

miR-126 对急性心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡的影响

高 威, 钟 锋*

(华中科技大学同济医学院附属普爱医院心胸外科, 武汉 430030)

【摘要】 目的 探讨 miR-126 对急性心肌梗死 (AMI) 大鼠心肌细胞凋亡的影响。**方法** 通过冠状动脉左前降支结扎大鼠建立 AMI 模型, 随机分为 AMI 组、miR-126 mimics negative control (NC) 组及 miR-126 组, 其中 NC 组及 miR-126 组分别采用心肌组织局部注射慢病毒转染 miR-126 mimics NC 及 miR-126 mimics, 另外假手术组采用冠状动脉左前降支穿线不结扎。记录大鼠心脏功能, TCC 法及原位末端凋亡法 (TUNEL) 检测心肌凋亡指数及梗死面积, 比色法检测天冬氨酸蛋白水解酶 (Caspase 3) 及 Caspase 8 活性, Western-blot 法检测 Bax 及 Bcl-2 表达, 同时 RT-PCR 法检测 Fas 及 Fas-L mRNA 表达。**结果** 与假手术组比较, AMI 组及 NC 组左室射血分数 (LVEF) 及左室长轴缩短分数 (FS) 升高, 左室舒张末期内径 (LVDd) 及左室收缩末期内径 (LVDs) 降低, 心肌凋亡指数提高, 心肌梗死面积增大, Caspase 3 及 Caspase 8 活性上升, Bax 蛋白表达量上调, Bcl-2 蛋白表达量下调, Fas 及 Fas-L mRNA 水平上升, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。与 AMI 组及 NC 组比较, miR-126 组能扭转此变化, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。**结论** miR-126 能显著抑制 AMI 大鼠心肌细胞凋亡, 与调节细胞凋亡相关蛋白表达有关。

【关键词】 miR-126; 急性心肌梗死 (AMI); 细胞凋亡

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016)07-0057-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2016.07.010

Effect of miR-126 on apoptosis of myocardial cells in rats with acute myocardial infarction

GAO Wei, ZHONG Feng*

(Department of Cardiothoracic Surgery, Puai Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

【Abstract】 Objective To explore effect of miR-126 on apoptosis of myocardial cells in rats with acute myocardial infarction (AMI). **Methods** AMI model was established by ligation of left anterior descending branch of coronary artery. The survivors were randomly divided into 3 groups: AMI group, NC group and miR-126 group. the NC group and miR-126 group were injection of lentiviral transfection of miR-126 mimics NC and miR-126 mimics. The sham operation group was left anterior descending coronary artery without ligation. The rats' cardiac function was recorded. Apoptosis index and infarct size of myocardium was detected by TCC method and in situ end method (TUNEL), respectively. The activity of cysteinyl aspartate specific proteinase 3 (Caspase 3) and Caspase 8 were determinated by colorimetry. The expression of Bcl-2, Bax was assayed by Western-blot. The expression of Fas and Fas-L mRNA was detected by RT-PCR. **Results** Compared with sham operation group, left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular long axis shortening fraction (FS) was increased, left ventricular end diastolic diameter (LVDd) and left ventricular end systolic diameter (LVDs) was decreased, apoptosis index was increased, myocardial infarction area increased, the activity of Caspase 3 and

[作者简介] 高威 (1981 -) 男, 硕士生, 住院医师, 研究方向: 心胸外科疾病的基础与临床。E-mail: gw_0504@163.com。

[通讯作者] 钟锋 (1968 -) 男, 本科, 副主任医师, 研究方向: 心胸外科疾病的基础研究及外科治疗。E-mail: zhongfeng871586@163.com。

Caspase 8 was increased, the expression of Bax protein was upregulated, the expression of Bcl-2 protein was downregulated, the expression of Fas and Fas-L mRNA was increased in AMI and NC group, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). Compared with AMI and NC group, miR-126 could reverse the change, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusions** miR-126 could inhibit apoptosis of myocardial cells in rats with AMI, which related to regulation of expression of cell apoptotic related protein.

[Key words] MiR-126; Acute myocardial infarction (AMI); Cell apoptosis

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是临床常见冠心病的一种, 主要表现为心肌极度缺血, 使得急性血栓从而导致了血管闭塞。近年来其发病率显著上升, 目前因 AMI 死亡人数占全球死于心血管疾病中人数的一半, 是危害人类死亡的头号杀手^[1]。AMI 起病急骤, 病情变化迅速, 在大多数老年人中心肌梗死容易导致心肌重构, 最终导致心力衰竭。目前研究显示, 在心肌梗死早期, 心肌细胞凋亡在心梗后所引起的心室重构及心力衰竭中起重要作用, 通过阻断 AMI 心肌梗死对于抑制心梗后心肌损伤具有重要意义^[2-4]。miRNAs 是一类进化上高度保守的非编码小分子 RNA, 以往对其研究主要集中于机体发育的调控及肿瘤形成中, 近些年研究陆续发现有数十种 miRNA 能特异性表达于心肌细胞, 并与心肌肥大, 心肌重塑, 心力衰竭, 心肌缺血再灌注, 心肌梗死等心血管疾病过程密切相关^[5-6]。如 Fichtlscherer 等^[7]发现 AMI 患者心肌来源 miRNAs 中包括 miR-126 表达量下调, 此观点也陆续被 Long 等^[8], Hsu 等^[9]证实。上述报道说明 miR-126 在 AMI 患者中低表达, 并与 AMI 的发生发展密切相关。此外研究也表明 miR-126 是一种内皮特异性 miRNA, 在内皮细胞中表达丰富, 同时过表达的 miR-126 对于 AMI 动物的血管再生具有显著促进作用, 从而修复心肌梗死损伤^[10-11]。而过表达 miR-126 是否可以通过抑制心肌细胞凋亡从而抑制心肌细胞凋亡尚未见报道, 因而本实验通过构建 AMI 大鼠心肌模型, 并通过慢病毒转染局部心肌组织注射 miR-126, 从而探讨 miR-126 过表达对于 AMI 大鼠心肌细胞凋亡的作用及相关机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SD 清洁级雄性大鼠 52 只, 2 月龄, 体重 (180 ~ 220) g, 购于上海斯莱克实验动物有限责任公司 [SCXK(沪)2012-0002]。所有大鼠均在华中科技大学同济医学院 [SYXK(鄂)2013-0044] 的清洁环境下饲养观察, 室内温度控制在 (21 ~ 25) °C, 大鼠

自由饮食和饮水。并按实验动物 3R 原则给予人道的关怀。

1.2 试剂及仪器

兔抗 Bax 及 Bcl-2 单克隆抗体购自美国 Eptimics 公司; Caspase 3、Caspase 8 活性检测试剂盒, BCA 试剂盒购, 小鼠抗 GAPDH 单克隆抗体自碧云天生物技术有限公司; TUNEL 检测试剂盒购自武汉博士德生物技术有限公司; miR-126 mimics 及 miR-126 mimics negative control (NC) 由广州市锐博生物科技有限公司订购合成。迷你双垂直电泳仪, 迷你转印电泳仪, ChemiDoc™ XRS 凝胶成像系统购自美国 Bio-Rad 公司; PHILIPS ATL-HDI5000 多普勒心脏彩超仪购自美国 ATL 公司; Tecan Infinite F200/M200 型多功能酶标仪购自瑞士 TECAN 集团公司。

1.3 AMI 模型建立与分组给药^[3, 12]

40 只大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉, 剔除大鼠颈部和胸部毛发并碘伏消毒颈部皮肤, 做切口 1 cm, 暴露颈部气管, 连接呼吸机。调整呼吸机参数为呼吸频率为 120 次/min, 潮气量为 7 ~ 8 mL, 呼吸时间比为 1:2。胸部皮肤碘伏消毒后, 以胸部左侧第 4 根肋骨为手术切口, 逐层剥离皮肤, 使心脏充分暴露, 在左心耳与肺动脉圆锥之间找到冠状动脉左前降支, 并结扎, 当观察到心电图记录仪上 ST 段背向上抬高, 心律较为缓慢, 同时左心室变白, 说明 AMI 制作成功, 最终 AMI 制作成功并存活大鼠 36 只, 即随机分为 AMI 组, NC 组, miR-126 组, 每组 12 只。而假手术组冠状动脉左前降支仅仅穿线但不结扎 (12 只)。其中 NC 组: 携带 GFP 的慢病毒空载体 (miR-126 mimics NC) 以 4×10^7 病毒数量进行心肌组织局部注射转染, miR-126 组: 携带 miR-126 mimics 慢病毒以 4×10^7 病毒数量进行心肌组织局部注射转染, 而 AMI 组与假手术组每天给予等量生理盐水。于第 7 天处死大鼠, 并将心肌组织置于 -80°C 冰箱待测。

1.4 心脏功能检测

大鼠治疗 2 周后, 腹腔注射 10% 水合氯醛进行

麻醉,进而对大鼠行心脏彩超检查,并记录相关指标:左室射血分数(LVEF),左室长轴缩短分数(FS),左室舒张末期内径(LVDd),左室收缩末期内径(LVDs)。

1.5 心肌梗死面积的测量

沿着心脏横轴方向在心尖到结扎点间进行切片,每片 1 mm,后经 1% TCC 进行染色,正常心肌染成红色,AMI 导致的缺血心肌染成白色。拍照后经 IMAGE PRO 图像分析,并计算得到心肌梗死面积占左心室的百分数。

1.6 TUNEL 法检测心肌细胞凋亡

采用 TUNEL 试剂盒检测心肌组织凋亡,严格按照试剂盒说明书进行操作,在 200 倍光镜下随机选取 5 个视野进行观察,阳性细胞被染成棕黄色,凋亡细胞数与总细胞数的比值,并以百分比记做细胞凋亡指数。

1.7 Caspase 3 及 Caspase 9 活性检测

按照 Caspase 3 及 Caspase 9 活性检测试剂盒说明书进行操作,于酶标仪 405 nm 处检测 Caspase 活性。

1.8 Western-blot 检测心肌组织中 Bax 及 Bcl-2 蛋白表达

取各组心肌标本,用匀浆器处理后,加入适量的 RIPA 裂解液裂解,获得总蛋白。采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。蛋白变性,上样,进行 SDS 凝胶电泳,后湿法转膜。在一抗溶液(Bcl-2 及 Bax,稀释浓度为 1:100)4℃ 过夜孵育;次日二抗溶液中室温孵育 1~2 h。滴加曝光液,在凝胶成像系统中曝光。用“Quantity one”软件统计各抗体条带灰度值。

1.9 RT-PCR 检测检测心肌组织中 Fas 及 Fas-L mRNA 表达

参考 trizol 试剂盒说明书提取心肌组织中总 RNA,接着紫外分光光度计检测 RNA 纯度。进一步采用一步法 RT-PCR 试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA,并扩增,扩增产物用于 2% 的琼脂糖胶电泳。反应体系为:变性 95℃,15 s,退火 60℃,20 s,延伸 70℃,60 s,共 36 个循环。引物如下。miR-126 上游引物:5'-GGCTTCGTACCGTGAGTAAT-3',下游引物:5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3',长度 145 bp,Fas 上游引物:5'-GTGAAACCGACAAC AACTGCT-3',下游引物:5'-CAAGGCTCAAGG ATGTCTTCA-3',长度 349 bp;Fas-L 上游引物:5'-ATAGAGCTGTG GCTACCGGT-3',下游引物:5'-CTCCAGAGATCA

AAGCAGTTCC-3',长度 285 bp;GAPDH 上游引物:5'-GCTTCGGCAG CACATATAC TAAAAT-3',下游引物:5'-CGCTTCACGAATTTG CGTGTCA-3',长度 314 bp(基因由上海生工生物工程有限公司合成)。

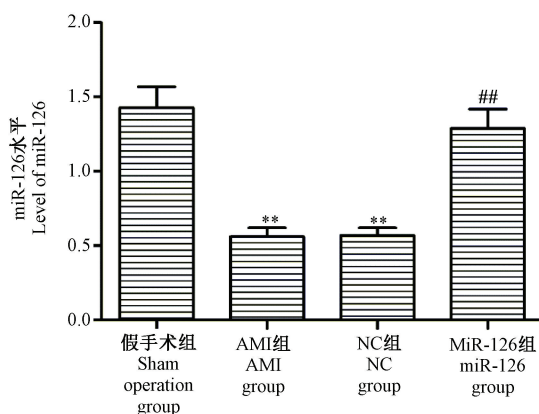
1.10 统计学分析

用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心肌组织中 miR-126 的表达

与假手术组比较,AMI 组及 NC 组中 miR-126 表达量显著降低,差异均具有统计学意义($P < 0.01$);与 AMI 组及 NC 组比较,miR-126 组中 miR-126 表达量显著提高,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。见图 1。



注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;

与 AMI 组及 NC 组比较,## $P < 0.01$ 。

图 1 各组大鼠心肌组织中 miR-126 的表达

Note. Compared with sham operation group, ** $P < 0.01$;

Compared with AMI group and NC group, ## $P < 0.01$ 。

Fig. 1 Expression of miR-126 in each group

2.2 miR-126 对 AMI 大鼠心脏功能的影响

与假手术组比较,AMI 及 NC 组中 LVEF 及 FS 明显降低,LVDd 及 LVDs 明显提高,差异均具有统计学意义($P < 0.01$);与 AMI 组及 NC 组比较,miR-126 组中 LVEF 及 FS 明显提高,LVDd 及 LVDs 明显降低,差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

2.3 miR-126 对 AMI 大鼠心肌凋亡指数及梗死面积的影响

与假手术组比较,AMI 组及 NC 组中心肌凋亡指数提高,梗死面积增加,差异均具有统计学意义

($P < 0.01$); 与 AMI 组及 NC 组比较, miR-126 组中心肌凋亡指数显著降低, 梗死面积减少, 差异均具

有统计学意义($P < 0.01$), 见图 2, 表 2。

表 1 miR-126 对 AMI 大鼠心脏功能的影响
Tab.1 Effect of miR-126 on heart function in rats with AMI

组别 Groups	左室射血分数(%) LVEF(%)	左室长轴缩短分数(%) FS(%)	左室舒张末期内径(mm) LVDd(mm)	左室收缩末期内径(mm) LVDs(mm)
假手术组 Sham group	78.68 ± 7.87	48.28 ± 4.83	4.88 ± 0.45	2.58 ± 0.26
AMI 组 AMI group	39.97 ± 3.95 **	27.44 ± 2.74 **	6.97 ± 0.70 **	5.74 ± 0.57 **
NC 组 NC group	40.02 ± 3.98 **	27.43 ± 2.72 **	6.95 ± 0.69 **	5.76 ± 0.58 **
miR-126 组 miR-126 group	65.73 ± 6.57 ##	39.99 ± 4.00 ##	5.47 ± 0.55 ##	3.18 ± 0.29 ##

注: 与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与 AMI 组及 NC 组比较, ## $P < 0.01$ 。
Note. Compared with sham operation group, ** $P < 0.01$; Compared with AMI group and NC group, ## $P < 0.01$.

表 2 miR-126 对 AMI 大鼠心肌凋亡指数及梗死面积的影响(×20)
Tab.2 Effect of miR-126 on apoptosis index and myocardial infarction area in rats with AMI

组别 Groups	凋亡指数(%) apoptosis index(%)	梗死面积(%) infarction area(%)
假手术组 Sham group	2.37 ± 0.24	0.00 ± 0.00
AMI 组 AMI group	35.39 ± 3.35 **	30.36 ± 3.31 **
NC 组 NC group	35.38 ± 3.36 **	30.38 ± 3.28 **
miR-126 组 miR-126 group	14.63 ± 1.67 ##	20.43 ± 2.43 ##

注: 与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与 AMI 组及 NC 组比较, ## $P < 0.01$ 。
Note. Compared with sham operation group, ** $P < 0.01$; Compared with AMI group and NC group, ## $P < 0.01$.

2.4 miR-126 对 AMI 大鼠心肌组织中 Bax 及 Bcl-2 蛋白表达量的影响

与假手术组比较, AMI 组及 NC 组中心肌组织中 Bax 表达量上调, Bcl-2 表达量下调, 差异均具有统计学意义($P < 0.01$); 与 AMI 组及 NC 组比较, miR-126 组心肌组织中 Bax 表达量下调, Bcl-2 表达量上调, 见图 3。

2.5 miR-126 对 AMI 大鼠心肌组织中 Fas 及 Fas-L mRNA 水平的影响

与假手术组比较, AMI 组及 NC 组中心肌组织中 Fas 及 Fas-L mRNA 水平提高, 差异均具有统计学意义($P < 0.01$); 与 AMI 组及 NC 组比较, miR-126 组心肌组织中 Fas 及 Fas-L mRNA 水平降低, 差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。见图 4。

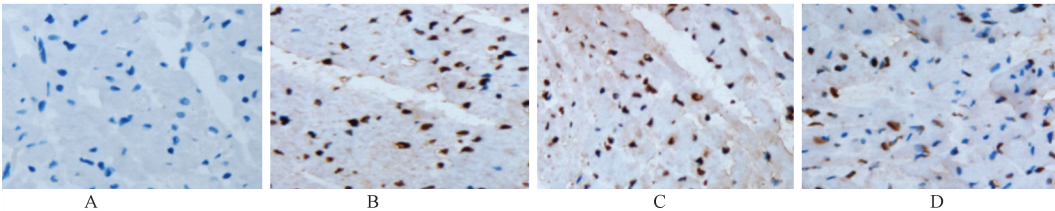
2.6 miR-126 对 AMI 大鼠心肌组织中 Caspase 3 及 Caspase 8 活性的影响

与假手术组比较, AMI 组及 NC 组中心肌组织中 Caspase3 及 Caspase8 活性提高, 差异均具有统

表 3 miR-126 对 AMI 大鼠心肌组织中 Caspase 3 及 Caspase 8 活性的影响
Tab.3 Effect of miR-126 on the activity of Caspase 3 and Caspase 9 in myocardial tissue of rats with AMI

组别 Groups	Caspase 3 (U/mg)	Caspase 8 (U/mg)
假手术组 Sham group	0.78 ± 0.08	1.75 ± 0.18
AMI 组 AMI group	7.46 ± 0.75 **	5.39 ± 0.54 **
NC 组 NC group	7.45 ± 0.74 **	5.38 ± 0.51 **
miR-126 组 miR-126 group	3.63 ± 3.36 ##	2.65 ± 0.26 ##

注: 与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与 AMI 组及 NC 组比较, ## $P < 0.01$ 。
Note. Compared with sham operation group, ** $P < 0.01$; Compared with AMI group and NC group, ## $P < 0.01$.

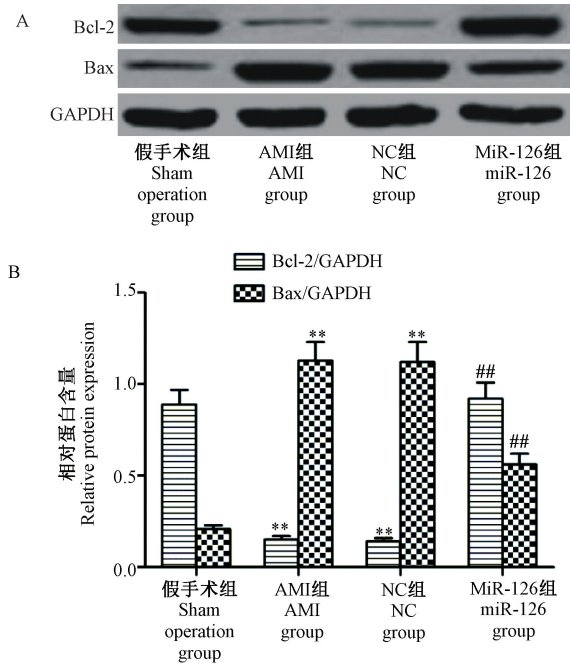


注：(A)假手术组；(B)AMI 组；(C)NC 组；(D)miR-126 组。

图 2 miR-126 对 AMI 大鼠心肌凋亡指数及梗死面积的影响 (×20)

Note. (A) sham operation group; (B) AMI group; (C) NC group; (D) miR-126 group.

Fig. 2 Effect of miR-126 on apoptosis index and myocardial infarction area in rats with AMI (×20)



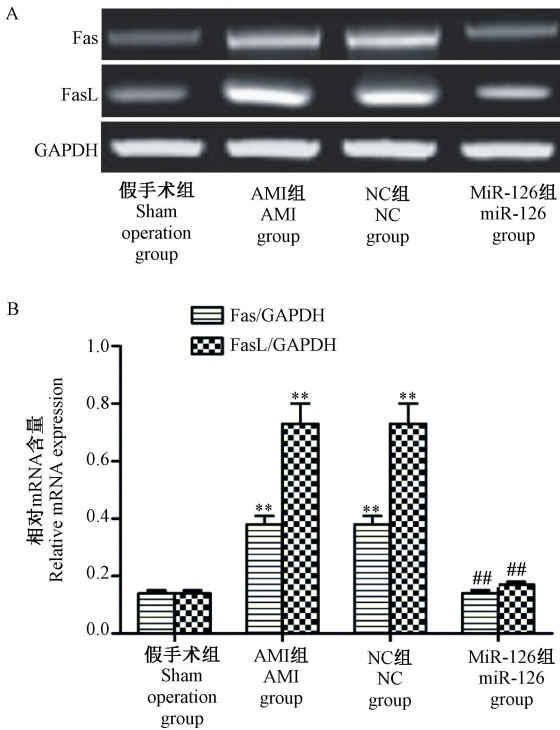
注：(A) Bax 及 Bcl-2 蛋白表达图谱；
(B) Bax 及 Bcl-2 蛋白表达分析图。

与假手术组比较，** $P < 0.01$ ；
与 AMI 组及 NC 组比较，### $P < 0.01$ 。

图 3 miR-126 对 AMI 大鼠心肌组织中 Bax 及 Bcl-2 蛋白表达量的影响

Note. (A) Bax and Bcl-2 protein expression profiles;
(B) Expression analysis of Bax and Bcl-2 protein.
Compared with sham operation group, ** $P < 0.01$;
Compared with AMI group and NC group, ### $P < 0.01$.

Fig. 3 Effect of miR-126 on the expression of Bax and Bcl-2 in myocardial tissue of rats with AMI



注：(A) Fas 及 Fas-L mRNA 表达图谱；
(B) Fas 及 Fas-L mRNA 表达分析图。

与假手术组比较，** $P < 0.01$ ；
与 AMI 组及 NC 组比较，### $P < 0.01$ 。

图 4 miR-126 对 AMI 大鼠心肌组织中 Fas 及 Fas-L mRNA 水平的影响

Note. (A) Fas and Fas-L mRNA expression profiles;
(B) Expression analysis of Fas and Fas-L mRNA.
Compared with sham operation group, ** $P < 0.01$;
Compared with AMI group and NC group, ### $P < 0.01$.

Fig. 4 Effect of miR-126 on the expression of Fas and Fas-L in myocardial tissue of rats with AMI

计学意义 ($P < 0.01$)；与 AMI 组及 NC 组比较，miR-126 组心肌组织中 Caspase 3 及 Caspase 8 活性降低，差异均具有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 3。

3 讨论

miRNAs 是一类长度约为 18 ~ 25 nt 高度保守的小 RNA，能结合于其靶基因 3'-UTR 区域，进而抑

制靶基因的翻译,从而参与细胞生长,增值,分化与凋亡的调控。近些年研究发现 miRNAs 与心肌梗死,心力衰竭,心脏重构,心肌缺血再灌注等心血管疾病的发生发展密切相关。miR-126 不仅是心肌特异性 miRNA,也广泛表达于肺脏、心脏及肝脏等血管高度丰富的组织中^[11]。Hsu 等^[9]证实 ST 段抬高性心肌梗死患者血清中有 12 个 miRNA 表达量上调,13 个 miRNA 表达量下调,其中包括 miR-126, miR-26a, miR-191 等 miRNA。Long 等^[8]采用 ELISA 法也证实 AMI 患者血清中 miR-126 表达量下调。Fichtlscherer 等^[7]发现 AMI 患者心肌来源 miRNAs 中包括 miR-126 表达量下调。上述研究充分说明了 miR-126 在 AMI 患者中低表达,并与 AMI 的发生发展密切相关。此外 Huang 等^[10]发现过表达 miR-126 的骨髓干细胞能恢复 AMI 雌性 C57BL/6 小鼠心肌梗死血流,增加微血管密度,促进未成熟血管增生。Wang 等^[13]研究表明过表达 miR-126 能通过提高 VEGF 等血管生长因子表达,抑制 Spred-1 表达而促进血管生成,若敲除 miR-126 基因,新生小鼠血管增生及迁移受到限制。进而说明了 miR-126 对于 AMI 动物心肌梗死具有修复作用,不过是通过促进血管增生。而心肌细胞凋亡对于心梗后心肌重塑,心肌重构及心力衰竭等病理生理过程具有重要作用,因此本研究将探讨过表达 miR-126 对于 AMI 大鼠心肌细胞凋亡的影响及具体机制。

所以,本研究在此基础上,首先采用冠状动脉左前降支结扎构建 AMI 模型,通过检测大鼠心肌功能,证实有 36 只 AMI 大鼠构建成功并存活,成功率达 90%。接着通过参考相关文献及预实验^[3, 10],通过心肌组织局部注射慢病毒转染 miR-126 mimics NC 及 miR-126 mimics,结果发现 AMI 组及 NC 组心肌组织中 miR-126 表达量显著低于假手术组,与李国达等^[14]研究结果一致,而 miR-126 组较 AMI 组及 NC 组心肌组织中 miR-126 表达量上调。所以本研究接下来探讨过表达 miR-126 对于 AMI 心肌细胞凋亡的影响,首先通过检测心脏功能 miR-126 对 AMI 大鼠心肌功能的改善作用,结果表明过表达 miR-126 能显著提高 LVEF 及 FS,降低 LVDd 及 LVDs,从而说明 miR-126 能通过改善大鼠心脏功能,进而抑制 AMI 损伤。接着通过 TUNEL 法及 TCC 法检测心肌凋亡指数及心肌梗死面积,结果表明过表达 miR-126 能显著的降低 AMI 大鼠心肌凋亡指数及心肌梗死面积,说明过表达 miR-126 能通

过抵抗心肌细胞凋亡从而抑制大鼠 AMI 损伤。

细胞凋亡是一类由基因控制的程序性死亡方式,主要由内源性途径及外源性途径介导,其中外源性途径由细胞表面死亡受体 Fas 所介导, Fas/Fas-L 系统能直接启动凋亡信号,进而结合于 Fas 相关死亡区域 (FADD),使 FADD 激活,并与 Caspase 8 激活,进而介导 Caspase 级联反应,最终将凋亡信号传递给凋亡执行者 Caspase 3,从而使 DNA 降解断裂,细胞凋亡。研究已经证实 AMI 大鼠心肌组织中凋亡指数提高的同时伴随着 Fas 及 Fas-L mRNA 水平及蛋白表达量显著上调^[2, 8]。Caspase 3 及 Caspase 8 在 AMI 大鼠心肌梗死区活性或蛋白表达量显著提高,当抑制 Caspase 3 及 Caspase 8 活性或下调其表达都能使心肌细胞凋亡受到抑制^[15-16]。所以本研究通过 RT-PCR 及比色法分别检测了 AMI 大鼠心肌组织中 Fas、Fas-L mRNA 水平及 Caspase 3 及 Caspase 8 活性,结果表明 AMI 组心肌组织中 Fas、Fas-L mRNA 水平及 Caspase 3 及 Caspase 8 活性显著提高,而 miR-126 组 Fas、Fas-L mRNA 水平及 Caspase 3 及 Caspase 8 活性显著降低,说明过表达 miR-126 能通过 Fas/Fas-L 介导的信号途径从而抑制心肌细胞凋亡。而细胞凋亡还受 Bcl-2 家族蛋白的调控,抑凋亡蛋白 Bcl-2 能与促凋亡蛋白 Bax 结合形成异二聚体,或者 Bax 自身形成寡聚体,从而将凋亡信号传递给 Caspase 3,使其发挥凋亡执行作用。研究表明 AMI 大鼠心肌组织中 Bax 表达量上调,而 Bcl-2 表达量下调,通过遏制此变化,能显著的抑制心肌细胞凋亡^[15-16]。所以本研究继续探讨各组心肌组织中 Bax 及 Bcl-2 表达,结果表明过表达 miR-126 能上调 Bcl-2 表达,下调 Bax 表达,从而抑制心肌细胞凋亡。

参考文献:

- [1] 张力俨,张翠丽,富路.急性心肌梗死药物治疗研究进展[J].心血管病学进展,2011,32(2):212-216.
- [2] 任宏强,赵利,王忠,等.复方丹参滴丸对急性心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡和凋亡相关蛋白的影响[J].中国动脉硬化杂志,2013,12(12):1084-1088.
- [3] 王珏,黄伟聪,郑亮承,等. MicroRNA-24 对心肌梗死后心肌细胞凋亡的调控作用[J].中国病理生理杂志,2013,29(4):590-596.
- [4] 马萍,纪中,纪长伟,等.蓝莓花色苷预处理对大鼠心肌梗死的保护作用[J].中国比较医学杂志,2013,23(6):49-52.
- [5] 余华东,余强.心肌梗死中微小 RNA 的研究进展及临床应用前景[J].重庆医学,2014,43(19):2514-2517.

- [6] Sayed AS, Xia K, Salma U, *et al.* Diagnosis, prognosis and therapeutic role of circulating miRNAs in cardiovascular diseases [J]. Heart Lung Circ, 2014, 23(6): 503 – 510.
- [7] Fichtlscherer S, Zeiher AM, Dimmeler S. Circulating microRNAs: biomarkers or mediators of cardiovascular diseases? [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(11): 2383 – 2390.
- [8] Long G, Wang F, Duan Q, *et al.* Human circulating microRNA – 1 and microRNA – 126 as potential novel indicators for acute myocardial infarction [J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(6): 811 – 818.
- [9] Hsu A, Chen SJ, Chang YS, *et al.* Systemic approach to identify serum microRNAs as potential biomarkers for acute myocardial infarction [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014(1): 418628.
- [10] Huang F, Zhu X, Hu XQ, *et al.* Mesenchymal stem cells modified with miR – 126 release angiogenic factors and activate Notch ligand Delta-like-4, enhancing ischemic angiogenesis and cell survival [J]. Int J Mol Med, 2013, 31(2): 484 – 492.
- [11] 杨东,张红. MicroRNAs-126(miR-126)的生物学功能[J]. 现代生物医学进展,2012,12(14):2773 – 2777.
- [12] Chen TL, Zhu GL, He XL, *et al.* Short-term pretreatment with atorvastatin attenuates left ventricular dysfunction, reduces infarct size and apoptosis in acute myocardial infarction rats [J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(12): 4799 – 4808.
- [13] 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.
- [14] 李国达,刘衍宇,方凌燕,等. miR – 126 及 VEGF 在大鼠心肌梗死交界区表达的动态变化[J]. 心脏杂志,2015,27(6):639 – 644.
- [15] 杨文慧,郭涛,杨莉,等. 体外心脏震波对大鼠心肌梗死后心肌凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志,2016,36(2):265 – 267.
- [16] 陈铁龙,祝光礼,赫小龙,等. 冠心合剂减少急性心肌梗死大鼠凋亡及对 Bax、Bcl-2、p-BAD、Caspase – 8、Caspase – 3 蛋白表达的影响 [J]. 中华中医药学刊,2014,32(11):2720 – 2723.

[修回日期]2016-04-06

(上接第 34 页)

- [5] Nolan YM, Sullivan AM, Toulouse A. Parkinson’s disease in the nuclear age of neuroinflammation[J]. Trends Mol Med, 2013, 19(3):187 – 196.
- [6] Nordzell M, Aarnisalo P, Benoit G, *et al.* Defining an N-terminal activation domain of the orphan nuclear receptor Nurr1 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 313(1):205 – 211.
- [7] Saijo K, Winner B, Carson CT, *et al.* A Nurr1/CoREST pathway in microglia and astrocytes protects dopaminergic neurons from inflammation-induced death[J]. Cell, 2009, 137(1):47 – 59.
- [8] Volakakis N, Tiklova K, Decressac M, *et al.* Nurr1 and Retinoid X Receptor Ligands Stimulate Ret Signaling in Dopamine Neurons and Can Alleviate alpha-Synuclein Disrupted Gene Expression [J]. J Neurosci, 2015, 35(42):14370 – 14385.
- [9] Vergano-Vera E, Diaz-Guerra E, Rodriguez-Traver E, *et al.* Nurr1 blocks the mitogenic effect of FGF – 2 and EGF, inducing olfactory bulb neural stem cells to adopt dopaminergic and dopaminergic-GABAergic neuronal phenotypes[J]. Dev Neurobiol 2015, 75(8):823 – 841.
- [10] Hong S, Chung S, Leung K, *et al.* Functional roles of Nurr1, Pitx3, and Lmx1a in neurogenesis and phenotype specification of dopamine neurons during in vitro differentiation of embryonic stem cells[J]. Stem Cells, 2014, 23(5):477 – 487.
- [11] Alavian KN, Jeddi S, Naghipour SI, *et al.* The lifelong maintenance of mesencephalic dopaminergic neurons by Nurr1 and engrailed[J]. J Biomed Sci, 2014, 21:27.
- [12] 谭雪锋,金国华. PD 模型大鼠黑质中 Nurr1 和 TH 的表达变化及其意义[J]. 神经解剖学杂志,2009. (01): 16 – 20.

[修回日期]2016-03-31