

miR-221在H₂O₂诱导的大鼠心肌细胞 损伤中的作用及机制研究

符丽珍¹, 黄茂芹², 劳之勇¹, 肖孟生¹, 朱德康¹

(1. 海南省农垦总医院内科, 海口 570203; 2. 海南省农垦总医院心血管内科, 海口 570203)

【摘要】 目的 探讨 miR-221 在过氧化氢(H₂O₂) 诱导的大鼠心肌细胞(H9c2) 损伤中的作用及机制研究。**方法** MTT 法检测不同浓度 H₂O₂ 对 H9c2 细胞的损伤作用, RT-PCR 法检测 miR-221 表达量。通过 Lipofectamine 2000 将 miR-221 inhibitor 及阴性对照转入 H9c2 心肌细胞, 并将实验分为 4 组, 正常对照组, 模型对照组(H₂O₂ 组), 阴性对照组(H₂O₂ + 阴性对照组), 抑制组(H₂O₂ + miR-221 inhibitor 组)。MTT 法检测细胞活力, 吖啶橙染色检测细胞凋亡情况, Western blot 检测 Bax, Bcl-2, 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因蛋白(PTEN) 及 p-蛋白激酶(AKT) 表达。**结果** 0、25、50、100、200、400 μmol/L H₂O₂ 对 H9c2 细胞活力的抑制作用逐渐加强, 其中 200 μmol/L H₂O₂ 对细胞活力抑制程度适中, 因此作为后续诱导剂量。与正常对照组比较, 模型对照组及阴性对照组中 miR-221 表达量显著上调($P < 0.01$), H9c2 细胞活力降低($P < 0.01$), 细胞凋亡率显著提高($P < 0.01$), Bax 及 PTEN 表达量上调($P < 0.01$), Bcl-2 及 p-AKT 表达量下调($P < 0.01$)。与模型对照组及阴性对照组比较, 抑制组中 miR-221 表达量显著下调($P < 0.01$), H9c2 细胞活力提高($P < 0.01$), 细胞凋亡率显著降低($P < 0.01$), Bax 及 PTEN 表达量下调($P < 0.01$), Bcl-2 及 p-AKT 表达量上调($P < 0.01$)。**结论** miR-221 低表达能显著抑制 H₂O₂ 诱导的 H9c2 心肌细胞氧化应激损伤, 与调控 PTEN/AKT 信号通路有关。

【关键词】 miR-221; H9c2 心肌细胞; 氧化应激; 凋亡; PTEN/AKT 信号通路

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 05-0083-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.05.018

The role of miR-221 in the injury induced by hydrogen peroxide in rat myocardial cells

FU Li-zhen¹, HUANG Mao-qin², LAO Zhi-yong¹, XIAO Meng-Sheng¹, ZHU De-kang¹

(1. Department of Hainan Nongken General Hospital, Haikou 570203, China;

2. Department of Cardiology 2 Hainan Nongken General Hospital, Haikou 570203)

【Abstract】 Objective To explore the role of miR-221 in the injury induced by hydrogen peroxide (H₂O₂) in rat myocardial cells (H9c2). **Methods** The viability of H9c2 cell induced by cell different concentrations of H₂O₂ was determined by MTT. The expression of miR-221 was detected by RT-PCR method. The miR-221 inhibitor and negative control were transferred into H9c2 cells by Lipofectamine 2000, then the cells were divided into normal control group, model control group (H₂O₂ group), negative control group (H₂O₂ + negative control group), inhibition group (H₂O₂ + miR-221 inhibitor group). The cell viability was measured by MTT assay. Cell apoptosis was detected by acridine orange staining method. The expression of Bcl-2, Bax, phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN), p-protein kinase B (AKT) were assayed by Western Blot. **Results** 0, 25, 50, 100, 200, 400 μmol/L H₂O₂ inhibited H9c2

cell activity gradually, of which 200 mol/L inhibition of cell viability moderate, so as a subsequent induction dose. Compared with normal control group, cell viability was decreased ($P < 0.01$), cell apoptotic rate was increased ($P < 0.01$), the expression of Bax and PTEN was upregulated ($P < 0.01$), the expression of Bcl-2 and p-AKT was downregulated ($P < 0.01$) in model control group and negative control group. Compared with model control group and negative control group, inhibition group proves the contrary. **Conclusions** Down-expression of miR-221 could significantly inhibit oxidative stress damage in H9c2 cells, which related to regulation of PTEN/AKT signal pathway.

【Key words】 miR-221; H9c2 myocardial cell; Oxidative stress; Apoptosis; PTEN/AKT signal pathway

在正常生理情况下,机体内氧自由基及活性氧的生成和清除处于动态平衡,而在病理情况下,活性氧的生成远大于机体清除能力后,会造成组织和细胞氧化应激损伤。大量研究证实,心血管疾病心肌梗死,心力衰竭,心肌重塑,心肌缺血及心肌缺血再灌注等病理条件下,机体会产生大量的氧自由基及活性氧,造成心肌组织及细胞氧化应激损伤,使得心肌细胞大量的凋亡或者坏死,加重病情,并造成恶性循环。其中细胞坏死一般是发生在心肌缺血或者缺血再灌注的终末阶段,而心肌细胞凋亡贯穿于整个心血管疾病病理过程。因此,抑制氧化应激引起的心肌细胞凋亡,对于心血管疾病的治疗将具有显著的改善作用^[1,2]。miRNA 是一类具有 18~23 nt 氨基酸的保守的内源性非编码 RNA 分子,能结合于其下游靶基因 mRNA 的 3' UTR 端,进而对基因进行转录后水平调控,从而参与细胞的生长,凋亡,增殖,凋亡,迁移等生物学行为,也因此,miRNA 与多种疾病的发生发展密切相关,包括心血管疾病^[3,4]。但是 miRNA 在心血管疾病的氧化应激损伤中的研究较少,所以本研究将选取一个 miRNA,探讨其在心肌氧化应激中的作用。研究已显示 miR-221 在心肌梗死,心力衰竭等高表达,且 miR-221 与心肌氧化应激密切相关^[5-7],但是具体的机制尚未见报道,因此,本研究将探讨 miR-221 在过氧化氢(H_2O_2)诱导的大鼠心肌细胞(H9c2)损伤中的作用及具体机制。

1 材料和方法

1.1 试剂与仪器

大鼠心肌细胞 H9c2 购于中国科学院上海细胞库。兔抗 Bax, Bcl-2, PTEN, AKT, p-AKT, GAPDH 单克隆抗体购自美国 Epitomics 公司;辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(H+L), BCA 试剂盒购自碧云天生物技术研究所;Lipofectamine 2000, trizol 试剂盒,一步法 RT-PCR 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;胎

牛血清, DMEM 培养基, MTT 购自美国 Gibco 公司。miR-221 inhibitor(5'-GAAACCCAGCAGACAAUGUAGCU-3')及 miR-221 阴性对照(正义链:5'-CGAACGUGUCACGUTT-3',反义链:5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3')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,迷你转印电泳仪购自北京六一仪器厂;ChemiDoc™ XRS 凝胶成像系统购自美国 Bio-Rad 公司;Tecan Infinite F200/M200 型多功能酶标仪购自瑞士 TECAN 集团公司;荧光显微镜购自德国 Leica 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 不同浓度的 H_2O_2 处理 H9c2 心肌细胞

将处于生长对数期的 H9c2 细胞接种于 96 孔板后,24 h 后,0、25、50、100、200、400 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 作用 48 h,采用 MTT 法检测 H_2O_2 对 H9c2 心肌细胞活力的影响。

1.2.2 细胞转染及分组

通过 Lipofectamine 2000 将 miR-21 inhibitor 及阴性对照转染到 H9c2 细胞中,转染浓度分别为 200 nm 和 200 nm,6 h 后换成含 10% 血清的 DMEM 培养基,37℃, CO_2 培养箱培养 48 h, RT-PCR 法检测 miR-221 inhibitor 转染效果。另将实验分为 4 组,正常对照组,模型对照组(H_2O_2 组),阴性对照组(H_2O_2 + 阴性对照组),抑制组(H_2O_2 + miR-221 inhibitor 组)。

1.2.3 RT-PCR 检测 miR-221 表达量

采用 trizol 试剂盒提取总 RNA,并检测 RNA 纯度。接着一步法 RT-PCR 试剂盒将 RNA 逆转录,最后进行 realtime-PCR,采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法对目的基因进行定量分析。引物设计如下,miR-221 上游引物:5'-GGGCATGAACCTGGCATAC-3',下游引物:5'-AGGTAGCCTGAAACCCAGCA-3'。GAPDH 上游引物:5'-AGCCACATCGCTCAGACA-3',下游引物:5'-TGGACTCCACGACGTACT-3'。引物分别加入 25 μL 的 PCR 反应体系中,反应条件为 94℃ 变性 45 s, 59℃ 复性 45 s, 72℃ 延伸 60 s,共 35 个循环。

1.2.4 MTT 法检测细胞活力

按“1.2.1”或“1.2.2”方法处理细胞,将细胞继续培养 48 h,每孔加入终浓度为 5 mg/mL 的 MTT 20 μ L,4 h 后,将上清液弃掉,每孔加入 150 μ L 的二甲基亚砜,10 min 后,酶标仪 570 nm 处测定 OD 值。

1.2.5 吖啶橙染色检测细胞凋亡

按“1.2.2”方法处理细胞,将细胞继续培养 48 h,收集细胞,并加入 $1 \times$ Buffer A 重悬细胞,接着将细胞浓度调整为 10^6 /mL,取 95 μ L 细胞悬液加入 5 μ L 的吖啶橙染液,并混合均匀,室温条件下避光染色 15 min,后将细胞悬液接种于载玻片上,并盖上盖玻片,于荧光显微镜下观察并拍照,利用 Image pro plus6.0 软件分析图像计算细胞凋亡率(%)。其中正常细胞被均为染成黄绿色,而凋亡细胞胞质浓缩,细胞核破碎成点状,呈致密浓染的绿色。

1.2.6 Western-blot

按“1.2.2”方法处理细胞,将细胞继续培养 48 h,收集细胞加入裂解液裂解 30 min,离心,获得蛋白样品。用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度。蛋白样品煮沸变性 10 min,上样,进行十二烷基苯磺酸钠凝胶电泳 1~2 h,转膜 30~40 min,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,一抗溶液(兔抗 Bax, Bcl-2, PTEN, AKT, p-AKT, GAPDH 单克隆抗体,稀释度皆为 1:100)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日二抗溶液(辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(H+L),稀释度为 1:200)室温孵育 1 h,并滴加化学曝光液,于凝胶成像系统中曝光。

1.3 统计学方法

实验数据通过采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组之间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

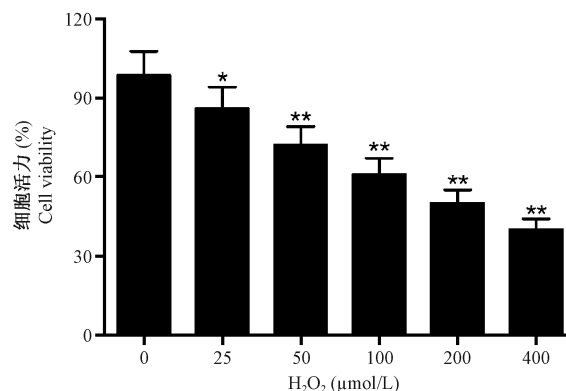
2 结果

2.1 H₂O₂ 对 H9c2 细胞活力的影响

如图 1 所示,0、25、50、100、200、400 μ mol/L H₂O₂ 处理 H9c2 心肌细胞 48 h 后,MTT 实验结果表明,随着 H₂O₂ 剂量浓度的增加,H9c2 细胞活力逐渐下降,差异有显著性($P < 0.01$)。在 200 μ mol/L 时,既能显著抑制 H9c2 细胞活力,又不会使大量细胞凋亡,所以选此剂量浓度作为后续实验研究的诱导剂量。

2.2 miR-221 在 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞中的表达量

与正常对照组(0.18 ± 0.02)比较,模型对照组(0.94 ± 0.09)细胞中 miR-221 表达量显著提高,差异有显著性($P < 0.01$)。



注:与 0 μ mol/L H₂O₂ 比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

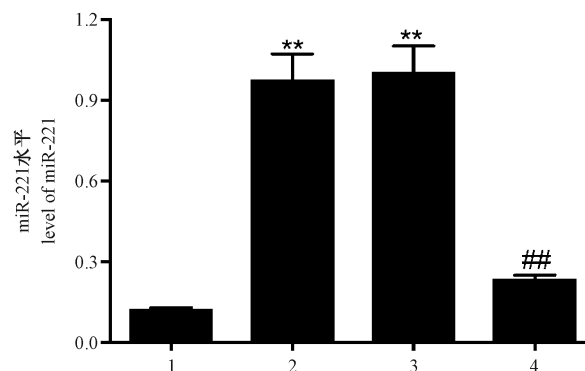
图 1 H₂O₂ 对 H9c2 细胞活力的影响

Note. Compared with 0 μ mol/L H₂O₂, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Fig. 1 Effect of H₂O₂ on H9c2 cell viability

2.3 miR-221 inhibitor 的转染效果

如图 2 所示,与正常对照组比较,模型对照组及阴性对照组中 miR-221 表达量显著提高,差异有显著性($P < 0.01$);与模型对照组及阴性对照组比较,抑制组中 miR-221 表达量显著降低,差异有显著性($P < 0.01$)。



注:(1)正常对照组;(2)模型对照组;(3)阴性对照组;(4)抑制组;与正常对照组比较, ** $P < 0.01$;与模型对照组及阴性对照组比较, ## $P < 0.01$ 。

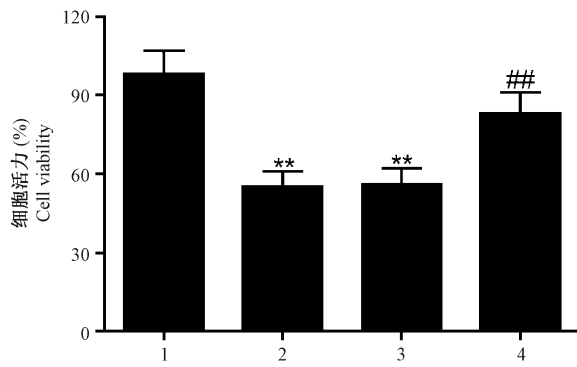
图 2 miR-221 inhibitor 的转染效果

Note. (1) normal control group; (2) model control group; (3) negative control group; (4) inhibition group; Compared with normal control group, ** $P < 0.01$; Compared with model control group and negative control group, ## $P < 0.01$.

Fig. 2 Effect of miR-221 inhibitor transfection

2.4 miR-221 inhibitor 对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞活力的影响

如图 3 所示,与正常对照组比较,模型对照组及阴性对照组中细胞活力显著降低,差异有显著性($P < 0.01$);与模型对照组及阴性对照组比较,抑制组中细胞活力显著提高,差异有显著性($P < 0.01$)。



注: (1) 正常对照组; (2) 模型对照组; (3) 阴性对照组; (4) 抑制组; 与正常对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型对照组及阴性对照组比较, ## $P < 0.01$ 。

图 3 miR-221 inhibitor 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞活力的影响

Note. (1) normal control group; (2) model control group; (3) negative control group; (4) inhibition group; Compared with normal control group, ** $P < 0.01$; Compared with model control group and negative control group, ## $P < 0.01$.

Fig. 3 Effect of miR-221 inhibitor on viability of H9c2 cell induced by H_2O_2

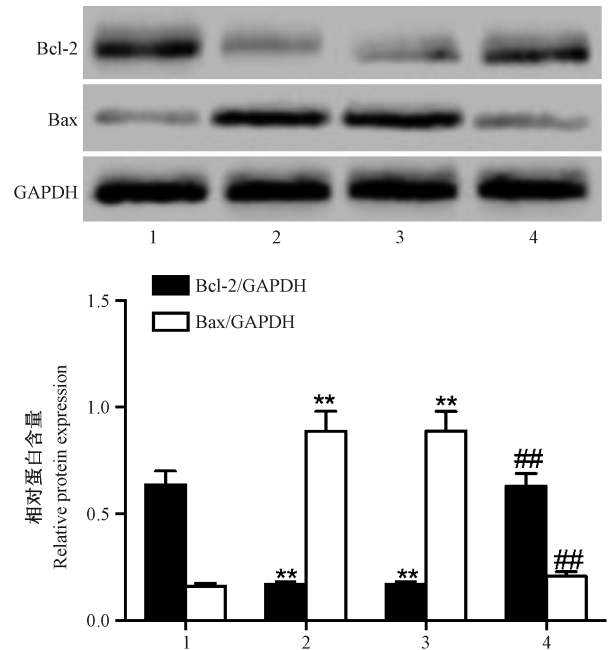
2.5 miR-221 inhibitor 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞凋亡的影响

如图 4 所示, 与正常对照组 (3.47 ± 0.35) 比较, 模型对照组 (45.49 ± 4.56) 及阴性对照组 (43.97 ± 4.40) 中细胞凋亡率显著提高, 差异有显著性 ($P < 0.01$); 与模型对照组及阴性对照组比较, 抑制组 (7.21 ± 0.72) 中细胞凋亡率显著降低, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。

2.6 miR-221 inhibitor 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞中 Bax 及 Bcl-2 表达量的影响

如图 5, 与正常对照组比较, 模型对照组及阴性

对照组中 Bax 表达量上调, Bcl-2 表达量下调, 差异有显著性 ($P < 0.01$); 与模型对照组及阴性对照组比较, 抑制组中 Bax 表达量下调, Bcl-2 表达量上调, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。

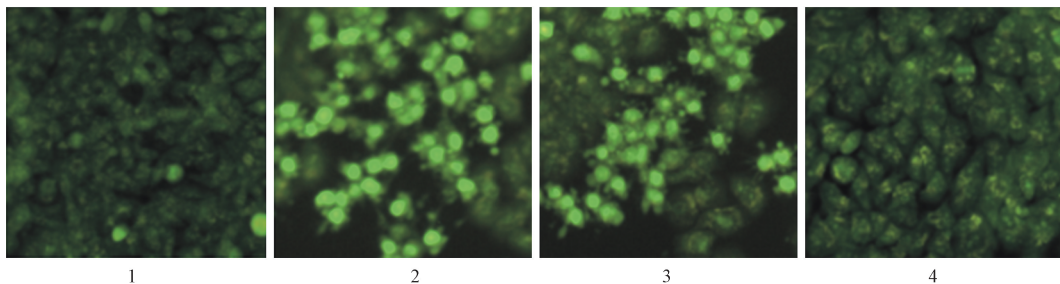


注: (1) 正常对照组; (2) 模型对照组; (3) 阴性对照组; (4) 抑制组; 与正常对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型对照组及阴性对照组比较, ## $P < 0.01$ 。

图 5 miR-221 inhibitor 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞中 Bax, Bcl-2 表达量的影响

Note. (1) Normal control group; (2) Model control group; (3) Negative control group; (4) Inhibition group; Compared with normal control group, ** $P < 0.01$; Compared with model control group and negative control group, ## $P < 0.01$.

Fig. 5 Effect of miR-221 inhibitor on the expression of Bax and Bcl-2 in H9c2 cell induced by H_2O_2



注: (1) 正常对照组; (2) 模型对照组; (3) 阴性对照组; (4) 抑制组。

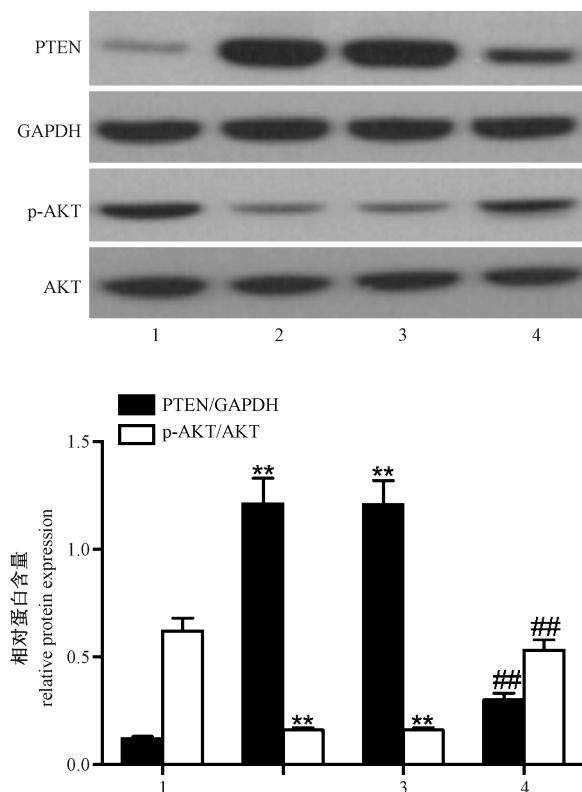
图 4 miR-221 inhibitor 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞凋亡的影响 ($\times 200$)

Note. (1) Normal control group; (2) Model control group; (3) Negative control group; (4) Inhibition group.

Fig. 4 Effect of miR-221 inhibitor on viability of H9c2 cell induced by H_2O_2

2.7 miR-221 inhibitor 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞中 PTEN 及 p-AKT 表达量的影响

如图 6 所示,与正常对照组比较,模型对照组及阴性对照组中 PTEN 表达量上调,p-AKT 表达量降低,差异有显著性($P < 0.01$);与模型对照组及阴性对照组比较,抑制组中 PTEN 表达量下调,p-AKT 表达量上升,差异有显著性($P < 0.01$)。



注:(1)正常对照组;(2)模型对照组;(3)阴性对照组;(4)抑制组;与正常对照组比较,** $P < 0.01$;与模型对照组及阴性对照组比较,## $P < 0.01$ 。

图 6 miR-221 inhibitor 对 H_2O_2 诱导的 H9c2

细胞中 PTEN 及 p-AKT 表达量的影响

Note. (1) Normal control group; (2) Model control group; (3) Negative control group; (4) Inhibition group; Compared with normal control group, ** $P < 0.01$; Compared with model control group and negative control group, ## $P < 0.01$.

Fig. 6 Effect of miR-221 inhibitor on the expression of PTEN and p-AKT in H9c2 cell induced by H_2O_2

3 讨论

1993 年 Lee 首次在研究线虫的发育调控过程中发现了 miRNA,并命名为 Lin-4,尔后 2000 年 Reinhart 也在线虫发现了另一个 miRNA (Line-7),因此 miRNA 迅速的成为生命科学领域的关注热点。miRNA 是一类长度约为 18-25 nt 的高度保守的小

RNA,能通过与其靶基因的 3'-UTR 区域结合,调控基因的转录后水平,从而参与细胞生长,增值,分化与凋亡的调控,与机体的发育、代谢及众多疾病的进展密切相关。近些年研究发现 miRNA 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^[8,9]。而且研究也进一步显示 miRNA 与心血管基本氧化应激损伤密切相关,如 Xu 等^[10]研究显示 miR-19b 在 H_2O_2 诱导的 H9c2 心肌细胞中高表达,下调 miR-19b 表达能显著抑制 H_2O_2 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡。Li 等^[11]研究显示 miR-139 在 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞中低表达,上调 miR-139 表达能显著抑制 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞凋亡。而 miR-221 被发现较早,是从斑马鱼中获得并克隆的 miRNA,后来又在白血病细胞株 HL-60 进一步克隆获得。miR-221 一直以来都被认为具有抑癌基因,在肺癌,乳腺癌,胃癌等多种肿瘤中高表达,并与 miR-222 是同一个 onco-miR,都位于 X 染色体 p11.3 区^[12]。而且 Souza 等^[5]研究也表明 miR-221 在心力衰竭高表达。Coskunpinar 等^[6]研究证实心肌梗死组织中多种循环 miRNA 表达量异常,其中循环 miR-221 表达量最高,是正常组的 3.89 倍,且与心肌损伤标志物超敏心肌肌钙蛋白 T 及 GARCE、Synthax 评分密切相关,提示循环 miR-221 是心肌梗死早期诊断新的标记物。另外 miR-221 与糖尿病心肌氧化应激密切相关^[7],对缺氧再复氧引起的 H9c2 细胞凋亡具有保护作用^[13]。所以本研究推测 miR-221 与心肌氧化应激损伤密切相关。

H_2O_2 作为活性氧中的一种,常常被用来模拟心肌细胞、神经元细胞等细胞的氧化应激损伤模型,因此本研究首先采用不同浓度的 H_2O_2 诱导心肌细胞,并结合 MTT 实验发现 200 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 能降低 H9c2 细胞一半活力,且此诱导剂量与以往文献报道一致^[14,15],因此被用于后续实验诱导剂量。接着利用 RT-PCR 法检测 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞中 miR-221 的表达量,结果表明 H_2O_2 组中 miR-221 表达量上升,与 Souza 等^[5],Coskunpinar 等^[6]研究结果一致,RT-PCR 结果进一步表明 miR-221 inhibitor 转染的成功。所以我们接着利用 MTT 法及吖啶橙检测 miR-221 inhibitor 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞活力及凋亡的影响,结果表明抑制组细胞活力显著提高,细胞凋亡率显著降低,提示 miR-221 inhibitor 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞凋亡具有抑制作用。

细胞的凋亡受众多信号通路调控,PI3K/AKT

信号通路就是其中一种,其具有抗凋亡通路之称,能通过调控下游多种靶蛋白如 Bax 及 Bcl-2 的表达,从而参与调控细胞生长、凋亡、分化、迁移、侵袭及血管生成等过程^[16, 17]。而同时 PI3K/AKT 信号通路上游蛋白 PTEN 是 miR-221 的下游靶基因^[12]。PTEN 能将三磷酸磷脂酰肌醇(PIP3)去磷酸化为二磷酸磷脂酰肌醇(PIP2),从而负调控 PI3K/AKT 信号通路,在细胞凋亡中起重要作用。研究显示 miR-221 通过调控 PTEN/AKT 信号通路及 Bax、Bcl-2 的表达参与多种肿瘤细胞的发生发展^[18-20]。所以本研究继续探讨 miR-221 inhibitor 对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞中 PTEN/AKT 信号通路的影响,结果表明 miR-221 inhibitor 能显著下调 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞中 PTEN 及 Bax 表达,上调 p-AKT 及 Bcl-2 表达,从而说明下调 miR-221 表达能通过激活 PTEN/AKT 信号通路,并调控下游蛋白表达,从而抑制 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞凋亡。

综上所述,miR-221 在 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞中高表达,下调 miR-221 表达能通过调控 PTEN/AKT 信号通路,进而调节下游蛋白 Bax 及 Bcl-2 表达,从而抑制 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞凋亡。

参考文献:

- [1] 王全伟,凡文博,王智昊,等. 氧化应激与心血管疾病关系的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2014,34(1):270-273.
- [2] Bello-Klein A, Khaper N, Llesuy S, *et al.* Oxidative stress and antioxidant strategies in cardiovascular disease[J]. Oxid Med Cell Longev, 2014,2014:678741.
- [3] Gambari R, Brognara E, Spandidos DA, *et al.* Targeting oncomiRNAs and mimicking tumor suppressor miRNAs: New trends in the development of miRNA therapeutic strategies in oncology (Review)[J]. Int J Oncol, 2016,49(1):5-32.
- [4] Nouraei N, Mowla SJ. miRNA therapeutics in cardiovascular diseases: promises and problems[J]. Front Genet, 2015, 6:232.
- [5] Souza RW, Fernandez GJ, Cunha JP, *et al.* Regulation of cardiac microRNAs induced by aerobic exercise training during heart failure[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2015,309(10):H1629-H1641.
- [6] Coskunpinar E, Cakmak HA, Kalkan AK, *et al.* Circulating miR-221-3p as a novel marker for early prediction of acute myocardial infarction[J]. Gene, 2016,591(1):90-96.
- [7] Costantino S, Paneni F, Luscher TF, *et al.* MicroRNA profiling unveils hyperglycaemic memory in the diabetic heart[J]. Eur Heart J, 2016,37(6):572-576.
- [8] 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.
- [9] 陶瑾,李素芳,徐明. MicroRNA:新的心血管疾病生物标志物[J]. 生理科学进展, 2011,42(5):335-339.
- [10] Xu J, Tang Y, Bei Y, *et al.* miR-19b attenuates H₂O₂-induced apoptosis in rat H9C2 cardiomyocytes via targeting PTEN[J]. Oncotarget, 2016,7(10):10870-10878.
- [11] Li T, Liang S, Zhang Y, *et al.* Effects of microRNA-139 on myocardial cell injury induced by oxidative stress[J]. Int J Clin Exp Med, 2015,8(11):19994-20001.
- [12] 邢慧慧,刘晓峰,刘长江,等. miR-221 在肿瘤中的研究进展[J]. 医学研究杂志, 2014,43(8):14-16.
- [13] Chen Q, Zhou Y, Richards AM, *et al.* Up-regulation of miRNA-221 inhibits hypoxia/reoxygenation-induced autophagy through the DDIT4/mTORC1 and Tp53inp1/p62 pathways[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016,474(1):168-174.
- [14] 钟源,孙善全. 番茄红素对心肌细胞氧化应激损伤的保护作用[J]. 重庆医学, 2015,44(9):1157-1161.
- [15] Wang W, Wang L, Yang H, *et al.* Protective effects of yindanxinnaotong capsule in a rat model of myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. J Tradit Chin Med, 2014,34(6):699-709.
- [16] Miyata S, Fukuda Y, Tojima H, *et al.* Mechanism of the inhibition of leukemia cell growth and induction of apoptosis through the activation of ATR and PTEN by the topoisomerase inhibitor 3EZ, 20Ac-ingenol[J]. Leuk Res, 2015,39(9):927-932.
- [17] 韩贵宾,张寿,孙薇薇,等. 尼古丁抑制 MIA 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡[J]. 中国比较医学杂志, 2016,26(3):40-45.
- [18] Zhu J, Liu F, Wu Q, *et al.* MiR-221 increases osteosarcoma cell proliferation, invasion and migration partly through the downregulation of PTEN[J]. Int J Mol Med, 2015,36(5):1377-1383.
- [19] Yang W, Yang Y, Xia L, *et al.* MiR-221 Promotes Capan-2 Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cells Proliferation by Targeting PTEN-Akt[J]. Cell Physiol Biochem, 2016,38(6):2366-2374.
- [20] Ye Z, Hao R, Cai Y, *et al.* Knockdown of miR-221 promotes the cisplatin-inducing apoptosis by targeting the BIM-Bax/Bak axis in breast cancer[J]. Tumour Biol, 2016,37(4):4509-4515.

[收稿日期]2016-09-14