关键靶点。

MiR-132-3p 是与代谢性疾病密切相关的非编码 RNA[6]，其在 T2DM 动物模型病变组织及高糖处理的血管内皮细胞中表达显著下调[7]。但 miR-132-3p 是否通过调控铁死亡通路影响 T2DM 相关细胞损伤尚未明确。本研究拟构建血管内皮细胞高糖损伤模型，探究 miR-132-3p 对细胞增殖、凋亡及铁死亡的调控作用，旨在揭示高糖诱导血管内皮细胞损伤的新分子机制，为 T2DM 血管并发症的防治提供潜在干预靶点，现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 人脐静脉内皮细胞（HUVEC），环氧化酶 2（cyclooxygenase 2，COX2）（abcam，批号：ab179800），长链脂酰辅酶 A 合成酶 4（long-chain acyl-CoA synthetase 4，ACSL4）（abcam，批号：ab155282），铁死亡抑制相关蛋白铁蛋白重链（ferritin heavy chain，FTH）（abcam，批号：ab75972），谷胱甘肽过氧化物酶 4（glutathione peroxidase 4，GPX4）（abcam，批号：ab125066），3-磷酸甘油醛脱氢酶（Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase，GAPDH）（Affinity，批号：AF7021），Goat Anti-Rabbit（Affinity，批号：S0001），Trizol（Sigma，批号：T9424-100m），凋亡试剂盒（eBioscience，批号：88-8007），BCA 蛋白测定试剂盒（HyClone-Pierce，批号：23225），预染色蛋白标志物（Thermo，批号：26615/26617），Immobilon Western 化学发光 HRP 底物（Millipore，批号：RPN2232）。分光光度计（Thermo，Nanodrop 2000/2000C），稳定电泳仪（上海天能，EPS-300），SDS-Acryl/Bis 蛋白电泳仪（上海天能，VE-180），蛋白转膜仪（上海天能，VE-186），5417R 台式冷冻高速离心机（Eppendorf 公司，5417R），化学发光成像系统（GE，AI600），流式细胞仪（Millipore，Guava easyCyte HT），荧光显微镜（Olympus，IX71），生物安全柜（上海振样创空气净化设备公司，Bio-1200-II-A2），实时 PCR 仪（ABI，VII7）。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和分组 HUVEC 来源于中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所，在常规培养基和高糖培养基（D-葡萄糖 25 mmol/L）中培养，每 2 ～ 3 天换液 1 次，取对数生长期的细胞用于实验。常规培养基细胞为正常对照组（NC 组），高糖培养基细胞为高糖处理组（HG 组）；转染 miR-132-3p mimic 的细胞为 miR-132-3p mimic 组，转染阴性对照序列的细胞为对照组。

1.2.2 miR-132-3p mimics 制备 准备模板 RNA：mimics RNA（模板）：5’-UAACAGUCUACAGCCAUGGUCG-3’；antisense RNA（反义 RNA）：5’-ACCAUGGCUGUAGACUGUUAUU-3’。使用探针式杂交法将 antisense RNA 加入到含有 mimics RNA 的环境中，利用探针技术进行杂交。将制备得到的 miRNA 模型 RNA 用于后续实验。

1.2.3 细胞转染 将细胞转入到 6 孔板中，37 ℃、5% CO_2 培养箱培养至细胞长到 60%～ 80%时进行转染。转染复合物按如下制备并混合：取 9 μl Lipofectamine®RNAiMAX Reagent 加入到 150 μl Opti-MEM®（Gibco）（A 液）；3 μl miR-132-3p mimics（10 μmol/L）加入到 150 μl Opti-MEM®（B 液）；再将 A、B 液 1∶1 混合。室温静置 20 min 后，取 300 μl 加入每孔细胞，转染 6 h 后更换为完全培养基，继续培养 24 ～ 72 h 收样检测。

1.2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡 待各组细胞生长至覆盖率约为 70%时，收集细胞。在半径 20 cm 的离心机中，1 300 r/min 离心 5 min，弃上清，4 ℃预冷的 D-Hanks（pH 7.2 ～ 7.4）洗涤细胞沉淀。1×binding buffer 缓冲液洗涤细胞沉淀 1 次，1 300 r/min 离心 3 min，收集细胞。200 μl 1×binding buffer 缓冲液重悬细胞沉淀。加入 10 μl Annexin V-APC 染色，室温避光 10 ～ 15 min。根据细胞量，补加 400 ～ 800 μl 1×binding buffer 缓冲液，上机检测。

1.2.5 Western Blot 检测铁死亡相关蛋白 从裂解

的细胞中提取总蛋白。使用 SDS PAGE（10%）分离 20 μg 蛋白样品，随后将其转移到聚偏二氟乙烯膜上。用 TBST 中的 5%脱脂乳封闭膜 1 h，并与一抗在 4 ℃下孵育过夜。洗涤后，在室温下将膜与二抗孵育 1 h。使用增强的化学发光检测系统检测蛋白质信号传导，FTH1、COX2、GPX4、ACSL4 和 GAPDH 抗体的稀释比为 1∶2 000、1∶2 000、1∶2 000、1∶5 000 和 1∶5 000；山羊抗兔二抗（Affinity）的稀释比为 1∶3 000。

1.2.6　实时定量 PCR 检测　用 TRIzol 提取转染后的靶细胞总 RNA，紫外分析确定 RNA 浓度，反转录成 cDNA，进行 RT PCR 预实验，确定最佳引物退火温度和模板量，用 Axygen 试剂盒制备 PCR 混合液，离心。将上述样本置于 IQ5 荧光定量 PCR 仪中，采用 SYBR 绿色荧光定量 PCR 方法分析各基因的表达，miRNA 逆转录引物和 qPCR 引物的设计见表 1。

1.3　统计方法　使用 SPSS 19.0 软件进行统计分析，计量资料以均数±标准差表示，两组比较采用 t 检验。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　高糖环境对血管内皮细胞凋亡的影响　HG 组的早期细胞凋亡率[（5.56±0.15）%]显著高于 NC 组[（3.63±0.09）%]，差异有统计学意义（t=18.56，$P < 0.05$）；HG 组的晚期细胞凋亡率[（6.49±0.03）%]显著高于 NC 组[（3.31±0.15）%]，差异有统计学意义（t=36.14，$P < 0.05$）。见图 1。

2.2　高糖环境对细胞铁死亡的影响　与 NC 组相比，HG 组细胞中铁死亡促进相关蛋白 ACSL4、COX2 的表达水平显著上调（t=357.16、387.56，均 $P < 0.05$），而铁死亡抑制相关蛋白 FTH1、GPX4 的表达水平显著下调（t=219.50、348.85，均 $P < 0.05$），见图 2。

2.3　高糖环境对 miR-132-3p 表达的影响　相对于 NC 组，HG 组 miR-132-3p 的表达明显降低（t=25.32，$P < 0.05$），见图 3。

2.4　miR-132-3p 过表达对细胞凋亡的影响　miR-132-3p mimic 组 miR-132-3p 的表达水平显著高于对照组，提示转染成功。miR-132-3p mimic 组的早期细胞凋亡率[（2.66±0.19）%]显著低于对照组[（3.30±0.12）%]，差异有统计学意义（t=5.00，$P < 0.05$）；miR-132-3p mimic 组的晚期细胞凋亡率[（2.64±0.02）%]显著低于对照组[（3.22±0.09）%]，差异有统计学意义（t=11.42，$P < 0.05$），见图 4。

2.5　miR-132-3p 过表达对细胞铁死亡的影响　miR-132-3p mimic 组中铁死亡促进相关蛋白 ACSL4 和 COX2 表达显著下调（t=563.73、543.34，均 $P < 0.05$），而铁死亡抑制相关蛋白 FTH1 和 GPX4 表达显著上调（t=43.31、175.48，均 $P < 0.05$），见图 5。

3　讨论

糖尿病是全球高负担的慢性非传染性疾病[8]，

表 1　miRNA 逆转录和 qPCR 的引物序列

基因		引物序列（5’→3’）
miR-132-3p	F	ACACTCCAGCTGGGTAACAGTCTACAG
	R	CTCAACTGGTGTCGTGGA
GAPDH	F	TGACTTCAACAGCGACACCCA
	R	CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA
U6	F	AAAGCAAATCATCGGACGACC
	R	GTACAACACATTGTTTCCTCGGA

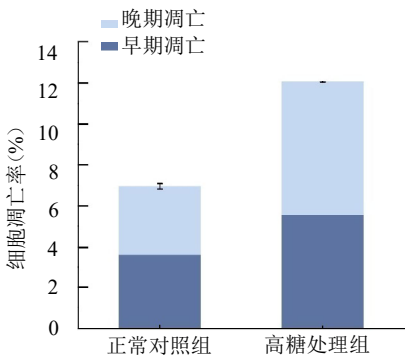
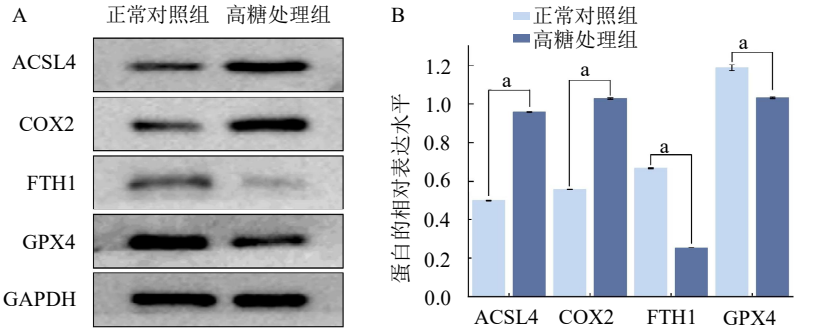


图 1　流式细胞检测细胞的凋亡情况

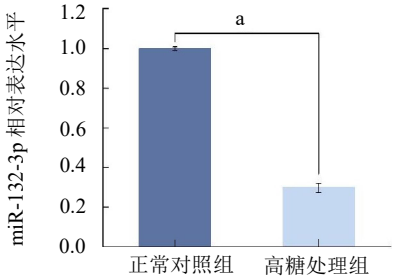


注：A 为两组 ACSL4、COX2、FTH1、GPX4 蛋白的 WB 检测结果（GAPDH 为内参）；B 为两组 ACSL4、COX2、FTH1、GPX4 蛋白相对表达量的定量分析，与正常对照组相比，a$P < 0.05$。COX2 为环氧化酶 2，ACSL4 为长链脂酰辅酶 A 合成酶 4，FTH 为铁死亡抑制相关蛋白铁蛋白重链，GPX4 为谷胱甘肽过氧化物酶 4

图 2　两组细胞铁死亡相关蛋白的表达

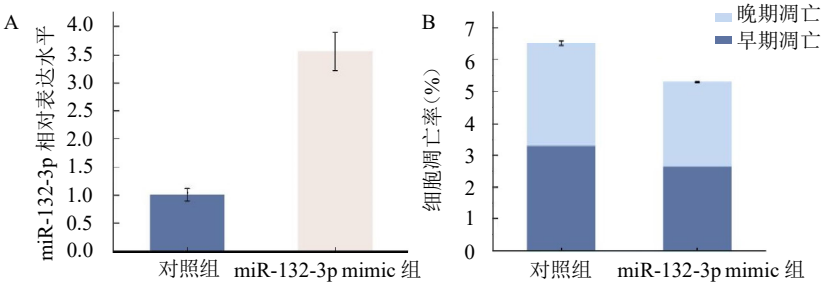
长期高血糖会引发机体血管损伤，导致糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变等多种并发症，其机制与多元醇途径异常等相关。而氧化应激是核心介导因素[9]，可诱发细胞凋亡、铁死亡等程序性死亡[10]，且两者异常调控与心血管疾病密切相关[11]。细胞凋亡的核心调控分子（Bcl-2 家族成员）被发现可通过 Nrf2/GPX4 信号通路参与铁死亡调控，且在特定条件下可介导细胞凋亡向铁死亡转化。研究发现[12]，铁死亡相关蛋白和坏死性凋亡相关蛋白中存在两种共有蛋白。但目前这两类程序性死亡之间的具体关联及调控机制仍不明确，高糖环境对其影响的研究仍较为有限。因此，本研究通过体外模拟高糖环境，探索高糖对血管内皮细胞存活及死亡方式的影响。结果显示，与 NC 组相比，HG 组的血管内皮细胞凋亡比例明显升高；HG 组中铁死亡促进相关蛋白（ACSL4、COX2）的表达水平显著上调，而铁死亡抑制相关蛋白（FTH、GPX4）的表达水平则显著下调。GPX4 可能通过中和脂质过氧化物酶来保护细胞，抑制 GPX4 可诱导铁死亡。据此推测，高糖环境可能通过增强细胞氧化应激，既抑制血管内皮细胞增殖，又促进细胞铁死亡的发生。但高糖调控氧化应激-铁死亡轴及凋亡调控分子的具体作用机制仍需进一步深入研究。

MicroRNA 通过调控靶基因表达、参与信号通路传导等发挥生物学效应。在代谢性疾病领域，miR-132-3p 已被证实与 T2DM、肥胖症等相关[13-14]，且其表达及功能具有细胞类型特异性：在肥胖高血糖小鼠体内表达下调，可能正向调控胰岛α细胞[15]；而在糖尿病小鼠胰岛β细胞中上调，可促进细胞增殖及胰岛素分泌[7]。鉴于血管内皮细胞损伤是糖尿病血管并发症的核心病理基础，本研究通过体外构建高糖处理模型，探究高糖环境对血管内皮细胞中 miR-132-3p 表达的影响。结果显示，HG 组血管内



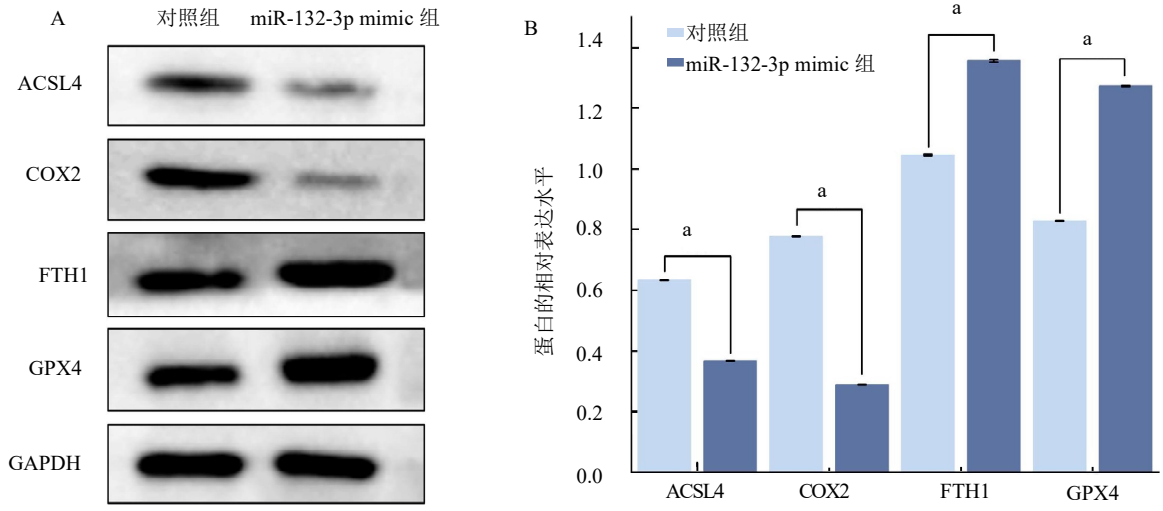
注：与正常对照组相比，a$P < 0.05$

图 3　两组 miR-132-3p 的表达水平比较



注：A 显示 miR-132-3p mimic 组 miR-132-3p 的表达水平显著高于对照组，提示转染成功；B 显示 miR-132-3p mimic 转染组细胞凋亡比例显著低于对照组

图 4　miR-132-3p 转染及过表达细胞的凋亡情况



注：A 为 miR-132-3p mimic 组与对照组中 ACSL4、COX2、FTH1、GPX4 蛋白的 WB 检测结果（GAPDH 为内参）；B 为 miR-132-3p mimic 组与对照组中 ACSL4、COX2、FTH1、GPX4 蛋白相对表达量的定量分析，与对照组相比，a$P < 0.05$。COX2 为环氧化酶 2，ACSL4 为长链脂酰辅酶 A 合成酶 4，FTH 为铁死亡抑制相关蛋白铁蛋白重链，GPX4 为谷胱甘肽过氧化物酶 4

图 5　miR-132-3p 过表达后铁死亡相关蛋白的表达

皮细胞中 miR-132-3p 的表达水平显著低于 NC 组。多项研究证实 miR-132-3p 与细胞增殖、凋亡过程密切相关，miR-132-3p 的下调可显著促进癌细胞的迁移与增殖[16-17]。本研究的进一步干预实验也反向证实上述结论，miR-132-3p 过表达可以下调铁死亡促进蛋白 ACSL4、COX2，上调铁死亡抑制蛋白 FTH1、GPX4，抑制细胞凋亡的发生。已有研究发现，miR-132-3p 通过靶向 SLC25A28 调控铁死亡，抑制 HUVEC 的内皮间质转化进程，发挥抗新生血管作用[18]。因此推测，miR-132-3p 过表达可能通过靶向 SLC25A28 调控铁死亡通路，减少脂质过氧化及线粒体损伤，进而抑制凋亡。笔者后续将通过铁死亡诱导剂 Erastin 进行干预实验，进一步验证三者之间的因果关系。

综上所述，高糖可抑制血管内皮细胞增殖，增加细胞凋亡和铁死亡，而 miR-132-3p 过表达能够通过抑制细胞凋亡与铁死亡保护内皮细胞，为糖尿病血管并发症的防治提供了新的作用靶点。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明　汤珂珂：研究指导，论文撰写；沃欣欣：实验操作、数据整理；高雯洁：统计分析

参 考 文 献

[1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南（2020 年版）[J]. 中华糖尿病杂志,2021,13(4):315-409.

[4] KONG Y H, HSIEH C H, ALONSO L C. ANRIL: A lncRNA at the CDKN2A/B locus with roles in cancer and metabolic disease[J]. Front Endocrinol, 2018, 9: 405.

[2] 阮舒.2 型糖尿病患者铁代谢与胰岛功能的相关性分析[J].糖尿病新世界,2021,24(14):25-28.

[3] 赵成玉,周娟.藏族 2 型糖尿病患者血清铁和铁蛋白的变化及其与胰岛素抵抗的相关性[J].中国老年学杂志,2018,38(16):3846-3849.

[5] 孙玥.二甲双胍通过抑制铁死亡改善 2 型糖尿病胰岛β细胞损伤的作用研究[D].芜湖:皖南医学院,2023.

[6] ASSMANN T S, MILAGRO F I, MARTINEZ J A. Crosstalk between microRNAs, the putative target genes and the lncRNA network in metabolic diseases[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(4): 3543-3554.

[7] HULSHOFF M S, SCHELLINGER I N, XU X B, et al. miR-132-3p and KLF7 as novel regulators of aortic stiffening-associated EndMT in type 2 diabetes mellitus[J]. Diabetol Metab Syndr, 2023, 15(1): 11.

[8] GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories,1990－2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. Lancet, 2020, 396(10258): 1204-1222.

[9] WANG J J, WANG H J. Oxidative stress in pancreatic beta cell regeneration[J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 1930261.

[10] 裴珍珍,张珊,周扬,等.糖尿病肾脏疾病发生发展中程序性细胞死亡作用机制的研究[J].中国糖尿病杂志,2025,33(1):28-35.

[11] HU H L, CHEN Y Q, JING L L, et al. The link between ferroptosis and cardiovascular diseases: A novel target for treatment[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 710963.

[12] UYY E, SUICA V I, BOTEANU R M, et al. Regulated cell death joins in atherosclerotic plaque silent progression[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 2814.

[13] GOTTMANN P, OUNI M, SAUSSENTHALER S, et al. A computational biology approach of a genome-wide screen connected miRNAs to obesity and type 2 diabetes[J]. Mol Metab, 2018, 11: 145-159.

[14] 周先炎, 牛耕, 陶录岭. 黄连素对糖尿病脑病患者 miR-132-3p、miR-137 表达及胰岛素抵抗的影响[J]. 吉林中医药,2024,44(8):941-945.

[15] DUSAULCY R, HANDGRAAF S, VISENTIN F, et al. miR-132-3p is a positive regulator of alpha-cell mass and is downregulated in obese hyperglycemic mice[J]. Mol Metab, 2019, 22: 84-95.

[16] GUAN H Y, SHANG G W, CUI Y B, et al. Long noncoding RNA APTR contributes to osteosarcoma progression through repression of miR-132-3p and upregulation of yes-associated protein 1[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(6): 8998-9007.

[17] ZHANG M B, LI Y, WANG H B, et al. LncRNA SNHG5 affects cell proliferation, metastasis and migration of colorectal cancer through regulating miR-132-3p/CREB5[J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(4): 524-536.

[18] 胡竞捷.M1 巨噬细胞来源的外泌体对角膜新生血管的抑制作用及其机制研究[D].武汉:华中科技大学,2023.

收稿日期：2025-09-21

（本文编辑：孙海儿）