

引用本文:杜虹,张志远,谷小卫,等.微小RNA-138-5p通过调控Kelch重复蛋白影响缺氧/复氧心肌细胞增殖与凋亡[J].安徽医药,2022,26(3):582-586.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.03.038.

◇临床医学◇



微小RNA-138-5p通过调控Kelch重复蛋白影响缺氧/复氧心肌细胞增殖与凋亡

杜虹¹,张志远¹,谷小卫¹,董自超²

作者单位:¹中国人民解放军联勤保障部队第988医院心胸外科,河南 焦作454003;

²武汉亚洲心脏病医院心脏外科,湖北 武汉430000

摘要: 目的 探讨微小RNA(miRNA/miR)-138-5p、Kelch重复蛋白(KLHDC10)在缺氧/复氧(H/R)心肌细胞H9C2中增殖、凋亡的功能及二者的作用关系。方法 2018年5月至2019年12月,建立H/R H9C2细胞模型;正常培养的H9C2细胞记为对照组。用miRNA阴性对照(miR-con)、miR-138-5p模拟物(miR-138-5p mimics)、过表达空载体(pcDNA-con)和KLHDC10过表达载体(pcDNA-KLHDC10)不同处理方法处理H/R H9C2细胞。实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)、蛋白质印迹法(Western blotting)检测细胞中miR-138-5p、KLHDC10、细胞周期蛋白D1(cyclin D1)、活化胱天蛋白酶-3(cleaved-caspase-3)的表达水平;细胞计数试剂盒(CCK-8)法和流式细胞术检测细胞的存活和凋亡;双荧光素酶报告基因实验检测细胞的荧光素酶活性。结果 H/R组于对照组,H/R H9C2细胞中miR-138-5p的表达水平明显降低[(0.34±0.03)比(1.00±0.11)],KLHDC10的表达水平明显升高,细胞存活率显著降低[(62.03±6.20)%比(100.04±10.05)%],凋亡率显著升高[(28.16±2.82)%比(7.22±0.72)%],同时下调cyclin D1、上调cleaved-caspase-3的蛋白水平($P<0.05$)。过表达miR-138-5p、抑制KLHDC10可明显促进H/R H9C2细胞存活,抑制凋亡,上调cyclin D1、下调cleaved-caspase-3的蛋白水平。miR-138-5p明显抑制野生型KLHDC10的H9C2细胞荧光素酶活性,并负向调控H9C2细胞中KLHDC10蛋白水平;过表达KLHDC10可逆转miR-138-5p对H/R H9C2细胞的存活和凋亡的调控作用。结论 miR-138-5p可促进H/R H9C2细胞的存活,抑制凋亡,其机制之一为靶向下调KLHDC10。**关键词:** 心肌再灌注损伤; 微小RNA-138-5p; Kelch重复蛋白; 缺氧/复氧H9C2; 细胞存活; 细胞凋亡

Effect of miR-138-5p on proliferation and apoptosis of hypoxia/reoxygenated cardiomyocytes by regulating KLHDC10

DU Hong¹,ZHANG Zhiyuan¹,GU Xiaowei¹,DONG Zichao²

Author Affiliations:¹Department of Cardiothoracic Surgery, No. 988 Hospital of the Joint Logistics Support Force of PLA, Jiaozuo, Henan 454003, China;²Department of Cardiac Surgery, Wuhan Asia Heart Hospital, Wuhan, Hubei 430000, China

Abstract: **Objective** To investigate the functions of microRNA (miRNA/miR)-138-5p and Kelch repeat protein (KLHDC10) in the proliferation and apoptosis of hypoxia/reoxygenation (H/R) cardiomyocytes (H9C2) and their relationship. **Methods** From May 2018 to December 2019, H/R H9C2 cell model was established and conventionally cultured H9C2 cells were used as the control group (NC group). H/R H9C2 cells were treated with different treatment methods: miRNA negative control (miR-con), miR-138-5p mimics (miR-138-5p mimics), over-expressed empty vector (pcDNA-con) and KLHDC10 over-expressed vector (pcDNA-KLHDC10). Real-time fluorescence quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blotting were used to detect miR-138-5p, KLHDC10, cyclin D1 and Lysed cysteine aspartic proteinase 3 (cleaved-caspase-3) expression levels; cell counting kit (CCK-8) and flow cytometry were used to detect cell survival and apoptosis. The double luciferase reporter assay was used to detect the luciferase activity of the cells. **Results** The H/R group was Compared with the NC group, the expression level of miR-138-5p was significantly reduced [(0.34±0.03) vs. (1.00±0.11)], the expression level of KLHDC10 was significantly increased, the cell survival rate was significantly reduced [(62.03±6.20)% vs. (100.04±10.05)%], and the apoptosis rate was significantly increased [(28.16±2.82)% vs. (7.22±0.72)%] in H/R H9C2 cells. Meanwhile, the protein level of cyclin D1 was down-regulated and that of cleaved-caspase-3 was up-regulated ($P<0.05$). Over-expressed miR-138-5p or inhibited KLHDC10 could significantly promote the survival and inhibit the apoptosis, up-regulate cyclin D1, and down-regulate cleaved-caspase-3 protein levels of H/R H9C2 cells. miR-138-5p significantly inhibited the luciferase activity of H9C2 cells in wild-type KLHDC10, and negatively regulated the KLHDC10 protein level in H9C2 cells; overexpressed KLHDC10 could reverse the regulatory role miR-138-5p in the survival and apoptosis of H/R H9C2 cells. **Conclusion** miR-138-5p could promote the survival and inhibit the apoptosis of H/R H9C2 cells, and one of the mechanisms is to targetedly down-regulate KLH-

DC10.

Key words: Myocardial reperfusion injury; MiR-138-5p; KLHDC10; H/R H9C2; Cell survival; Apoptosis

冠心病是全球人类死亡或残疾的主要原因之一,其治疗的主要方法为心肌的再灌注溶栓治疗^[2]。但是,心肌再灌注过程可引起进一步的心肌细胞的再灌注损伤,造成心肌细胞死亡^[3]。心肌细胞缺氧/复氧(H/R)是心肌缺血再灌注损伤的体外模拟^[4]。因此,本研究于2018年5月至2019年12月以缺氧/复氧心肌细胞为研究对象,探究微小RNA(microRNA, miRNA/miR)-138-5p和Kelch重复蛋白(Kelch repeat protein, KLHDC10)在缺氧复氧心肌细胞中的调控功能及二者之间的作用关系。

1 材料与方法

1.1 材料 心肌细胞H9C2购自上海中国科学院细胞库;培养基DMEM购自上海慧颖生物科技有限公司;pYr-MirTarget载体购自长沙赢润生物技术公司;反转录试剂盒购自上海华舜生物工程有限公司;实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)试剂盒购自上海古朵生物公司;细胞计数试剂盒(CCK-8)购自日本同仁化学研究所;膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)/碘化丙啶(PI)双染凋亡检测试剂盒购自南京诺唯赞生物科技有限公司;Multi-scan MK3全自动多功能酶标仪购自上海优浦科学仪器有限公司;EPICS-PRO-FILE II流式细胞仪购自美国Coulter。

1.2 方法

1.2.1 细胞的培养与分组 将H9C2细胞用混有10%胎牛血清和1%双抗的DMEM培养基在37℃、5%二氧化碳的恒温细胞培养箱中进行培养、传代。参考刘洋等^[5]的方法建立H/R H9C2细胞模型,标记为H/R组。正常培养的H9C2细胞标记为对照组。用3~5倍DNA或质粒量的脂质体将以下各组细胞转染至H/R组细胞:H/R+miRNA阴性对照(miR-con)组(转染miR-con)、H/R+miR-138-5p组[转染miR-138-5p模拟物(miR-138-5p mimics)]、H/R+小干扰RNA阴性对照(si-con)组(转染si-con)、H/R+KLHDC10小干扰RNA(si-KLHDC10)组(转染si-KLHDC10)、H/R+miR-138-5p+过表达空载体(pcDNA-con)组(共转染miR-138-5p mimics和pcDNA-con)、H/R+miR-138-5p+KLHDC10过表达载体(pcDNA-KLHDC10)组(共转染miR-138-5p mimics和pcDNA-KLHDC10),转染4h后,补充新培养液继续培养至48h,qRT-PCR确认转染成功后进行标记,用于后续的实验研究。若未达到转染效率的要求,则更换质粒或DNA、改变转染条件等进行重新转染,直至达

到转染要求为止,方可用于后续试验。

1.2.2 qRT-PCR实验 用总RNA抽提试剂盒提取需要检测的细胞总RNA,并用逆转录试剂盒在冰上将其合成互补DNA(cDNA),保存备用。用qRT-PCR试剂盒检测cDNA中miR-138-5p和KLHDC10的mRNA表达水平。miR-138-5p正向引物ACACTCCAGCTGGGAGCTGGTGTG,反向引物GTGCAGGGTCCGAGGT;U6正向引物CTCGCTTCGGCAGCACA,反向引物AACGCTTCACGAATTTGCGT;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)正向引物ACACCCACTCCTCCACCTTT,反向引物TTACTCCTTGGAGGCCATGT。KLHDC10引物由上海吉玛生物公司设计合成。

1.2.3 蛋白质印迹法(Western blotting) 将需要检测的细胞用细胞总蛋白质提取液(1 mL/10 cm²)充分地裂解提取总蛋白。用蛋白变性后的上清液进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),并加入等量的Marker。电泳结束后,切下目的蛋白条带,将胶上的蛋白用转膜仪转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。再用2.5%的脱脂奶粉将膜进行封闭处理1h,浸入各个一抗溶液(1:500~1 500稀释)中低温孵育过夜(4℃),在浸入二抗(1:1 000稀释)中37℃孵育2h。用超敏发光试剂盒对膜进行显影曝光。结果以β-肌动蛋白(β-actin)为内参,凋亡相关蛋白细胞周期蛋白D1(cyclin D1)、活化胱天蛋白酶-3(cleaved-caspase-3)等目的蛋白灰度与内参蛋白灰度的比值表示蛋白表达水平。

1.2.4 CCK-8实验 将需要检测的细胞10⁴个/孔置于96孔板中,再加入10 μL的CCK-8溶液,在37℃、5%二氧化碳的培养箱中反应4h,结束后在酶标仪上检测细胞的吸光度(A₄₅₀)。细胞存活率(%)为(1-A₄₅₀样品/A₄₅₀对照)×100%。

1.2.5 流式细胞术实验 使用Annexin V-FITC/PI双染凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡。将需要检测的细胞用预冷的磷酸缓冲盐溶液(PBS)洗涤3遍。用结合缓冲液悬浮细胞,然后加入Annexin V-FITC和PI各5 μL,避光反应结束后进行流式细胞仪检测分析细胞的凋亡。凋亡率为Annexin V-FITC阳性细胞比率与PI阳性细胞比率之和。

1.2.6 双荧光素酶报告基因检测实验 首先根据starbase预测到的miR-138-5p与KLHDC10之间存在的结合位点,设计miR-138-5p应答的KLHDC10 3'非编码区(3'UTR)片段,将其克隆至载体pYr-Mir-

Target, 构建荧光素酶报告基因载体。将 H9C2 细胞培养至汇合度约 50% 收集细胞。将 miR-con、miR-138-5p 与野生型 (WT) KLHDC10、突变型 (MUT) KLHDC10 分别共转染至 H9C2 细胞, 标记为 miR-con 组 WT 细胞、miR-con 组 MUT 细胞、miR-138-5p 组 WT 细胞、miR-138-5p 组 MUT 细胞。转染结束后, 培养至对数生长期, 收集细胞用报告基因细胞裂解液充分裂解, 加入萤火虫荧光素酶检测液, 测定荧光素酶活性, 取出再加入海肾荧光素酶检测液, 测定荧光素酶活性。结果以萤火虫荧光素酶的活性为内参, 海肾荧光素酶的活性与萤火虫荧光素酶的活性比值表示样本目的基因的活性。

1.3 统计学方法 使用 PEMS3.2 进行统计学分析, GraphPad Prism 6.0 进行相关数据的图片绘制, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组数据比较采用两独立样本 *t* 检验, 多组间数据比较采用单因素方差分析和 SNK-*q* 检验, 以 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

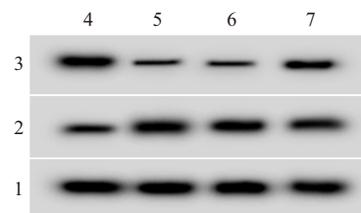
2.1 H/R H9C2 细胞中 miR-138-5p 和 KLHDC10 的表达水平 H/R 组于对照组, miR-138-5p 的 mRNA 表达水平显著降低, KLHDC10 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著升高 (均 *P* < 0.05), 见表 1。

表 1 缺氧/复氧 (H/R) H9C2 细胞中 miR-138-5p 和 Kelch 重复蛋白 (KLHDC10) 的表达变化/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-138-5p	KLHDC10 mRNA	KLHDC10 蛋白
对照	3	1.00±0.11	1.02±0.10	0.33±0.03
H/R	3	0.34±0.03	2.86±0.28	0.86±0.09
<i>t</i> 值		10.03	10.72	9.68
<i>P</i> 值		0.001	<0.001	0.001

2.2 高表达 miR-138-5p 对 H/R 处理的 H9C2 存活率、凋亡及相关蛋白表达的影响 H/R 组于对照组, miR-138-5p mRNA 表达水平显著降低, cyclin D1 蛋白表达水平显著降低, cleaved-caspase-3 蛋白表达水平显著升高, 细胞存活率显著降低, 细胞凋亡率显

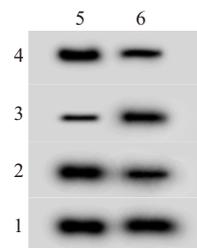
著升高; H/R+miR-138-5p 组于 H/R+miR-con 组, miR-138-5p mRNA、cyclin D1 蛋白、细胞存活率均显著升高, cleaved-caspase-3 蛋白、细胞凋亡率均显著降低 (均 *P* < 0.05)。见图 1、表 2。



注: 1—β 肌动蛋白 (β-actin); 2—活化胱天蛋白酶-3 (cleaved-caspase-3); 3—细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1); 4—对照组; 5—H/R 组; 6—H/R+miR-con 组; 7—H/R+miR-138-5p 组。

图 1 蛋白质印迹法检测高表达 miR-138-5p 对缺氧/复氧 (H/R) 处理的 H9C2 细胞 cyclin D1、cleaved-caspase-3 蛋白表达的影响

2.3 低表达 KLHDC10 对 H/R 处理的 H9C2 存活率、凋亡及相关蛋白表达的影响 H/R+si-KLHDC 组于 H/R+si-con 组, 细胞存活率显著升高 [(83.45±8.35)% 比 (61.86±6.15)%] (*t*=6.25, *P* < 0.001), 细胞凋亡率显著降低 [(11.72±1.16)% 比 (28.01±2.81)%] (*t*=16.07, *P* < 0.001); KLHDC10 和 cleaved-caspase-3 蛋白表达显著降低, cyclin D1 蛋白表达显著升高, 见图 2、表 3。



注: 1—β 肌动蛋白 (β-actin); 2—活化胱天蛋白酶-3 (cleaved-caspase-3); 3—细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1); 4—Kelch 重复蛋白 (KLHDC10); 5—H/R+si-con 组; 6—H/R+si-KLHDC10 组。

图 2 蛋白质印迹法检测低表达 KLHDC10 对缺氧/复氧 (H/R) 处理的 H9C2 细胞中 KLHDC10、cyclin D1、cleaved-caspase-3 蛋白表达的影响

表 2 高表达 miR-138-5p 对缺氧/复氧 (H/R) 处理的 H9C2 细胞存活率、凋亡率、miR-138-5p、cyclin D1、cleaved-caspase-3 蛋白表达的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	细胞存活率/%	细胞凋亡率/%	miR-138-5p	cyclin D1	cleaved-caspase-3
对照	3	100.04±10.05	7.22±0.72	1.00±0.10	0.72±0.07	0.40±0.04
H/R	3	62.03±6.20 ^①	28.16±2.82 ^①	0.32±0.03 ^①	0.32±0.03 ^①	0.96±0.10 ^①
H/R+miR-con	3	60.08±6.04	27.12±2.70	0.35±0.04	0.30±0.03	0.94±0.09
H/R+miR-138-5p	3	89.43±9.01 ^②	12.42±2.74 ^②	0.88±0.09 ^②	0.65±0.07 ^②	0.50±0.05 ^②
<i>F</i> 值		18.55	57.01	72.56	49.41	45.98
<i>P</i> 值		0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: cyclin D1 为细胞周期蛋白 D1, cleaved-caspase-3 为活化胱天蛋白酶-3。

①与对照组比较, *P* < 0.05。②与 H/R+miR-con 组比较, *P* < 0.05。

表3 低表达KLHDC10对缺氧/复氧(H/R)处理的H9C2细胞中KLHDC10、cyclin D1、cleaved-caspase-3蛋白表达的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	KLHDC10	cyclin D1	cleaved-caspase-3
H/R+si-con	3	0.84±0.08	0.32±0.03	0.95±0.10
H/R+si-KLHDC10	3	0.42±0.04	0.62±0.06	0.52±0.05
<i>t</i> 值		8.13	7.75	6.66
<i>P</i> 值		0.001	0.001	0.003

注: KLHDC10为Kelch重复蛋白, cyclin D1为细胞周期蛋白D1, cleaved-caspase-3为活化胱天蛋白酶-3。

2.4 miR-138-5p靶向KLHDC10, 调控KLHDC10的表达 通过生物信息学在线靶基因预测软件 starbase 预测 miR-138-5p 和 KLHDC10 的结合区域, 见图3。miR-138-5p 组于 miR-con 组, WT KLHDC10 的 H9C2 细胞荧光素酶活性显著降低 [(0.31±0.03) 比 (1.00±0.11)] ($t=10.48, P<0.001$), MUT KLHDC10 的 H9C2 细胞荧光素酶活性变化不大 [(1.06±0.12) 比 (1.09±0.13)] ($t=0.29, P=0.784$)。miR-138-5p 明显负向调控 KLHDC10 蛋白表达水平, miR-138-5p 组 KLHDC10 表达量 (0.32±0.03) 低于 miR-con 组 (0.84±0.09) ($P<0.05$), 抗 miR-138-5p (anti-miR-138-5p) 组 KLHDC10 表达量 (1.14±0.11) 高于阴性对照 (anti-miR-con) 组 (0.87±0.10) ($P<0.05$) ($F=45.31, P<0.001$)。

2.5 过表达KLHDC10可逆转miR-138-5p对H/R处理的H9C2存活率、凋亡及相关蛋白表达的影响 H/R+miR-138-5p+pcDNA-KLHDC10 组于 H/R+miR-138-5p+pcDNA-con 组, 细胞存活率显著降低 [(65.13±6.51)% 比 (89.43±9.01)%] ($t=3.79, P=0.019$), 细胞凋亡率显著升高 [(34.20±3.42)% 比 (12.49±5.28)%] ($t=5.98, P=0.004$); KLHDC10 和

cleaved-caspase-3 蛋白表达水平显著升高, cyclin D1 蛋白表达水平显著降低, 见表4。

3 讨论

miRNA 是一种非编码微小 RNA 分子, 普遍与人类各种疾病有关, 包括心机的缺血再灌注损伤^[6-8]。但是仍有部分新发现的 miRNA 在心肌损伤中的作用尚未清楚。miR-138-5p 是近期在心肌缺血再灌注损伤中发现的一个新的功能 miRNA^[9]。miRNA 在生物中普遍存在, 并且其在进化上高度保守。迄今为止, 在人类基因组中已鉴定出超过 2 000 个 miRNA, 并且其中超过 60% 的蛋白质编码基因受 miRNA 的调控^[10-11]。miRNA 在多种疾病中发挥重要的病理生理作用^[12]。据报道, miR-138 的失调是心脏和心缺血/灌注损伤的关键因素^[13]。Tang 等^[9]在研究中报道, miR-138 在脑缺血再灌注细胞模型中和脑缺血再灌注大鼠模型中均具有调控作用, 在体外 miR-138 可为通过靶向脂蛋白 2 促进缺血再灌注细胞的增殖, 发挥保护作用。最近, Mao 等^[14]在研究中发现, miR-138-5p 可作为长链非编码 RNA KLF3 反义 RNA1 的直接作用靶标, 通过调节沉默信息调节因子 1 参与缺氧诱导的心肌细胞的细胞焦亡过程。这说明, miR-138 在缺血再灌注脑损伤和心肌损伤中均具有重要的功能。这些研究所支持的观点与本研究的实验结果完全相吻合。本实验结果显示, miR-138-5p 在 H/R H9C2 细胞中的表达水平异常降低, 且过表达 miR-138-5p 具有促进 H/R H9C2 细胞增殖, 抑制凋亡的保护作用。此外, 生物信息学预测和双荧光素酶报告基因实验验证验证了 miR-138-5p 可靶向 KLHDC10, 这可能与 miR-138-5p 的作用机制有关。miR-138-5p 在缺血再灌注心肌损伤中的潜在功能机制的深入探索将为心血管疾病的治疗提供新方向。

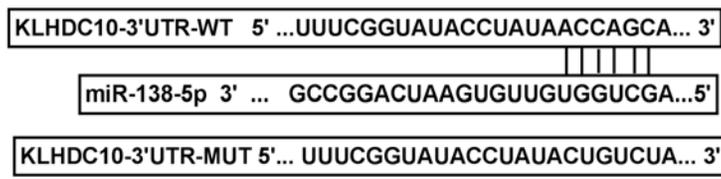


图3 在线靶基因预测软件 starbase 预测 Kelch 重复蛋白 (KLHDC10) 与 miR-138-5p 的结合区域

表4 高表达KLHDC10可以逆转miR-138-5p对缺氧/复氧(H/R)处理的H9C2细胞中KLHDC10、cyclin D1、cleaved-caspase-3蛋白的表达/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	KLHDC10	cyclin D1	cleaved-caspase-3
H/R+miR-138-5p+pcDNA-con	3	0.55±0.06	0.66±0.07	0.50±0.05
H/R+miR-138-5p+pcDNA-KLHDC10	3	0.80±0.08	0.40±0.04	0.86±0.09
<i>t</i> 值		4.33	5.59	6.06
<i>P</i> 值		0.012	0.005	0.004

注: KLHDC10为Kelch重复蛋白, cyclin D1为细胞周期蛋白D1, cleaved-caspase-3为活化胱天蛋白酶-3。

炎性因子在病原防御中起着重要的作用,过度的炎性细胞因子释放可能会对个体造成一定的损害,如炎症性肠病、心肌炎和脑梗死^[15]。Kelch 家族蛋白在炎症引起的疾病中的作用十分重要^[16]。KLHDC10 是 Kelch 蛋白家族的一员,该家族成员在炎症过程中的作用得到研究的肯定^[17],但是 KLHDC10 在心肌损伤中的作用及与 miR-138-5p 之间的关系尚未清楚。Yamaguchi 等^[18]报道, KLHDC10 在全身性炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) 小鼠模型中表达异常升高,敲减 KLHDC10 的 SIRS 小鼠模型表现出较低的炎性因子释放,提示 KLHDC10 是坏死性细胞类型的特定调节剂,可促进 TNF α 诱导的 SIRS 的发展。这说明 KLHDC10 在机体的炎性反应中占据关键地位。于是,该研究假设 KLHDC10 在缺氧/复氧心肌细胞的增殖和凋亡中具有调控作用。炎症在心肌缺血再灌注损伤中占有重要地位^[19]。心肌缺血再灌注所造成的损伤主要是由炎症和氧化应激引起的心肌细胞的功能损伤。结果本研究的实验结果与假设完全相符合。KLHDC10 在 H/R H9C2 细胞中的表达水平异常升高,且敲减 KLHDC10 具有促进 H/R H9C2 细胞增殖,抑制凋亡作用。除此之外,过表达 KLHDC10 还逆转了 miR-138-5p 在 H/R H9C2 细胞中的增殖和凋亡调控作用。

综上所述,miR-138-5p 促进缺氧复氧心肌细胞增殖和抑制凋亡,其机制与靶向 KLHDC10 相关,为心肌损伤的治疗奠定理论基础。本研究的不足之处为实验结果并未在动物体内和临床中进行验证。

参考文献

- [1] TAQUETI VR, DI CARLI MF. Coronary microvascular disease pathogenic mechanisms and therapeutic options: JACC state-of-the-art review[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(21): 2625-2641.
- [2] LI H, SUN K, ZHAO R, et al. Inflammatory biomarkers of coronary heart disease [J]. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2018, 10: 185-196.
- [3] HASHMI S, AL-SALAM S. Acute myocardial infarction and myocardial ischemia-reperfusion injury: a comparison [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(8): 8786-8796.
- [4] 刘丹, 潘连红, 金良友, 等. 柚皮苷预处理通过抑制内质网应激凋亡途径减轻心肌细胞缺氧/复氧损伤[J]. *中国药理学通报*, 2019, 35(2): 214-218.
- [5] 刘洋, 陈东, 侯翠柳, 等. 泛素 E3 连接酶 TRIM10 在心肌细胞缺氧/复氧损伤的作用及机制[J]. *心肺血管病杂志*, 2019, 38(5): 566-572.
- [6] DU J, YANG ST, LIU J, et al. Silence of LncRNA GAS5 protects cardiomyocytes H9c2 against hypoxic injury via sponging miR-142-5p[J]. *Mol Cells*, 2019, 42(5): 397-405.
- [7] MAKHDOUMI P, ROOHBAKHSH A, KARIMI G. MicroRNAs regulate mitochondrial apoptotic pathway in myocardial ischemia-reperfusion-injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84(12): 1635-1644.
- [8] SONG Y, ZHANG C, ZHANG J, et al. Localized injection of miRNA-21-enriched extracellular vesicles effectively restores cardiac function after myocardial infarction [J]. *Theranostics*, 2019, 9(8): 2346-2360.
- [9] TANG XJ, YANG MH, CAO G, et al. Protective effect of microRNA-138 against cerebral ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(3): 1045-1050.
- [10] VISHNOI A, RANI S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases: an overview [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1509(11): 1-10.
- [11] MICHLEWSKI G, CÁCERES JF. Post-transcriptional control of miRNA biogenesis [J]. *RNA*, 2019, 25(1): 1-16.
- [12] WOJCIECHOWSKA A, BRANIEWSKA A, KOZAR-KAMIŃSKA K. MicroRNA in cardiovascular biology and disease [J]. *Adv Clin Exp Med*, 2017, 26(5): 865-874.
- [13] HE S, LIU P, JIAN Z, et al. miR-138 protects cardiomyocytes from hypoxia-induced apoptosis via MLK3/JNK/c-jun pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 441(4): 763-769.
- [14] MAO Q, LIANG XL, ZHANG CL, et al. LncRNA KLF3-AS1 in human mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorates pyroptosis of cardiomyocytes and myocardial infarction through miR-138-5p/Sirt1 axis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 393-407.
- [15] SHICHITA T, HASEGAWA E, KIMURA A, et al. Peroxiredoxin family proteins are key initiators of post-ischemic inflammation in the brain [J]. *Nature Medicine*, 2012, 18(6): 911-917.
- [16] GUPTA VA, BEGGS AH. Kelch proteins: emerging roles in skeletal muscle development and diseases [J]. *Skelet Muscle*, 2014, 4(6): 11-23.
- [17] 王妮, 陈新玉, 欧小利, 等. BTB-Kelch 家族蛋白 KLHL32 参与炎症反应调控的初步分析 [J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(5): 870-875.
- [18] YAMAGUCHI N, SEKINE S, NAGURO I, et al. KLHDC10 deficiency protects mice against TNF α -induced systemic inflammation [J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0163118. DOI: 10.1371/journal.pone.0163118.
- [19] LI S, WANG Y, ZHAO H, et al. NF- κ B-mediated inflammation correlates with calcium overload under arsenic trioxide-induced myocardial damage in Gallus gallus [J]. *Chemosphere*, 2017, 185(10): 618-627.

(收稿日期:2020-02-16,修回日期:2020-04-20)