

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.09.008

MiR-145 在低氧诱导的心肌细胞中的表达及其作用研究*

王文光¹ 李 猛^{1Δ} 王晓敏² 宋秀荣¹ 王义华¹ 马 双¹ 金 慧^{1Δ}

(1 包头市中心医院心内科 内蒙古 包头 014040; 2 包头市中心医院医学转化中心 内蒙古 包头 014040)

摘要 目的:探讨 MiR-145 在低氧诱导的心肌细胞凋亡模型中的表达及其意义。**方法:**在正常和低氧条件下,采用 RT-qPCR 检测乳大鼠原代心肌细胞 miR-145 的表达,进一步采用 miR-145 抑制剂和模拟物处理心肌细胞,将细胞置于 37 °C 密闭的缺氧盒中(95% N₂ 和 5% CO₂)培养,采用 Caspase-3 活性分析和 TUNEL 检测心肌细胞凋亡情况。通过结扎 SD 大鼠冠状动脉左前降支(LAD)建立心肌缺血再灌注(I/R)模型,了解 miR-145 在缺血再灌注损伤中的作用。**结果:**miR-145 过表达可抑制缺氧诱导的心肌细胞凋亡。转染 miR-145 抑制剂后,细胞对缺氧更敏感。缺血 0.5h、1h 和 3h 的心肌组织中 miR-145 的表达明显低于周围非缺血心肌组织。缺氧 3h、6h、12h 时 miR-145 水平明显下调。在缺血再灌注损伤模型中,mimic 组 MiR-145 表达明显高于对照组,而凋亡细胞(%)和梗死面积危险区(%)明显低于对照组。**结论:**MiR-145 可以抑制缺氧诱导的心肌细胞凋亡,减小缺血再灌注损伤导致的心肌梗死面积。

关键词:miRNA-145; 心肌细胞; 缺氧; 凋亡

中图分类号:R-33; R329.25; R542.22 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)09-1642-06

Expression and Effect of miR-145 in the Apoptotic Neonatal Rat Cardiomyocytes Induced by Hypoxia*

WANG Wen-guang¹, LI Meng^{1Δ}, WANG Xiao-min², SONG Xiu-rong¹, WANG Yi-hua¹, MA Shuang¹, JIN Hui^{1Δ}

(1 Department of Cardiology, Baotou Central Hospital, Baotou, Inner Mongolia, 014040, China;

2 Translational Medicine Center, Baotou Central Hospital, Baotou, Inner Mongolia, 014040, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and clinical significance of microRNA-145 (miR-145) in the apoptosis model of cardiomyocytes induced by hypoxia. **Methods:** Under normal and hypoxic conditions, the expression of miR-145 in neonatal rat cardiomyocytes was detected by RT-qPCR. miR-145 inhibitor and mimic were transfected into the primary neonatal rat cardiomyocytes. The transfected cardiomyocytes were cultured in closed anoxic box (95% N₂ and 5% CO₂) at 37 °C. Ischemiareperfusion (I/R) of animal model was established by left anterior descending coronary artery (LAD). **Results:** Overexpression of miR-145 can inhibit hypoxia-induced cardiomyocyte apoptosis. The cells were more sensitive to hypoxia after transfection with miR-145 inhibitor. The levels of miR-145 in ischemic myocardium tissue were significantly lower than the surrounding non-ischemic myocardium tissue at 0.5 h, 1 h and 3 h after ischemia. The levels of miR-145 were significantly down-regulated at 3 h, 6 h, and 12 h of hypoxia. MiR-145 in mimic group was significantly higher than that of the control group, while apoptotic cells (%) and infarct size/area at risk (%) were significantly lower than that of the control group. **Conclusions:** MiR-145 can inhibit hypoxia-induced myocardial cell apoptosis and reduce the myocardial infarction area caused by ischemia reperfusion injury.

Key words: miRNA-145; Cardiomyocytes; Hypoxia; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R329.25; R542.22 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)09-1642-06

前言

心肌梗死目前世界范围内严重威胁人类健康的危重症,致死、致残率高。在急性期及早开通闭塞的冠状动脉血管并及时恢复冠状动脉血流是目前国际公认的有效改善心肌梗死预后的方法,但缺血再灌注损伤也是早期开通冠状动脉血管过程中不可避免的问题。研究表明长时间缺血和缺血再灌注后,大量心肌细胞发生凋亡^[1,2]。MicroRNAs(miRNA)是一种小的非编码

RNA(18-22nt),在负向调控基因表达降解或翻译抑制中发挥作用^[3],研究表明 miRNAs 参与心肌细胞凋亡等心脏方面多个临床病理生理过程,特别是在在缺血/再灌注(I/R)损伤和心力衰竭方面,miRNA 可能会为心脏保护提供全新的策略^[4]。

miRNA-145(miR-145)是血管平滑肌中最丰富的 miRNA^[5],在卵巢、子宫、脾脏、心脏、睾丸和前列腺等中胚层来源的组织 and 生殖系中高表达,是一种肿瘤抑制 miRNA,通过其靶向调节多种抗凋亡分子的能力,识别并调控肿瘤细胞内广泛的凋亡网

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81860447)

作者简介:王文光(1963-),男,本科,主任医师,从事心血管病临床诊疗,电话:13704736669

Δ 通讯作者:李猛,男,博士研究生,副主任医师,从事心血管介入诊疗及危重症治疗,E-mail:lim331@163.com;

金慧,女,本科,副主任医师,从事心血管临床诊疗工作,E-mail:baotougzg@163.com

(收稿日期:2019-11-03 接受日期:2019-11-25)

络^[6,7]。前期研究显示 miRNA-145 可通过靶向调节线粒体凋亡途径保护心肌细胞免受过氧化氢诱导的细胞凋亡^[8],通过靶向调节 Krüppel 样因子 4(KLF4)参与保护免受氧化应激诱导的细胞凋亡^[9]。然而,miR-145 是否参与缺血再灌注导致的心肌细胞凋亡尚不明确。因此,本研究通过建立低氧诱导的原代心肌细胞凋亡的模型,探讨了 miR145 的表达情况及在心肌缺血再灌注损伤过程中的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,严格按照室温 22℃-25℃、光照周期为光照/黑暗各 12 小时,室内相对湿度为 45%-50%,使用标准饮食及自来水,均自由摄取食物和饮水。在饲养室环境下适应性饲养 1 周后用于实验。

1.2 RNA 提取与荧光定量 PCR

用英杰的 trizol 提取 RNA(Invitrogen, Carlsbad, CA),并用伯乐(a Biorad Biosystems)的 qRT-PCR 试剂对提取样品中的成熟形式的 miRNA 进行分析(茎环 qRT-PCR)。使用反转录酶(Takara Biomedical Technology, Dalian, China)对 RNA 和 SYBP 试剂进行反转录和 miR-145 检测。

miR-145 的检测:5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAG-GTATTCGCACTGGATACGACAGGGAT-3',正反向扩增引物是 5'-CGCGTCCAGTTTCCAGGA-3',5'-GTGCAGGGTCCGAGGTATT-3'。RNU6B(Applied Biosystems)作为系统内参,进行样品间的 miR-145 水平的标准化。RNU6B 的正反向扩增引物是 5'-GCTTCGCGCAGCACATATACTAA-3',5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。

1.3 缺血及缺血再灌注动物模型

麻醉 200-250g 雄性 SD 大鼠,气道插管并匹配呼吸机。切开左胸廓暴露心脏,用 6-0 缝合线结扎冠脉左前降支,建立缺血模型。分别在结扎 30 分钟,1 小时和 3 小时取缺血的心肌组织进行 miR-145 的检测。人工合成 miR145 模拟物(5'-GUCCAGUUUCCCCAGGAAUCCCU-3',内参对照序列为 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3')。以 10 mg/kg 的剂量连续三天静脉注射 miR-145,用相似的方法和 6-0 的缝合线建立 SD 大鼠的缺血再灌注模型,注射大鼠结扎前降支缺血 45 分钟

后再灌注 24 小时,然后利用 TTC 染色分析梗死面积。假手术组不结扎前降支,其余操作同手术组。

1.4 细胞培养和低氧处理

分离和原代培养出生 2 天的大鼠心肌细胞,具体步骤如下:心肌组织在 HEPES 缓冲液中清洗和剪碎,然后转移至含 1.2 mg/mL 胰酶和 0.14 mg/mL 胶原酶的缓冲液中并在 37℃ 下消化,消化结束后离心,重悬细胞与 DMEM/f-12(5%马血清培养基)中进行 37 度贴壁培养 1 小时(细胞密度为 1×10^6 个/mL),然后转移至 5% CO₂ 和 95% N₂ 的条件下进行低氧处理。

1.5 Caspase-3 活性分析(凋亡检测)

利用 caspase-3/7 分析试剂盒 (Promega) 及说明书对 Caspase-3 进行检测。

1.6 TUNEL 检测(凋亡检测)

利用细胞凋亡检测试剂盒 (RocheApplied Bio Sciences)进行检测,最后通过计算凋亡核的 DAPI 信号比例来分析细胞的凋亡情况。

1.7 miRNA 抑制物的细胞转染

通过脂质体转染试剂 (Lipofectamine 2000 Invitrogen)将 mir-145 及抑制物转染到细胞中。

miR-145 反义寡聚序列被设计为抑制物,序列为 5'-AGGGAUCCUGGGAAAACUGGAC-3',抑制物的转染内参序列为 5'-UUCUCCGAACGU GUCACGUTT-3'。序列全部被人为甲基。

1.8 统计学分析

采用 SPSS13.0 进行统计分析,数据均采用均数±标准差表示,组间差异采用单因素方差分析,两组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-145 在不同组织和细胞中的表达

如图 1 所示,miR-145 的表达在血管壁最高,其次在心脏,在肺组织中表达最低。此外,大鼠乳鼠心肌细胞 miR-145 的表达显著高于成纤维细胞。

2.2 miR-145 在缺血心肌组织和缺氧心肌细胞中的表达

经大鼠冠状动脉的前降支(left anterior descending coronary artery, LAD)结扎建立缺血心肌模型,分别于缺血 0.5 h、1 h 和 3 h 取心脏的危险区和缺血偏远区的心肌组织,检测 miR-145 的

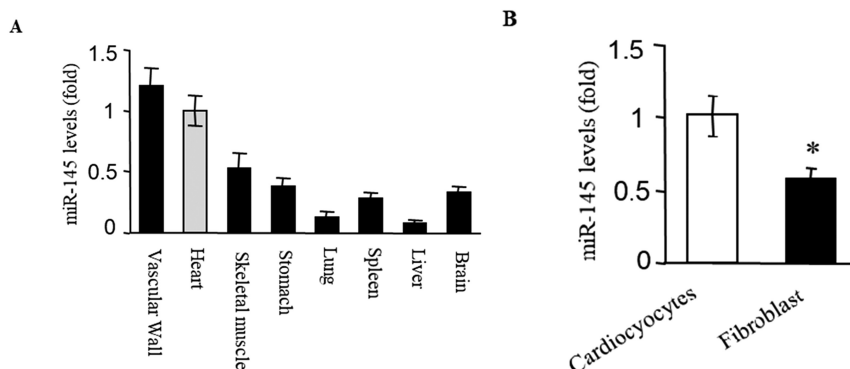


图 1(A)miR-145 血管和心脏组织中高表达;(B)miR-145 在心肌细胞表达高于成纤维细胞。*表示与大鼠心肌细胞组相比, $P < 0.05$

Fig.1 (A)The miR-145 levels in different tissues and cells;(B) miRNA-145 is more expressed in cardiomyocytes than in fibroblasts.

Compared with the rat cardiomyocyte group, $P < 0.05$

表达。如图 2 所示,随着缺血时间的延长,miR-145 的表达水平明显低于外周非缺血区,并呈现一定的时间依赖性($P<0.05$),而外周非缺血区 miR-145 的表达未见显著变化(图 2(A)。为了了

解缺氧对心肌细胞 miR-145 表达的影响,乳鼠心肌细胞缺氧处理不同时间,随着缺氧时间的延长(3 h、6 h 和 12h),miR-145 的表达逐步降低,并呈时间依赖性($P<0.05$)(图 2B)。

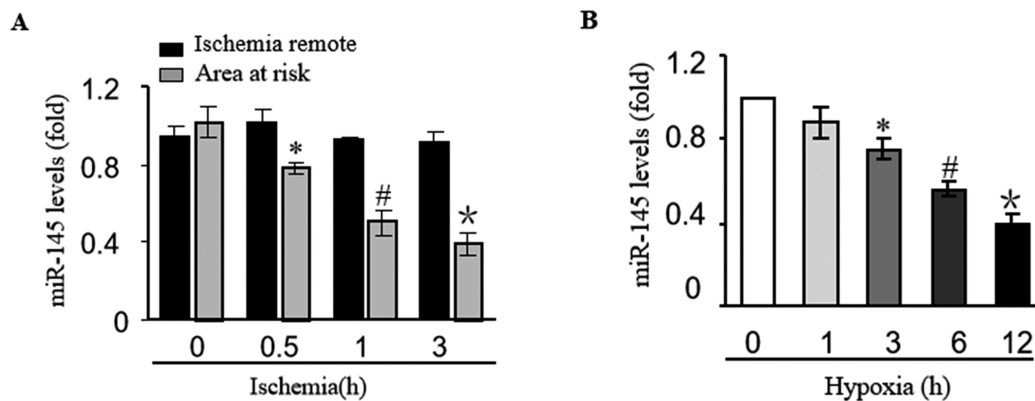


图 2(A)缺血心肌组织中 miR-145 的水平低于外周非缺血心肌组织,*表示心脏危险区缺血 0.5 小时与缺血偏远区相比,#表示心脏危险区缺血 1 小时与缺血偏远区相比,*表示心脏危险区缺血 3 小时与缺血偏远区相比, $P<0.05$;(B)随着缺氧时间的延长,miR-145 水平下调显著。*表示缺氧 3 小时与未缺氧时相比,#表示缺氧 6 小时与未缺氧时相比,*表示缺氧 12 小时与未缺氧时相比, $P<0.05$ 。

Fig.2 (A) The level of mir-145 in ischemic myocardial tissue was lower than that in peripheral non-ischemic myocardial tissue,

*It indicates 0.5 h of ischemia in the area at risk a compared with the remote area, #It indicates 1 h of ischemia in the area at risk a compared with the remote area, * It indicates 3 h of ischemia in the area at risk a compared with the remote area; (B) With the prolonged hypoxia time, mir-145 level was significantly down-regulated. *It indicates 3 hours of hypoxia compared with no hypoxia, #It indicates 6 hours of hypoxia compared with no hypoxia, * It indicates 12 hours of hypoxia compared with no hypoxia, $P<0.05$.

2.3 MiR-145 模拟物抗缺氧诱导的心肌细胞凋亡

对大鼠心肌细胞进行缺氧培养,随着缺氧时间的延长,细胞凋亡率及 caspase-3 的活性逐渐升高(图 3A、3B, $P<0.05$)。采用细胞转染技术将 miR-145 的模拟物转染入心肌细胞,转染 24 小时后,miR-145 的表达显著增加,表明 miR-145 过表达成功(图 3C, $P<0.05$)。在低氧的条件下,转染 miR-145 模拟物的细胞 miR-145 的表达明显升高(图 3D, $P<0.05$),TUNEL 检测显示过表达 miR-145 可以明显抑制缺氧诱导的心肌细胞凋亡及 caspase-3 活性(图 3E、3F 和图 4)($P<0.05$)。

2.4 抑制内源性 miR-145 的表达加重缺氧诱导的心肌细胞凋亡

通过细胞转染化学合成的 2'-O-甲基修饰的 miR-145 抑制剂,再行缺氧处理。实验结果显示转染了抑制剂的实验组 miR-145 水平明显低于对照组($P<0.05$)(图 5A),不同转染时间点的细胞凋亡率无明显差异($P>0.05$)(图 5B)。心肌细胞转染 miR-145 抑制剂 24 小时后,行低氧处理,结果显示 miR-145 抑制剂组细胞凋亡率明显高于单纯缺氧组和阴性对照组($P<0.05$)(图 5C)。

2.5 miR-145 模拟物可抑制缺血/再灌注大鼠的心肌细胞凋亡,缩小心肌梗塞面积

我们通过尾静脉给予大鼠连续 3 天注射化学合成的 2'-O-甲基修饰的 miR-145 模拟物(10 mg/kg),之后结扎前降支,缺血 45 分钟后,再灌注 24 小时,建立缺血再灌注损伤模型。假手术组(sham group)不结扎前降支,其余操作过程同手术组。结果显示:miR-145 水平明显上调($P<0.05$,图 6A),细胞凋亡率明显降低($P<0.05$,图 6B),心肌梗塞面积百分数明显降低($P<0.05$,图 6C)。以上结果表明 miR-145 模拟物可抑制缺血/再灌注大鼠的心肌细胞凋亡,缩小心肌梗塞面积。

3 讨论

缺血再灌注损伤是目前导致心肌梗死后心脏功能逐步衰竭的主要因素之一,心肌细胞凋亡在这其中有着重要的意义。如果能够早期积极的抑制心肌细胞的凋亡,则可以极大的降低心肌梗死后缺血再灌注损伤的危害。

MicroRNAs(miRNAs)是一类长约 22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子,它广泛分布于线虫、果蝇、植物、动物和人类等多种生物物种中,并且在不同物种间高度保守。miR-145 近年来研究的比较广泛,最早由 Lagos 等在克隆技术的支持下在小鼠的心肌中发现^[10]。在以往肿瘤的研究中表明,miR-145 的靶基因包括 *erbb*、*C-myc*、*IGF-IR*、*STAT1*、*IRS-1*、*MUC-1*、*YES*、*RTKN*、*EGFR* 等,通过对靶基因的调控达到对肿瘤细胞的增殖、生长以及凋亡的调控^[11-13]。目前已知,miR-145 在中胚层来源的肿瘤中如卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌以及结肠癌、膀胱癌中表达下调^[14,15]。

在心血管方面,miR-145 与血管平滑肌的关系研究较透彻。在心血管系统中,miR-145 不但在心脏和血管的发育过程中起重要作用,而且在心脏病理过程中也起着关键的作用^[16,17]。目前已知 miR-145 是血管平滑肌中含量最多的一类 miRNA^[5],这与我们的研究结果一致。有研究表明,增加 miR-145 可能是预防和治疗 2 型糖尿病和动脉粥样硬化等代谢性疾病的一种新的潜在治疗策略^[18]。目前认为 miR-145 主要通过直接影响血管平滑肌的结构,调节平滑肌细胞的静态增殖表型^[19],抑制血管平滑肌细胞由分化状态转化为未分化状态,还可以通过 MYOCD、CD40、KLF-4、KLF-5 等靶基因结合,抑制血管生成^[20],抑制平滑肌细胞的过度增殖^[21-24],从而阻止动脉粥样硬化的进

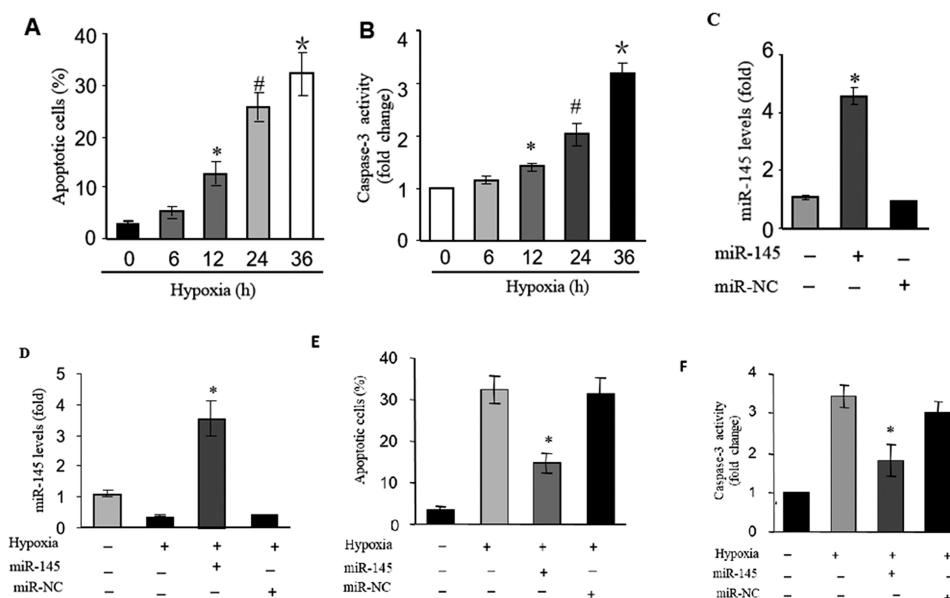


图3(A)随着缺氧时间的增加,心肌细胞凋亡比例增加,*表示缺氧12小时与未缺氧时比较,#表示缺氧24小时与未缺氧时比较,

*表示缺氧36小时与未缺氧时比较, $P<0.05$;(B)缺氧时间的增加,caspase-3活性增加,*表示缺氧12小时与未缺氧时比较,

#表示缺氧24小时与未缺氧时比较,*表示缺氧36小时与未缺氧时比较, $P<0.05$;(C)miR-145模拟物转染心肌细胞后,miR-145的表达增加,*表示miR-145模拟物转染组与未转染组及NC组比较, $P<0.05$;(D)在缺氧条件下,转染miR-145模拟物的心肌细胞的miR-145的表达上调明显,*表示转染miR-145模拟物组与未转染组及NC组比较, $P<0.05$;(E)TUNEL检测miR-145过表达可以抑制细胞凋亡,

*表示miR-145模拟物组与未转染组及NC组比较, $P<0.05$;(F)miR-145过表达后可以抑制Caspase-3活性。

Control: PBS; NC: Negative control. *表示转染miR-145模拟物组与未转染组及NC组比较, $P<0.05$ 。

Fig.3 (A) The cardiomyocyte apoptosis. Apoptosis rates of cardiomyocytes at different hypoxia times, *Hypoxia for 12 hours compared with no hypoxia, #Hypoxia for 24 hours compared with no hypoxia, * Hypoxia for 36 hours compared with no hypoxia; (B)caspase-3 activities at different hypoxia time, *Hypoxia for 12 hours compared with no hypoxia, #Hypoxia for 24 hours compared with no hypoxia, * Hypoxia for 36 hours compared with no hypoxia; (C)Expression of miR-145 in MiR-145 mimic transfected cardiomyocytes, *The transfection group was compared with the untransfected group and NC group, $P<0.05$; (D)Under hypoxic condition, expression of miR-145 in MiR-145mimic transfected cardiomyocytes, *The transfection group was compared with the untransfected group and NC group, $P<0.05$; (E)Apoptosis after miR-145 overexpression detected by TUNEL, *The transfection group was compared with the untransfected group and NC group, $P<0.05$; (F) Caspase-3 activity after overexpression of miR-145, *The transfection group was compared with the untransfected group and NC group, $P<0.05$. Control: PBS; NC: Negative control.

展,调节血管新生内膜的形成。我们的研究结果提供了环境与代谢紊乱进展之间的联系。

miR-145在心肌细胞中表达较丰富,明显高于成纤维细胞中的表达。予以缺氧处理后,miR-145的表达明显降低,且与缺氧时间明显相关。先前的研究表明miR-145是对缺氧反应的较敏感miRNA,是缺氧诱导因子(HIF)-1 α 和两种缺氧反应元件的直接靶标^[6]。缺氧可明显增强炎症反应,miR-145-5p已被证明为保护心肌细胞免受缺氧诱导的炎症反应和细胞凋亡提供了一个有益的策略^[25,26]。

缺氧能够诱发心肌细胞凋亡^[27]。在本研究中,将miR-NA-145模拟物转染到心肌细胞内,并进行低氧处理,发现细胞凋亡数量明显低于单纯低氧组和阴性对照组,同时caspase-3的活性也明显降低。行TUNEL染色和DAPI染色均证实miRNA-145模拟物能够抑制心肌细胞的凋亡。相应的转染了miR-145抑制剂的心肌细胞对于缺氧诱发的细胞凋亡的对抗能力明显下降。这些结果表明miR-145可以对抗心肌细胞凋亡。Xu^[28]等的研究提示miR-145/PDCD4轴能够促使线粒体介导的凋亡减少,预防大鼠发生心肌梗死。而Kenshi^[29]等则认为心肌梗死后,miR-145靶向调节成纤维细胞生长因子受体底

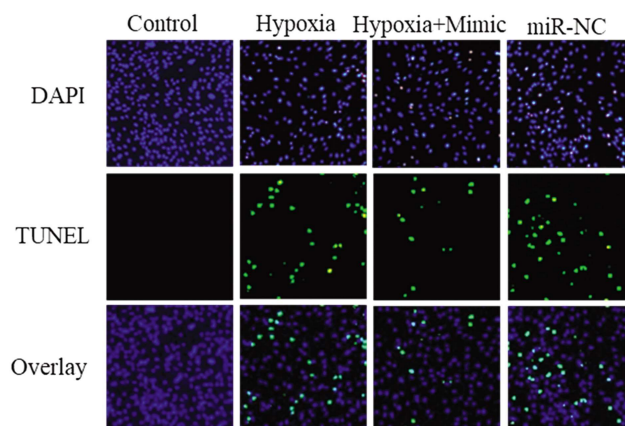


图4 TUNEL染色,DAPI染色检测凋亡结果

Control:PBS;NC:Negative control

Fig.4 The result of apoptosis detected by TUNEL staining. DAPI, 4'-diamidino-2-phenylindole; NC: Negative control

物,诱导心肌细胞自噬,达到保护心肌细胞的作用。这些结果与我们的结论相似。

临床上,心肌缺血再灌注是一种急性严重损伤,心肌细胞广泛凋亡和坏死在再灌注的最早期即出现在临床表现中。有研

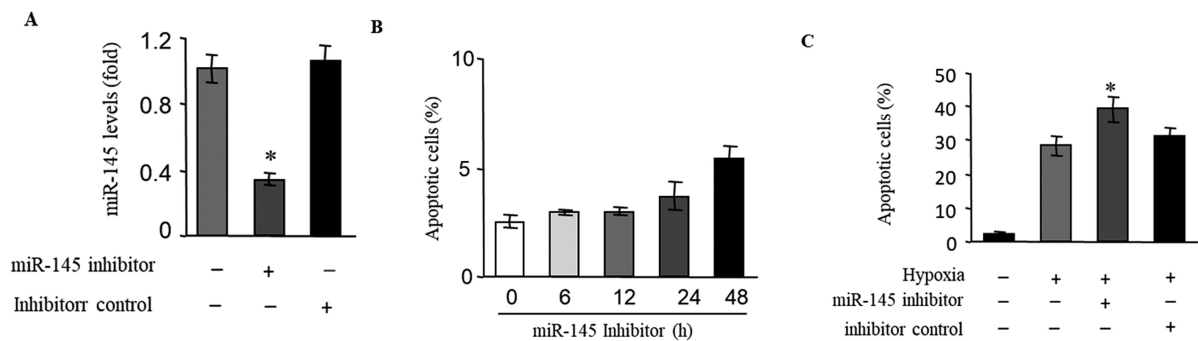


图 5(A)miR-145 抑制剂组中 miR-145 的表达明显降低, * 表示 miR-145 抑制剂转染组与未转染组及阴性对照组比较, $P < 0.05$; (B)不同转染时间点的凋亡细胞数无明显差异; (C)低氧处理后, miR-145 抑制剂组细胞凋亡数明显升高。

* 表示 miR-145 抑制剂转染组与阴性对照组及未转染组比较, $P < 0.05$ 。

Fig.5(A)The expression of miR-145 was significantly decreased in the miR-145 inhibitor group, *The inhibitor transfection group was compared with the untransfected group and the negative control group; (B)There was no significant difference in the number of apoptotic cells at different transfection time points; (C)After hypoxic treatment, the apoptosis of mir-145 inhibitor group was significantly increased,

*The inhibitor transfection group was compared with the untransfected group and the negative control group, $P < 0.05$.

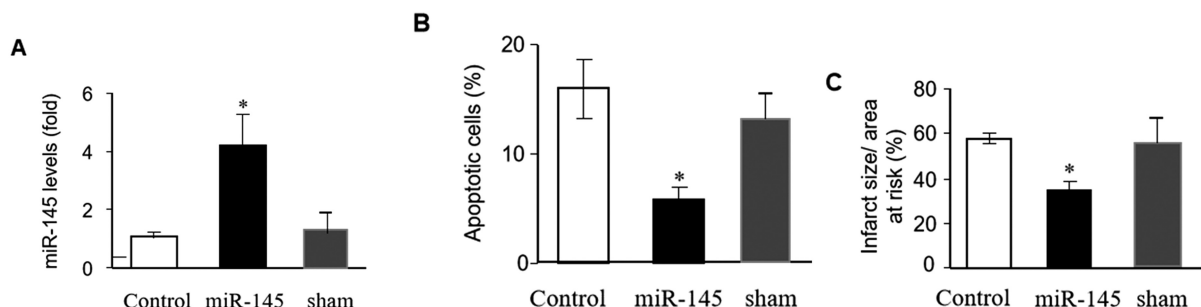


图 6 (A)注射 miR-145mimic 后, miR-145 的表达增加, 表明转染有效; (B)注射 miR-145mimic 后, 缺血再灌注模型的心肌细胞凋亡百分数降低; (C)注射 miR-145mimic 后, 缺血再灌注模型的梗死面积 / 危险区域百分比降低。* 表示手术组与假手术组及对照组相比, $P < 0.05$ 。

Fig.6 (A)After injection of mir-145mimic, the expression of mir-145 increased, indicating effective transfection; (B)After mir-145mimic injection, the apoptosis rate of myocardial cells in ischemia reperfusion model was reduced. (C)After mir-145mimic injection, the infarct area/risk area percentage in the ischemia-reperfusion model was reduced. *Compared with the sham operation group and the control group, $P < 0.05$.

究表明, 循环 MiR-145-3p 是诊断急性心肌梗死的新生物标志物^[30]。本研究表明, miR-145 可以抑制缺血 / 再灌注大鼠的心肌细胞凋亡, 缩小心肌梗塞面积。Sun N 等认为, MiR-145 过表达抑制凋亡相关因子的激活, 并通过上调 SGK1 促进 PI3K/AKT 信号通路的激活^[16]。之前的研究也表明, miR-145 在调节氧化应激激发的心脏线粒体凋亡途径中发挥重要作用^[8]。有研究表明^[31]通过激活 PI3K/AKT-eNOS 通路, 恢复 NO 的生成, 可以减弱缺血再灌注诱导 H9C2 心肌细胞凋亡, 从而改变 Bcl-2、Bax、caspase-3 等凋亡相关蛋白的表达水平。大鼠 MI 模型中 MiR-145 和 SGK1 的表达水平均上调。HIF-1 α 可诱导缺氧 H9c2 和 HL-1 细胞中 miR-145 的上调。MiR-145 保护 H9c2 细胞免受缺氧损伤。SGK1 上调和活化的 PI3K/AKT 可能参与了 miR-145 对心肌细胞的保护作用, 它通过靶向线粒体途径保护心肌细胞免受过氧化氢诱导的细胞凋亡。

综上所述, miR-145 可以抑制缺氧诱导的心肌细胞凋亡, 减轻心肌细胞的缺血再灌注损伤, 有效地减少梗死面积, 为针对心肌梗死的治疗提供了有益的参考。

参考文献(References)

- [1] Gottlieb RA, Bursleson KO, Kloner RA, et al. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes[J]. J Clin Invest, 1994, 94 (4): 1621-8
- [2] Cheng W, Kajstura J, Nitahara JA, et al. Programmed myocyte cell death affects the viable myocardium after infarction in rats [J]. Exp Cell Res, 1996, 226(2): 316-27
- [3] Ambros V. The functions of animal microRNAs[J]. Nature, 2004, 431 (7006): 350-5
- [4] Kukreja RC, Yin C, Salloum FN. MicroRNAs: new players in cardiac injury and protection[J]. Mol Pharmacol, 2011, 80(4): 558-64
- [5] Ji R, Cheng Y, Yue J, et al. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of MicroRNA in vascular neointimal lesion formation [J]. Circ Res, 2007, 100(11): 1579-88
- [6] Blick C, Ramachandran A, McCormick R, et al. Identification of a hypoxia-regulated miRNA signature in bladder cancer and a role for miR-145 in hypoxia-dependent apoptosis [J]. Br J Cancer, 2015, 113 (4): 634-44
- [7] Anton L, DeVine A, Sierra LJ, et al. miR-143 and miR-145 disrupt the cervical epithelial barrier through dysregulation of cell adhesion, apoptosis and proliferation[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 3020
- [8] Li R, Yan G, Li Q, et al. MicroRNA-145 protects cardiomyocytes against hydrogen peroxide (H₂O₂)-induced apoptosis through targeting

[1] Gottlieb RA, Bursleson KO, Kloner RA, et al. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes[J]. J Clin Invest, 1994, 94

- the mitochondria apoptotic pathway[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e44907
- [9] Xu L, Sun H, Zhang M, et al. MicroRNA-145 protects follicular granulosa cells against oxidative stress-induced apoptosis by targeting Krüppel-like factor 4[J]. Mol Cell Endocrinol, 2017, 452: 138-147
- [10] Sun N, Meng F, Xue N, et al. Inducible miR-145 expression by HIF-1 α protects cardiomyocytes against apoptosis via regulating SGK1 in simulated myocardial infarction hypoxic microenvironment [J]. Cardiol J, 2018, 25(2): 268-278
- [11] Cordes KR, Sheehy NT, White MP, et al. miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity[J]. Nature, 2009, 460 (7256): 705-10
- [12] Yuan M, Zhang L, You F, et al. MiR-145-5p regulates hypoxia-induced inflammatory response and apoptosis in cardiomyocytes by targeting CD40[J]. Mol Cell Biochem, 2017, 431(1-2): 123-131
- [13] Kuo CY, Chiu YC, Lee AY, et al. Mitochondrial Lon protease controls ROS-dependent apoptosis in cardiomyocyte under hypoxia [J]. Mitochondrion, 2015, 23: 7-16
- [14] Huang L, Lin JX, Yu YH, et al. Downregulation of six microRNAs is associated with advanced stage, lymph node metastasis and poor prognosis in small cell carcinoma of the cervix[J]. PLoS One, 2012, 7 (3): e33762
- [15] Wu QB, Sheng X, Zhang N, et al. Role of microRNAs in the resistance of colorectal cancer to chemoradiotherapy [J]. Mol Clin Oncol, 2018, 8(4): 528-532
- [16] Sun N, Meng F, Xue N, et al.. Inducible miR-145 expression by HIF-1 α protects cardiomyocytes against apoptosis via regulating SGK1 in simulated myocardial infarction hypoxic microenvironment [J]. Cardiol J, 2018, 25(2): 268-278
- [17] Vacante F, Denby L, Sluimer JC, et al.. The function of miR-143, miR-145 and the MiR-143 host gene in cardiovascular development and disease[J]. Vascul Pharmacol, 2019, 112: 24-30
- [18] Liu B, Qiang L, Wang GD, et al. LncRNA MALAT1 facilitates high glucose induced endothelial to mesenchymal transition and fibrosis via targeting miR-145/ZEB2 axis [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(8): 3478-3486
- [19] Cordes KR, Sheehy NT, White MP, et al. miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity[J]. Nature, 2009, 460 (7256): 705-10
- [20] Ren L, Wei C, Li K, et al. LncRNA MALAT1 up-regulates VEGF-A and ANGPT2 to promote angiogenesis in brain microvascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation via targeting miR-145[J]. Biosci Rep, 2019, 39(3)
- [21] Guo X, Li D, Chen M, et al. miRNA-145 inhibits VSMC proliferation by targeting CD40[J]. Sci Rep, 2016, 6: 35302
- [22] Zhao N, Koenig SN, Trask AJ, et al. MicroRNA miR145 regulates TGFBR2 expression and matrix synthesis in vascular smooth muscle cells[J]. Circ Res, 2015, 116(1): 23-34
- [23] Zhang YN, Xie BD, Sun L, et al. Phenotypic switching of vascular smooth muscle cells in the 'normal region' of aorta from atherosclerosis patients is regulated by miR-145 [J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(6): 1049-61
- [24] Yeh YT, Wei J, Thorossian S, et al. MiR-145 mediates cell morphology-regulated mesenchymal stem cell differentiation to smooth muscle cells[J]. Biomaterials, 2019, 204: 59-69
- [25] Yuan M, Zhang L, You F, et al. MiR-145-5p regulates hypoxia-induced inflammatory response and apoptosis in cardiomyocytes by targeting CD40[J]. Mol Cell Biochem, 2017, 431(1-2): 123-131
- [26] Wang P, Yuan Y. LncRNA-ROR alleviates hypoxia-triggered damages by downregulating miR-145 in rat cardiomyocytes H9c2 cells[J]. J Cell Physiol, 2019, 1-10
- [27] Kuo CY, Chiu YC, Lee AY, et al. Mitochondrial Lon protease controls ROS-dependent apoptosis in cardiomyocyte under hypoxia [J]. Mitochondrion, 2015, 23: 7-16
- [28] Xu H, Cao H, Zhu G, et al. Overexpression of microRNA-145 protects against rat myocardial infarction through targeting PDCD4 [J]. Am J Transl Res, 2017, 9(11): 5003-5011
- [29] Harrison BC, Bell ML, Allen DL, et al. Skeletal muscle adaptations in response to voluntary wheel running in myosin heavy chain null mice[J]. J Appl Physiol (1985), 2002, 92(1): 313-22
- [30] Xue S, Liu D, Zhu W, et al. Circulating MiR-17-5p, MiR-126-5p and MiR-145-3p Are Novel Biomarkers for Diagnosis of Acute Myocardial Infarction[J]. Front Physiol, 2019, 10: 123
- [31] He F, Xu BL, Chen C, et al. Methylophipogonanone A suppresses ischemia/reperfusion-induced myocardial apoptosis in mice via activating PI3K/Akt/eNOS signaling pathway[J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37(6): 763-71

(上接第 1623 页)

- [31] Uniyal A, Singh R, Akhtar A, et al. Co-treatment of piracetam with risperidone rescued extinction deficits in experimental paradigms of post-traumatic stress disorder by restoring the physiological alterations in cortex and hippocampus [J]. Pharmacology, biochemistry, and behavior, 2019, 185: 172763
- [32] Zhang XY, Tan Y L, Chen DC, et al. Interaction of BDNF with cytokines in chronic schizophrenia [J]. Brain Behav Immun, 2016, 51: 169-175
- [33] Mondelli V, Cattaneo A, Murri M B, et al. Stress and inflammation reduce brain-derived neurotrophic factor expression in first-episode psychosis: a pathway to smaller hippocampal volume[J]. J Clin Psychiatry, 2011, 72(12): 1677-1684
- [34] Liao L, Zhang XD, Li J, et al. Pioglitazone attenuates lipopolysaccharide-induced depression-like behaviors, modulates NF-kappaB/IL-6/STAT3, CREB/BDNF pathways and central serotonergic neurotransmission in mice[J]. Int Immunopharmacol, 2017, 49: 178-186