

三七总皂苷调控 miRNA-466b 抑制急性心梗大鼠 心肌细胞凋亡的研究

刘咏梅¹, 孙秀玲², 刘瑞华¹, 王阶^{1*}

(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 2. 山东中医药高等专科学校, 山东烟台 264199)

[摘要] 目的:观察三七总皂苷(panax notogin seng, PNS)对急性心肌梗死大鼠 miRNA-466b 及调控的细胞凋亡相关蛋白表达的影响,从转录后水平探讨 PNS 抗凋亡作用的分子机制。方法:36 只雄性 Wistar 大鼠,随机分为假手术组、模型组和 PNS 治疗组。结扎大鼠左冠状动脉前降支制作急性心肌梗死模型,PNS 治疗组于术前 4 h,术后第 1 天和第 2 天分别肌肉注射 PNS (1.429 mg·g⁻¹),采用 TUNEL,RT-PCR 及 Western blot 等方法,观察各组大鼠心肌组织凋亡情况,检测 miRNA-466b 及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(Caspase-3),Caspase-9 和 Bcl2L13 基因和蛋白表达。结果:与模型组比较,PNS 治疗组可明显减少心梗面积和心肌细胞凋亡($P < 0.05$);模型组大鼠心肌组织 miRNA-466b 表达与假手术组没有明显变化,而经 PNS 干预后 miRNA-466b 表达显著上升,与模型组比较有显著性差异($P < 0.01$);与假手术组比较,急性心梗模型组大鼠心肌组织 Caspase-3 表达明显升高($P < 0.05$),PNS 则能明显下调模型组大鼠 Caspase-3 表达($P < 0.05, P < 0.01$),同时急性心梗大鼠造模后 Bcl2L13 和 Caspase-9 的 mRNA 和蛋白变化不明显,而 PNS 干预后则能显著下调 Bcl2L13 和 Caspase-9 的表达($P < 0.05, P < 0.01$)。结论:PNS 对急性心梗大鼠心肌细胞凋亡有显著保护作用,其作用机制可能是通过上调 miRNA-466b 表达,下调 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达来发挥拮抗凋亡、保护细胞的作用。

[关键词] 急性心肌梗死;三七总皂苷;细胞凋亡;microRNA

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)22-0006-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015220006

Panax Notogin Seng Regulation of miRNA-466b to Inhibit Cardiomyocyte Apoptosis in Rats with Acute Myocardial Infarction LIU Yong-mei¹, SUN Xiu-ling², LIU Rui-hua¹, WANG Jie^{1*} (1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China; 2. Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai 264199, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of panax notogin seng (PNS) on the expression of miRNA-466b and its apoptosis related proteins in myocardial cells of acute myocardial infarction (AMI) animal model, and to explore the post transcriptional molecular mechanism of the anti-apoptosis effect of PNS. **Method:** The 36 male wistar rats were randomly divided into 3 groups: sham operation group, model group, and PNS group. Coronary ligation of left anterior descending branch was done to establish acute myocardial infarction (AMI) models. PNS group rats were intramuscularly injected with PNS (1.429 mg·g⁻¹) respectively on 4 h before AMI, 1 day and 2 days after AMI. TUNEL, RT-PCR and Western blot methods were used to observe the apoptosis of myocardial tissue in rats, and detect the expression of miRNA-466b, Caspase-3, Caspase-9 and Bcl2L13 genes and proteins. **Result:** Compared with model group, PNS treatment group could significantly reduce infarction area and apoptosis of myocardial cells ($P < 0.05$), and there was no difference in miRNA-466b expression level between model group and sham operation group, while miRNA-466b in PNS group was significantly up-regulated, with significant difference with model group ($P < 0.01$). Compared with sham operation group, the expression of Caspase-3 mRNA and protein in model group was significantly increased ($P < 0.05$), and PNS can significantly down-regulate it ($P < 0.05, P <$

[收稿日期] 20150711(006)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81173166,81473561)

[第一作者] 刘咏梅,博士,研究员,从事中药心血管药理工作,Tel:010-88001437,E-mail:lymsd@163.com

[通讯作者] *王阶,博士,主任医师,从事中西医结合心血管临床与基础工作,Tel:010-83114258,E-mail:wangjie0103@126.com

0.01), and changes in expression of Bcl2L13 and Caspase-9 mRNA and protein were not evident in model group, while PNS can significantly down-regulate the expression of these two indicators ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** PNS plays a key role in the protection of myocardial cells in rats with AMI, probably by up-regulating miRNA-466b, down-regulating Bcl2L13, Caspase-3 and Caspase-9 protein expression to inhibit cell apoptosis.

[**Key words**] acute myocardial infarction; panax notoginseng; cellular apoptosis; microRNA

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是严重威胁人类健康的疾病, 如何有效减少心肌损伤引起的细胞凋亡、保护心脏功能, 仍然是心血管领域临床研究的重要课题。研究表明三七总皂苷 (panax notoginseng saponins, PNS) 可通过影响半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (Caspase) 凋亡信号传导和 Bcl-2 等凋亡相关基因表达来抑制心肌细胞凋亡, 对急性心肌梗死发挥保护作用^[1-2]。微小 RNA (microRNAs, miRNAs) 是一种内源性的、小的、非编码 RNA 分子, 新近研究表明, miRNA 在心血管疾病中发挥重要的调控作用, 维持和恢复心脏等靶器官中相应 miRNA 的稳定表达可能成为心血管等疾病治疗的一个新靶点^[3]。目前已经发现多个与心肌细胞凋亡相关的 miRNA^[4-6], 它们可以通过影响不同凋亡通路抑制或促进凋亡, 近来已有研究开始探讨药物是否可以通过调控 miRNAs 及其靶基因而在心肌细胞凋亡过程中发挥保护作用^[7]。笔者前期研究中发现, 三七总皂苷可以使梗死大鼠心肌组织中 miRNA-466 表达上调, 而有学者发现 miRNA-466b 可以负调控凋亡相关基因 Bcl2L2, Dad1, Birc6, Stat5a 和 Smo 的表达来抑制细胞凋亡^[8]。本研究拟通过观察三七总皂苷对急性心肌梗死大鼠 miRNA-466b 及调控的细胞凋亡相关蛋白表达的影响, 从转录后调控水平为三七总皂苷治疗急性梗死作用机制提供研究的新视角。

1 材料

1.1 动物 清洁级雄性 Wistar 大鼠 (200 ~ 250 g), 36 只, 购自中国医学科学院动物中心, 合格证号 SCXK(京)2006-0009。

1.2 药物及试剂 三七总皂苷肌肉注射 (注射用血塞通, 昆明制药集团股份有限公司, 批号 10FB02), Trizol 试剂 (美国 Invitrogen 公司, 批号 15596018), SYBR Green MasterMix (美国 ABI 公司, 批号 4367659), Fermentas K1622 RT 逆转录试剂盒 (马来西亚 MBI 公司, 批号 00044977), 兔抗大鼠活化 Bcl2L13 (批号 sc-366132), Caspase-3 (批号 sc-7148) 和 Caspase-9 (批号 sc-7885) 多克隆抗体, 均购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司; HRP 标记的

二抗 (美国 Santa Cruz 公司, 批号 sc-45101), POD 细胞凋亡试剂盒 TUNEL (瑞士 Roche 公司, 批号 11684817910), miRcute miRNA 提取分离试剂盒 (批号 N2424), miRcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒 (批号 N2313) 和 miRcute miRNA 荧光定量检测试剂盒 (批号 N2428) 均购自天根生化科技 (北京) 有限公司。

1.3 仪器 7900HT 型荧光定量 PCR 仪 (美国应用生物公司), Thermo NanoDrop 2000 型分光光度计 (基因有限公司), CF15D2 型高速冷冻离心机 (日本 Hitachi 公司), mini PROTEAN 型垂直电泳仪和电转移仪 (美国 Bio-Rad 公司), ImageMaster 凝胶成像分析仪 (Applied Biosystems 公司)。

2 方法

2.1 大鼠 AMI 模型建立 动物麻醉后, 行气管切开及气管插管后, 采用左胸正中旁切口开胸, 暴露心脏, 于左心耳与肺动脉圆锥之间找到左冠状动脉, 在动脉起始点下方 2 mm 处用 6/0 丝线穿线结扎左冠状动脉前降支, 记录肢体导联心电图, 以心电图 ST 段持续抬高作为 AMI 模型复制成功的标志^[9], 术后腹腔内注射青霉素钠抗感染。

2.2 动物分组 制作心肌梗死模型 (手术组 24 只); 假手术组 12 只仅在相应部位穿线但不结扎。梗死后存活 18 只大鼠随机分为 2 组, 三七总皂苷 (PNS) 治疗组各 9 只, 于术前 4 h, 术后第 1 天和第 2 天分别进行三七总皂苷肌肉注射 ($7 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$), 注射用量 $1.429 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 模型组 9 只和假手术组 12 只给予等量生理盐水。

2.3 标本的采集和处理 大鼠于手术造模后第 3 天麻醉处死, 取左室缺血区心肌, 并以心肌纵轴方向将其分为 3 份, 1 份置于 4% 多聚甲醛溶液内固定 24 h, 常规石蜡包埋, 用于末端脱氧核苷酸转移酶介导 dUTP 缺口末端标记 (TUNEL) 法检测, 另 2 份分装入 DEPC 处理的 EP 管后放入液氮中, 以备 RT-PCR 和 Western blot 检测。

2.4 观察指标

2.4.1 心肌细胞凋亡 按照 TUNEL 细胞凋亡试剂盒说明书操作, 棕黄色细胞核为阳性细胞核。每张

切片于 400 倍显微镜下观察 10 个视野,计数凋亡细胞数和细胞总数,算出凋亡指数 (apoptotic index, AI)。

2.4.2 miRNA-466b, Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 mRNA 的表达

2.4.2.1 miRNA-466 的 RT-PCR 检测

大鼠心肌组织按照 miRcute miRNA 试剂盒提取分离 RNA,进行 cDNA 第一链合成并进行荧光定量检测。反应体系:2 × miRcute miRNA Premix 12.5 μL,上下游引物各 0.5 μL, miRNA 第一链 cDNA 1 μL, 50 × ROX Reference Dye 2 μL, 无 RNase 水 8.5 μL。反应条件:94 °C 2 min;94 °C 20 s, 57 °C 34 s, 40 个循环。miRNA-466b 和内参 U6 引物由天根生化科技(北京)有限公司合成。

2.4.2.2 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 mRNA 的 RT-PCR 检测

根据 Trizol 试剂说明书抽提心肌组织总 RNA,紫外分光光度计测定波长 260, 280 nm 处吸光度 A, 计算 RNA 浓度。样品中加入相应试剂,42 °C 反转录 60 min。聚合酶链式反应体系为:反转录产物 1 μL, 无 RNase 水 7 μL, 上下游引物各 1 μL, SYBR Green 荧光染料 10 μL。反应条件为:94 °C 变性 5min, 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 50 s, 循环 40 次, 72 °C 8 min。引物序列见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for real-time PCR

基因	引物序列	扩增产物长度/bp
GAPDH	上游 5'-CCATGGAGAAGGCTGGG-3'	195
	下游 5'-CAAAGTTGTCATGGATGACC-3'	
Bcl2L13	上游 5'-CACGGAGCAGAGTTCATCATT-3'	179
	下游 5'-TGCCAAGACGTTGTCAGTGT-3'	
Caspase-3	上游 5'-TGGTTTTGTGACAGTTGACCA-3'	184
	下游 5'-ACAAATGCTGGTGGATCGTAG-3'	
Caspase-9	上游 5'-GCCTCATCATCAACAACGTG-3'	169
	下游 5'-ATCTCCATCAAAGCCGTGAC-3'	

程序运行结束后,分析各基因的实时扩增曲线和溶解曲线。取 C_t 值(扩增动力曲线拐点),按 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算待测目的基因相对表达量。

2.4.3 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白的表达

心肌组织匀浆后留取上清,按 Lowry 法测定蛋白浓度。取等量组织蛋白样本,稀释后 100 °C 变性 3 min, 10% 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白质,4 °C 电转膜 80 min, 5% TBST 脱脂牛奶封闭 1 h, 然后与特异性一抗 4 °C 孵育过夜,洗膜,再与辣根过氧化物酶偶联的二抗室温

作用 1 h,充分洗涤后,用 ECL 试剂检测标本膜上的信号,X 射线片记录实验结果。以计算机成像和图像分析仪,测定 X 射线片上杂交条带的灰度值,代表蛋白的表达量。以 β -actin(1:1 000)作为内参。

2.5 统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠心肌细胞凋亡指数的影响

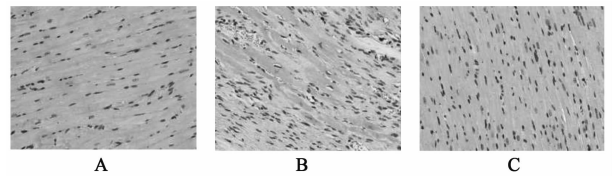
假手术组未见凋亡阳性细胞;模型组在梗死区(缺血区)、边缘区及非梗死区均有大量的心肌细胞凋亡出现($P < 0.01$),核小呈圆形或颗粒状,即细胞核染色质浓缩、边集,呈孤立、散在分布,见图 1;PNS 干预使大鼠不同部位的心肌细胞凋亡较模型组均有明显减少($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 三七总皂苷对大鼠心肌细胞凋亡指数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of PNS on apoptosis indexes of cardiac muscle in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /mg·g ⁻¹	n	梗死区 AI /%	边缘区 AI /%	非梗死区 AI /%
假手术	-	12	0	0	0
模型	-	9	63.79 ± 3.27 ²⁾	65.02 ± 0.47 ²⁾	57.93 ± 3.25 ²⁾
PNS	1.429	9	47.66 ± 5.12 ⁴⁾	43.61 ± 6.90 ⁴⁾	29.28 ± 10.19 ⁴⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3~5 同)。



A. 假手术组;B. 模型组;C. PNS 组(图 3 同)

图 1 三七总皂苷对大鼠心肌细胞凋亡的影响(TUNEL, ×400)

Fig. 1 Effects of PNS on apoptosis of myocardial cells (TUNEL, ×400)

3.2 对大鼠心肌组织 miRNA-466b mRNA 表达的影响

与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织 miRNA-466b 表达略有升高但不明显,而 PNS 组 miRNA-466b 表达明显升高,与假手术组和模型组比较有显著性差异($P < 0.01$)。见表 3。

3.3 对大鼠心肌组织 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 mRNA 表达的影响

与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织 Caspase-3 mRNA 表达明显升高($P < 0.05$),而 Bcl2L13 和 Caspase-9 mRNA 表达无

表 3 三七总皂苷对大鼠心肌组织 miRNA-466b mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of PNS on miRNA-466b mRNA expression of cardiac muscle in rats ($\bar{x} \pm s$)

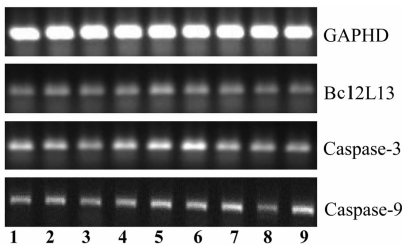
组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	n	miRNA-466b
假手术	-	12	2.58 ± 1.53
模型组	-	9	3.02 ± 2.63
PNS	1.429	9	6.42 ± 3.33 ⁴⁾

明显差异;经三七总皂苷干预后,大鼠心肌组织 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 mRNA 表达均显著降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 4, 图 2。

表 4 三七总皂苷对大鼠心肌组织 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effects of PNS on expression of Bcl2L13, Caspase-3 and Caspase-9 mRNA in cardiac muscle ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	n	Bcl2L13	Caspase-3	Caspase-9
假手术	-	12	1.86 ± 0.64	1.64 ± 0.31	1.55 ± 0.91
模型组	-	9	1.74 ± 0.30	2.27 ± 0.43 ¹⁾	1.58 ± 0.51
PNS	1.429	9	1.02 ± 0.30 ³⁾	1.32 ± 0.45 ³⁾	0.67 ± 0.35 ⁴⁾



1. 2. 3. 假手术组; 4. 5. 6. 模型组; 7. 8. 9. PNS 组

图 2 三七总皂苷对大鼠心肌组织 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 mRNA 表达的影响

Fig. 2 Effects of PNS on expression of Bcl2L13, Caspase-3 and Caspase-9 mRNA in cardiac muscle

3.4 对大鼠心肌组织 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达的影响 急性心梗模型组大鼠心肌组织 Caspase-3 蛋白表达明显升高, PNS 组与模型组比较又有显著性降低($P < 0.05, P < 0.01$), 提示 PNS 能明显下调 Caspase-3 表达($P < 0.05, P < 0.01$)。同时急性心梗大鼠造模后 Bcl2L13 和 Caspase-9 蛋白变化不明显, 而 PNS 干预后则能显著下调 Bcl2L13 和 Caspase-9 的表达($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 5, 图 3。

4 讨论

细胞凋亡在心肌缺血损伤的病理演变过程中占有重要的地位^[10]。在急性缺血早期, 心肌细胞死亡的主要形式就是凋亡, 凋亡伴随着心肌损伤病理演

表 5 三七总皂苷对大鼠心肌组织 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effects of PNS on protein expression of Bcl2L13, Caspase-3 and Caspase-9 in cardiac muscle ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	n	Bcl2L13	Caspase-3	Caspase-9
假手术	-	12	3.79 ± 2.02	3.20 ± 1.14	6.42 ± 3.33
模型组	-	9	3.13 ± 1.26	4.89 ± 2.09 ¹⁾	6.02 ± 2.63
PNS	1.429	9	1.97 ± 1.02 ³⁾	2.53 ± 1.04 ³⁾	2.58 ± 1.53 ⁴⁾

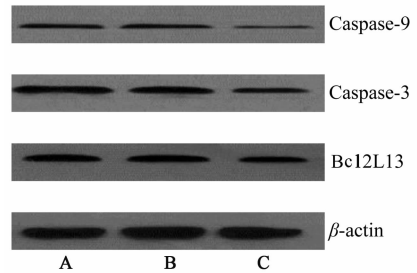


图 3 三七总皂苷对大鼠心肌组织 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达的影响

Fig. 3 Effects of PNS on protein expression of Bcl2L13, Caspase-3 and Caspase-9 in cardiac muscle

变全过程。抑制急性心缺血后心肌细胞凋亡, 增加存活心肌细胞数量, 无疑会有利于防治心肌缺血和促进心功能的恢复, 对患者的长期预后有益。

近年研究表明, 多种 miRNA 分子通过对靶基因的调控参与了心肌细胞凋亡的过程, 如 miRNA-1 通过转录后调控抑制 HSP60, HSP70 表达, miRNA-133 通过同时影响 Caspase-9 的转录和翻译过程参与了氧化应激诱导的细胞凋亡^[11], miRNA-1 也可通过抑制 IGF-1 参与了高糖诱导的凋亡反应^[12], miRNA-21 通过调控靶基因 PTEN 能剂量依赖性诱导平滑肌细胞增殖和同时抑制细胞凋亡^[13]。Cheng 等^[14]发现, 在用过氧化氢处理的心肌细胞中 miRNA-21 表达上调, 进一步研究发现, 心肌细胞中的翻译抑制因子 PDCIM (programmed cell death protein 4) 是 miRNA-21 的直接靶点。

在前期研究中, 笔者利用 microarray 技术筛选出三七总皂苷治疗组中 miRNA-126 和 miRNA-466b 表达较急性心梗大鼠模型组明显升高, 因此这 2 个 microRNAs 极有可能是三七总皂苷发挥抗心肌缺血的作用靶点。通过生物信息学分析, 发现与凋亡相关的 Bcl2 家族的 Bcl2L13 和 Caspase 家族的 Caspase-3, Caspase-9 可能是 miRNA-466b 的潜在靶基因, 因此, 笔者选定 miRNA-466b 及其靶蛋白 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 的作为探讨三七总皂苷抗心肌缺血作用机制的靶点。

中药三七具有活血化瘀、通脉活络,抑制血小板凝集、抗血栓、增加脑及冠脉血流量的作用,三七中含量最高的为三七总皂苷(PNS),三七总皂苷通过调控 Caspase 途径可以抑制氧化应激所致心肌细胞凋亡^[1],另外还有研究证明在急性心肌缺血模型大鼠中,三七皂苷可以通过增加 Bcl-2 和抑制 Caspase-3 基因和蛋白的表达来抑制和阻断急性心肌缺血大鼠心肌细胞过度凋亡的发生^[15]。

三七总皂苷的抗凋亡机制是否是通过调控 miRNA 分子来实现,笔者在本实验中进行了初步探讨。在本研究中,笔者在急性心梗大鼠心肌组织中检测到模型组大鼠心肌组织 miRNA-466b 表达与假手术组没有明显变化,而经三七总皂苷干预后,PNS 组 miRNA-466b 表达显著上升,与假手术组和模型组比较有显著性差异。

在本实验中,笔者通过定量 PCR 和 Western blot 技术检测了上述 miRNA-466b 及其潜在靶基因的 mRNA 和蛋白表达水平,结果表明,大鼠急性心梗后,Caspase-3 表达水平明显降低,表明急性心梗使大鼠心肌组织针对低氧所致心肌细胞凋亡和损伤出现应激反应;而 miRNA-466b 及其潜在靶基因 Bcl2L13 和 Caspase-9 没有发生明显改变。三七总皂苷则可以明显上调 miRNA-466b 表达,下调 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 mRNA 和蛋白表达,有理由推测 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 极有可能是 miRNA-466b 的作用靶点,其中 Caspase-3 有可能还受到其他 miRNA 的调控,这一结论有待进一步确认。本实验结果表明 PNS 对急性心梗大鼠心肌细胞凋亡有显著保护作用,其作用机制可能是通过上调 miRNA-466b 表达,下调 Bcl2L13, Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达来发挥拮抗凋亡、保护细胞的作用。

[参考文献]

[1] 邓海英,赖为国.三七皂苷 R₁ 对急性心肌缺血大鼠模型的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(10):266-268.
[2] 龚婉,肖扬,张萌,等.丹参总酚酸及三七总皂苷配伍对缺氧复氧损伤心肌细胞的保护作用研究[J].中国中药杂志,2013,38(7):1046-1051.
[3] Matkovich S J, Hu Y, Dorn G W. Regulation of cardiac microRNAs by cardiac microRNAs[J]. Circ Res, 2013, 113(1):62-65.

[4] van Rooij E, Olson E N. MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets[J]. J Clin Invest, 2007, 117(9):2369-2373.
[5] Ai J, Zhang R, Li Y, et al. Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 391(1):73-77.
[6] Xu C, Lu Y, Pan Z, et al. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and Caspase-9 in cardiomyocytes[J]. J Cell Sci, 2007, 120 (pt 17):3045-3052.
[7] 康波,刘红明,洪江,等.硫化氢调节 miRNA-455 表达抑制内质网应激介导的心肌细胞凋亡[J].医学研究生报,2014,27(12):1245-1249.
[8] Aliaksandr Druz, Chia Chu, Brian Majors, et al. A novel microRNA mmu-mir-466h affects apoptosis regulation in mammalian cells [J]. Biotechnol Bioeng, 2011, 108 (7):1651-1661.
[9] 睢大员,吕忠智,于小凤,等.益心口服液对急性心肌缺血大鼠心肌梗死面积和血液流变学的影响[J].中国实验方剂学杂志,1996,2(3):14-16.
[10] SHI F, LIU Z Y. Effect of Bcl-2 protein on myocardial ischemia [J]. Acta Acad Med Neimongol, 2005, 27 (5):93-96.
[11] Xu C, Lu Y, Pan Z, et al. The muscle-specific miRNA mir-1 and mir-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and Caspase-9 in cardiomyocytes [J]. J Cell Sci, 2007, 120 (17):3045-3047.
[12] Yu X Y, Song Y H, Geng Y J, et al. Glucose induces apoptosis of cardiomyocytes via mir-1 and IGF-1 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 376 (3):548-552.
[13] Ji R, Cheng Y, Yue J, et al. MiRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal essential role of miRNA in vascular neointimal lesion formation [J]. Circ Res, 2007, 100(11):1579-1588.
[14] Cheng Y, Liu X, Zhang S, et al. MiRNA-21 protects against the H₂O₂-induced injury on cardiac myocytes via its target gene PDCD4 [J]. J Mol Cell Cardiol, 2009, 47 (1):5-14.
[15] 刘爱东,宋春华,崔俊峰,等.实验性大鼠急性心肌缺血心肌细胞凋亡与 Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白表达的干预相关性研究[J].辽宁中医杂志,2009,36(7):1226-1227.

[责任编辑 周冰冰]