基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001365

缺血再灌注损伤中 miR-126 的作用及对心肌细胞凋亡的影响

郎明健，王　越，李　志，陈　娇，何培根
（湖北医药学院附属东风医院心血管内科，十堰　442008）

【摘　要】**目的**：通过体内外实验探讨微小 RNA(miR)-126 在心肌缺血再灌注损伤中的作用及机制。**方法**：体外部分：心肌细胞 H9C2 分 6 组，建立心肌细胞模拟缺血/再灌注(simulated ischemia/reperfusion, SI/R)损伤模型，并分别转染 miR-126mimic 和 miR-126inhibitor。qRT-PCR 检测心肌细胞 miR-126 表达，流式细胞术检测细胞凋亡，Western blot 检测 caspase-3 及其裂解片段的蛋白表达。体内部分：雌性 Wistar 健康大鼠分 5 组，建立缺血/再灌注损伤(ischemia/reperfusion，I/R)模型，并分别转染含有 GFP 的空病毒、miR-126mimic 以及 miR-126inhibitor 的慢病毒。测定各组大鼠心肌梗死范围，TUNEL 测定心肌细胞凋亡。**结果**：与对照组相比，心肌细胞 H9C2SI/R 后 miR-126 表达(0.32 ± 0.02)明显降低(P=0.000)、细胞凋亡率(3.8 ± 0.6)明显上升(P=0.000)；与 SI/R 相比，采用 miR-126mimic 上调 miR-126 表达后细胞凋亡率(5.3 ± 0.8)明显增加(P=0.007)，caspase-3 表达(0.450 ± 0.003)明显降低(P=0.000)，而采用 miR-126inhibitor 下调 miR-126 表达后细胞凋亡率(2.9 ± 0.5)明显降低(P=0.000)，caspase-3 表达(1.80 ± 0.03)明显升高(P=0.002)。与假手术组相比，I/R 组和 I/R+GFP 组心肌梗死范围[(59.4 ± 2.5)，(60.2 ± 2.8)]明显增加(P=0.000，P=0.000)，而与 I/R 组相比，I/R+miR-126mimic 组心肌梗死范围(69.0 ± 2.4)明显增加(P=0.013)，而 I/R+miR-126inhibitor 组心肌梗死范围(39.5 ± 2.5)明显降低(P=0.000)；TUNEL 检测结果显示，与假手术组相比，I/R 组和 I/R+GFP 组心肌细胞凋亡率[(33.4 ± 1.7)，(33.7 ± 1.8)]明显升高(P=0.000，P=0.000)；而与 I/R 组相比，I/R+miR-126mimic 组心肌细胞凋亡率(42.2 ± 2.3)明显增加(P=0.003)，而 I/R+miR-126inhibitor 组心肌细胞凋亡率(25.5±1.5)明显降低(P=0.000)。**结论**：心肌缺血再灌注损伤会引起 miR-126 表达降低，而上调 miR-126 表达会促进心肌细胞凋亡，相反抑制 miR-126 表达可能有助于预防心肌缺血再灌注引起的心肌细胞凋亡。

【关键词】miR-126；心肌缺血再灌注损伤；实验研究
【中图分类号】R542.2　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2017-02-20

Role of miR-126 in myocardial ischemia reperfusion injury and its influence on myocardial cell apoptosis

Lang Mingjian, Wang Yue, Li Zhi, Chen Jiao, He Peigen
(*Department of Cardiology, Dongfeng General Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine*)

【Abstract】***Objective***: To explore the mechanism of miR-126 in myocardial ischemia reperfusion injury. ***Methods***: In vitro, myocardial cells H9C2 were divided into 6 groups, and the myocardial cell simulated ischemia/reperfusion(SI/R) injury model was established, transfecting with the miR-126 mimic and miR-126 inhibitor. The expression of miR-126 was detected with real time-PCR in myocardial cells; apoptosis was detected with flow cytometry; and the expression of caspase-3 and its fragmentation were detected with Western blot. *In vivo*, healthy female Wistar rats were divided into 5 groups, and ischemia/reperfusion injury model was established. They were respectively disposed with the transfection of empty GFP, miR-126 mimic and miR-126 inhibitor virus. Myocardial infarction range was detected and the myocardial cell apoptosis was detected with TUNEL. ***Results***: Compared with those of control group, the expression of miR-126 in myocardial cell H9C2 after SI/R was significantly reduced and the rate of apoptosis increased significantly. Up-regulation of miR-126 expression by miR-126 mimic could raise apoptosis rate and reduce caspase-3 expression significantly. On the contrary, down-regulation miR-126 expression by miR-126 inhibitor could reduce apoptosis rate and raise caspase-3 expression significantly. Compared with that of control group, myocardial infarction range increased significantly in the I/R group and the I/R+GFP group. Compared with that of

作者介绍：郎明健，Email：langmingjian6@126.com，
研究方向：冠心病，心血管重塑。
基金项目：湖北省自然科学基金重点资助项目(编号：2060402-791)。
优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170630.1036.020.html (2017-06-30)

I/R group, myocardial infarction range in the I/R+miR-126 mimic group reduced significantly. TUNEL test results showed that compared with that of control group, the myocardial cell apoptosis rate in I/R group and the I/R+GFP group increased significantly. Compared with that of I/R group, the myocardial cell apoptosis rate in I/R+miR-126 mimic group increased significantly, while myocardial cell apoptosis rate in the I/R+miR-126 inhibitor group decreased significantly, with statistically significant differences ($P<0.05$). ***Conclusion***: miR-126 is down-regulated in myocardial ischemia-reperfusion injury and that the promotion of miR-126 may promote myocardial cell apoptosis, while the inhibition of miR-126 may protect against myocardial cell apoptosis caused by ischemia-reperfusion.

【Key words】miR-126; ischemia reperfusion injury; experimental study

在心血管疾病中，急性心肌梗死是引起患者死亡的主要病因之一。虽然通过及时开通相关梗死动脉，恢复缺血心肌血流灌注能够挽救濒死心肌，但会加重心肌结构和功能的损伤，从而引起心功能降低、心肌顿抑以及恶性心律失常等，这称为心肌缺血再灌注损伤（ischemia/reperfusion，I/R）[1]。目前临床治疗心脏缺血过程中，I/R 仍然是一大难题。因此，了解 I/R 的发生机制，从而在恢复冠脉血流时减轻乃至清除 I/R 具有重要的现实意义。

目前关于 I/R 的发生机制存在多种观点，而小分子 RNA（miR）在心血管系统中的作用也一直是近年来研究的热点。miR 是一种单链的非编码 RND，约由 22 个核苷酸组成。miR 通过结合下游目标信使 RNA（mRNA）3'端非编码区（3'-UTR），抑制mRNA 分子的翻译。miR-126 是 miR 家族的一员，在细胞生长发育以及增殖分化中发挥重要作用[2]。人内皮细胞中 miR-126 高表达，能够抑制细胞衍生因子的表达，调节血管的形成，与心血管疾病关系密切[3]。Wang 等[4]发现 miR-126 能够负向调节视网膜血管生成，可以作为年龄相关性黄斑变性等疾病治疗的靶点。目前关于 miR-126 在 I/R 中的作用尚不明确，相关报道非常少见。为此，本研究通过体内外实验研究了 miR-126 在 I/R 中的可能作用机制，进一步探讨了 I/R 的发生机制和可能的干预治疗靶点。

1 材料和方

1.1 主要材料与试剂

心肌细胞 H9C2 购自美国标准生物品收藏中心；细胞培养基 DMEM 购自美国 Hyclone 公司，XBS-09 细胞缺氧试验培养箱购自杭州艾普仪器设备有限公司，胰蛋白酶、胎牛血清、Ⅱ型胶原酶、青链霉素双抗溶液均购自美国 Invitrogen 公司。流式细胞仪及配套试剂盒购自美国 BD 公司。qRT-PCR 仪购自美国 Applied Biosystems 公司，miRNA 提取和反转录试剂盒均购自美国 Ambion 公司，miR-126 和内参引物均购自德国 Qiagen 公司。miR-126mimic、miR-126inhibitor、对照序列及携带有这些序列的慢病毒均购自上海吉玛生物公司；脂质体 Lipofectamine™2000 转染试剂盒购自美国 Invitrogen 公司。抗大鼠 β-actin 抗体、兔抗大鼠 caspase-3 及其裂解片段的抗体、辣根过氧化酶（HRP）标记的山羊抗小鼠抗体、山羊抗兔抗体均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。BCA 蛋白浓度测定试剂盒、细胞裂解液均购自碧云天生物技术研究所。四甲基乙二胺（TEMED）、聚偏二氟乙烯（PVDF）膜均购自美国 Sigma 公司。TUNEL 试剂盒购自瑞士罗氏公司。

miR-126 和 RNU6B 的引物序列：126f：CGCTGGCGACGGGACATTATTAC；126r：TGCCGTGGACGGCGCATTATTAC；U6f：GTGCTCGCTTCGGCAGCACAT；U6r：ATGGAACGCTTCACGAATTTG。

1.2 方法

1.2.1 细胞的传代培养 心肌细胞 H9C2 培养于 DMEM 培养基中，培养条件（10%胎牛血清、37°C、5%CO_2、饱和湿度），取对数生长期的细胞用于后续实验。将 0.25%的胰酶消化细胞，3 min 后吸取出胰蛋白酶并加入培养液终止消化，制成单细胞溶液后继续培养，吸取少许细胞悬液配成适合浓度后用于后续实验。

1.2.2 建立心肌细胞模拟缺血/再灌注（simulated ischemia/reperfusion，SI/R）损伤模型 以不含糖和血清的 DMEM 培养基为缺血液，先与 5%CO_2 和 95%N_2 的混合气体平衡制成饱和缺血液，心肌细胞 H9C2 培养于饱和缺血液中 10 h，培养条件为 37°C、5%CO_2 和 95%N_2 的混合气体，形成缺氧（缺血）模型；之后吸掉缺血液并置换上正常的 DMEM 培养基，常规培养 2 h，形成复氧（再灌注）模型。

1.2.3 细胞分组、转染及培养 心肌细胞 H9C2 分 6 组：Control 组，常规条件下培养；Control+miR-126mimic 组，转染 miR-126mimic（按试剂盒说明操作）后常规条件下培养；Control+miR-126inhibitor，转染 miR-126inhibitor（按试剂盒说明操作）后常规条件下培养；SI/R 组，缺血 10 h 后再灌注 2 h；SI/

R+miR-126mimic 组，转染 miR-126mimic 后缺血 10 h 后再灌注 2 h；SI/R+miR-126inhibitor 组，转染 miR-126inhibitor 后缺血 10 h 后再灌注 2 h。

1.2.4 动物造模及分组 雌性 Wistar 健康大鼠，购自山东昊泰实验动物繁育有限公司，生产许可证号：SCXK（鲁）20080003。体质量 320~350 g，常规条件下适应性喂养 1 周并模拟昼夜交替的正常生理规律。参考刘付平等[5]的造模方法并加以改进，具体为：腹腔注射 10 g/L 戊巴比妥钠，50 mg/kg 麻醉后将大鼠按仰卧位固定，连接心电图，呼吸机鼻面罩辅助通气（设置呼吸频率 70~80 次/min，潮气量 6~8 mL/kg，呼气时间：吸气时间为 1:2），于左胸第 4~5 肋间作 3 cm 的斜行切口，钝性分离肌层打开胸腔，将心脏暴露，6/0 线迅速穿刺、结扎左冠状动脉前降支起始部，结扎采用聚乙炼管作一活结，制作缺血模型，注意观察心电图变化和心肌颜色变化，当心电图显示 ST 段弓背向上抬高，心左室壁原色变为苍白表明缺血成功；缺血持续 30 min。之后拔出塑料管，打开活结以恢复血流灌注，制作再灌注模型，持续 120 min 后处死大鼠并取出大鼠心脏用于后续实验。实验动物分 5 组，假手术组（Sham）：穿线但不结扎动脉；缺血/再灌注组（I/R）：按照造模方法缺血 30 min 后再灌注 120 min。I/R+绿色荧光蛋白（GFP）：心肌内注射含有 GFP 的空病毒，7 d 后按照造模方法缺血 30 min 后再灌注 120 min。I/R+miR-126mimic 组：心肌内注射 miR-126mimic 的慢病毒，7 d 后按照造模方法缺血 30 min 后再灌注 120 min。I/R+miR-126inhibitor 组：心肌内注射 miR-126inhibitor 的慢病毒，7 d 后按照造模方法缺血 30 min 后再灌注 120 min。慢病毒转染时在大鼠左室前壁心肌内直接注射慢病毒溶液。每组大鼠 8 只（保证实验成功不少于 6 只），如果出现心律失常或者出血过多提前死亡的大鼠弃之不用并补充到实验大鼠的数目。

1.2.5 qRT-PCR 检测心肌细胞 miR-126 表达 qRT-PCR 检测 Control 组和 SI/R 组心肌细胞 miR-126 表达量，按照试剂盒说明提取心肌细胞中总 RNA 并测定，稀释抽提的 miRNA 并测定浓度和纯度，进行反转录，qRT-PCR 仪检测 miR-126 表达量，反应条件：50 ℃、2 min，95 ℃、10 min，95 ℃、15 s，60 ℃、1 min，扩增 40 个循环。内参采用 RNU6B。

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡 流式细胞术检测 6 组心肌细胞 H9C2 凋亡情况，细胞用 PBS 洗涤、消化后制成浓度 1×10^6 个/mL 浓度的细胞悬液，离心弃上清液后 PBS 洗涤，100 μL Binding buffer 悬浮细胞后与 Annexin V-FITC 混匀，1 h内上机检测。实验重复 3 次。

1.2.7 Western blot 检测蛋白表达 预冷裂解液提取细胞中的蛋白，然后采用 BCA 蛋白测定试剂盒测定样品中 caspase-3 及其裂解片段的蛋白浓度，采用分光光度计测定吸光值并计算。剩余上清液加入 Loading buffer 封闭并煮沸后冷冻保存。制备 SDS 聚丙烯酰胺凝胶，对每个样品上样，聚丙烯酰胺凝胶电泳，之后进行蛋白质的电转移和抗体孵育，一抗孵育：按 1:1 000 稀释抗体，洗膜后二抗孵育，显色发光。采用 Odyssey 双色红外激光成像系统（美国 LICOR 公司）扫描胶片并使用 Labwork4.6 分析目的条带灰度值。采用 β-actin 经校正。

1.2.8 测定心肌梗死面积 将大鼠的心脏组织去除脂肪组织、大血管、心房，剩余左心室组织吸干后称重。采用氮蓝四唑溶液染色心室肌切片，其中正常心肌为暗紫色，而梗死区心肌为淡红色或不着色，利用 IMS 图像分析系统（日本 Olympus 公司）计算梗死区面积和左心室总面积，各组小鼠自心尖到心底部共均匀切 4 片，每片约 0.1 cm，利用图像分析系统在 10 倍显微镜下进行分析，得出梗死范围=梗死区面积/左心室总面积 × 100%。

1.2.9 TUNEL 测定心肌细胞凋亡 将心肌切片脱蜡、水合，PBS 漂洗后用枸橼酸钠和 Triton X-100 处理，制备 TUNEL 反应混合液并加入到样品中，室温避光放置 2 h，加入染料 DAPI。显微镜下观察。

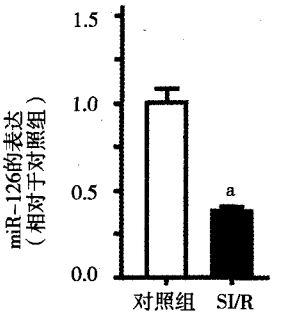
1.3 统计学处理

采用 SPSS 18.0 以及 GraphPad Prism 5 统计软件进行统计学处理。观测资料主要为计量资料，用均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。2 组间比较采用成组 t 检验；多组间则为单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-t 法。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 心肌细胞 H9C2 心肌缺血再灌注损伤后 miR-126 表达降低

qRT-PCR 检测结果显示，与对照组（0.97 ± 0.09）相比，心肌细胞 H9C2SI/R 后 miR-126 表达（0.32 ± 0.02）明显降低（t=12.211，P=0.000）。如图 1 所示。



a：与对照组比较，$P<0.05$

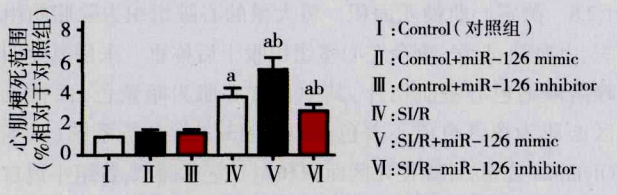
图 1 心肌细胞 H9C2 中 miR-126 表达量的变化

Fig. 1 Expression of miR-126 in myocardial cell H9C2

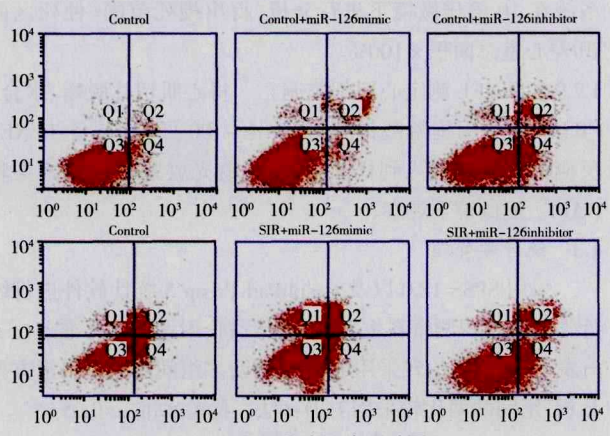
2.2 上调或下调 miR-126 表达对心肌细胞凋亡的影响

6 个组整体分析（单因素方差分析），F=38.75，P=0.000。多重比较（LSD-t 检验）显示：与对照组（Ⅱ、Ⅲ）[均为（1.2 ±

0.3)]相比，心肌细胞 H9C2 SI/R 后细胞凋亡率(3.8 ± 0.6)明显上升(P=0.000)；与 SI/R 组(3.8 ± 0.6)相比，采用 miR-126mimic 上调 miR-126 表达后细胞凋亡率(5.3 ± 0.8)明显增加(P=0.007)，而采用 miR-126inhibitor 下调 miR-126 表达后细胞凋亡率(2.9 ± 0.5)明显降低(P=0.000)。如图 2 所示。



A. 上调或下调 miR-126 表达后，心肌细胞凋亡资料比较



B. 对应的流式细胞测试图

a:vs Ⅰ－对照组，P < 0.05；b:vs Ⅲ－对照 +miR-126inhibitor，P < 0.05

图 2　上调或下调 miR-126 表达对心肌细胞凋亡的影响

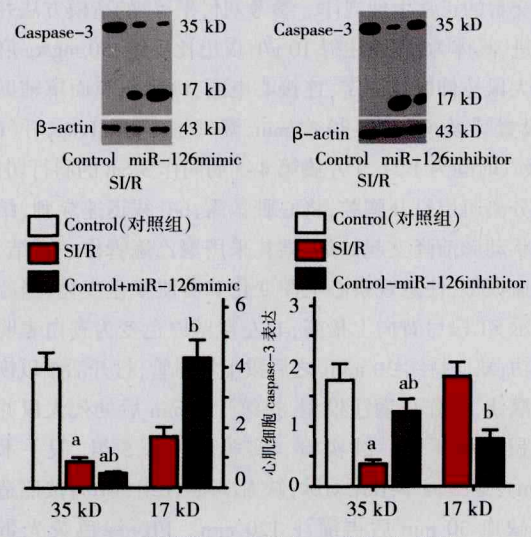
Fig.2　Effect of miR-126 overexpression and suppression on myocardial cell apoptosis

2.3　上调或下调 miR-126 表达对心肌细胞 caspase-3 表达的影响

心肌细胞 SI/R 后以及上调或下调 miR-126 表达后 caspase-3 表达均有明显改变(F=47.722，P=0.000)。多重比较显示：与 SI/R 组相比，采用 miR-126mimic 上调 miR-126 表达后心肌细胞 caspase-3 表达(35 kD)明显降低[(0.95 ± 0.10) vs. (0.45 ± 0.03)，P=0.000]，其裂解片段(17 kD)表达明显上升[(1.8 ± 0.3) vs. (4.3 ± 0.7)，P=0.002]，表明心肌细胞凋亡的增加；相反，采用 miR-126inhibitor 下调 miR-126 表达后心肌细胞 caspase-3 表达的变化均有统计学意义(F=15.507，P=0.000)，多重比较显示：心肌细胞 caspase-3 表达(35 kD)均明显改变[(0.35 ± 0.04) vs. (1.21 ± 0.29)，P=0.000]，其裂解片段(17 kD)表达明显下降[(1.78 ± 0.32) vs. (0.75 ± 0.18)，P=0.011]，表明心肌细胞凋亡的降低。如图 3 所示。

2.4　miR-126 对 I/R 大鼠心肌梗死范围的影响

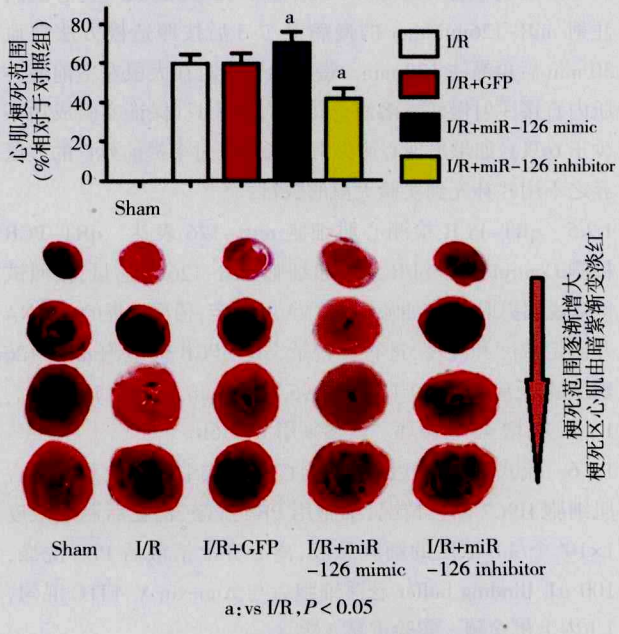
采用 NBT 染色鉴别正常心肌以及梗死心肌，整体分析结果发现，F=72.417，P=0.000。多重比较显示：心肌梗死范围：与 Sham 组(0.0 ± 0.0)相比，I/R 组[(59.4 ± 2.5)，P=0.000]和 I/R+GFP 组[(60.2 ± 2.8)，P=0.000]心肌梗死范围明显增加；而与 I/R 组(59.4 ± 2.5)相比，I/R+miR-126mimic 组心肌梗死范围[(69.0 ± 2.4)，P=0.013] 明显增加，而 I/R+miR-126inhibitor 组心肌梗死范围[(39.5 ± 2.5)，P=0.000]明显降低。表明 miR-126mimic 能够增加 I/R 大鼠心肌梗死范围，而 miR-126inhibitor 能够降低心肌梗死范围，如图 4 所示。



a:vs 对照组，P < 0.05；b:vs SI/R，P < 0.05

图 3　上调或下调 miR-126 表达对心肌细胞 caspase-3 表达的影响

Fig.3　Effect of miR-126 over-expression and suppression on the expression of caspase-3



a:vs I/R，P < 0.05

图 4　各组心肌梗死范围的比较

Fig.4　Comparison of infarction size between groups

2.5　miR-126 对 I/R 大鼠心肌细胞凋亡的影响

对 TUNEL 检测结果做整体分析，F=230.408，P=0.000。多重比较显示：Sham 组(4.2 ± 0.9)%几乎无明显 TUNEL 染色

阳性的心肌细胞，而 I/R 组和 I/R+GFP 组心肌细胞凋亡率可达(33.4 ± 1.7)%和(33.7 ± 1.8)%；而与 I/R 组(33.4 ± 1.7)%相比，I/R+miR-126mimic 组心肌细胞凋亡率(42.2 ± 2.3)%明显增加(P=0.003)，而 I/R+miR-126inhibitor 组心肌细胞凋亡率(25.5 ± 1.5)%明显降低(P=0.000)。表明 miR-126mimic 能够增加 I/R 大鼠心肌细胞凋亡，而 miR-126inbibitor 能够降低心肌细胞凋亡，如图 5 所示。

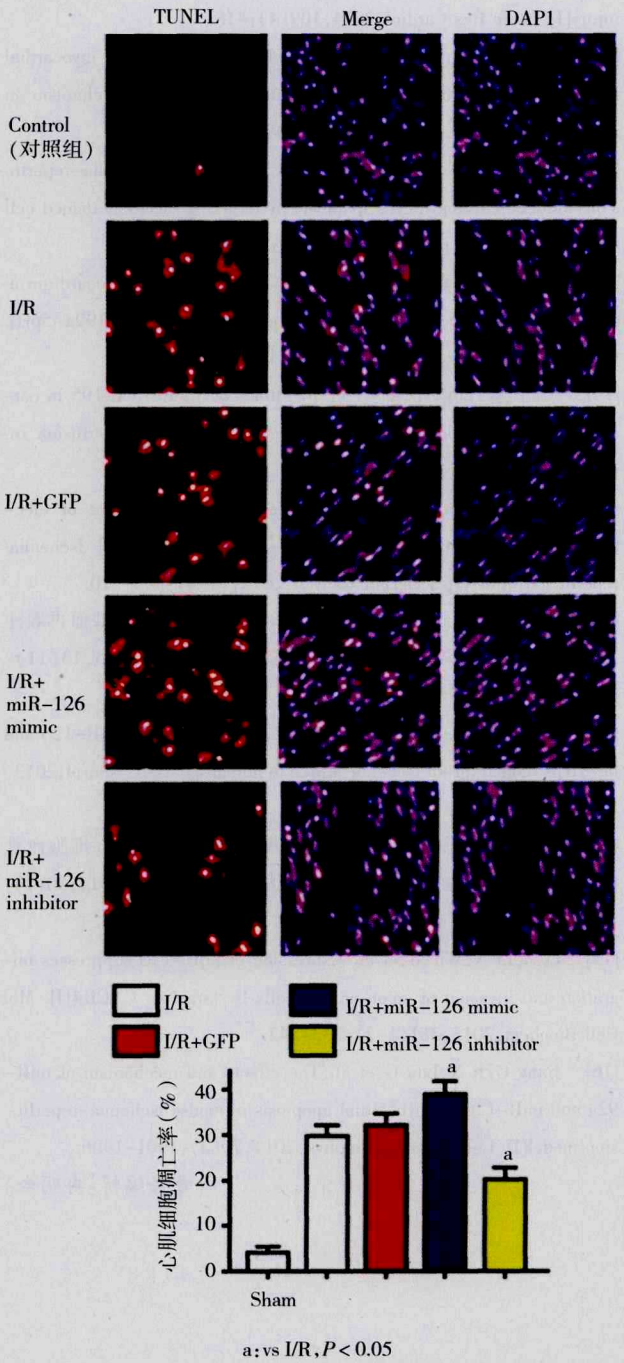


图 5 miR-126 对 I/R 大鼠心肌细胞凋亡的影响

Fig.5 Effect of miR-126 on the myocardial cell apoptosis in the I/R rat

3 讨 论

缺血再灌注损伤是近年来心血管领域的研究重点[6]。miR 也被证明在调节心肌细胞中扮演了重要的作用，其中 Yang 等[7]报道 microRNA-22 通过抗炎机制减轻了大鼠心肌缺血再灌注损伤。Wu 等[8]认为，miR-613 能够通过调控程序性细胞死亡因子 10(PDCD10)抑制心肌缺血再灌注引起的心肌细胞凋亡。Zuo 等[9]采用阿托伐他汀干预心肌缺血再灌注，发现阿托伐他汀干预能够降低 miR-199a-5p 表达使心肌免受心肌缺血再灌注损伤。

在本研究中，首先建立心肌细胞缺血/再灌注损伤模型，发现心肌细胞 H9C2SI/R 后 miR-126 表达明显降低。在 I/R 中，多种 miR 发挥调节功能。例如，Gao 等[10]通过建立 I/R 小鼠模型，研究发现 I/R 小鼠模型 miR-195 表达和心肌细胞凋亡率明显增加，转染 miR-195mimic 后心肌细胞凋亡率明显增加，而转染 miR-195inhibitor 心肌细胞凋亡率明显降低，过表达 miR-195 会降低 Bcl-2 mRNA 和蛋白质的表达，认为 miR-195 可能通过调控 Bcl-2 促进心肌细胞凋亡。Liu 等[11]发现，通过电针刺激能够预防心肌缺血再灌注损伤，增加心功能，降低梗死面积，并提高 miR-214，进一步通过对心肌细胞 H9c2 转染 miR-214mimic 能够降低心肌细胞凋亡，发挥心肌保护作用。采用 miR-126mimic 上调 miR-126 表达后细胞凋亡率明显增加，caspase-3 表达明显降低，其裂解片段(17 kD)表达明显上升；而采用miR-126 inhibitor 下调 miR-126 表达后得到相反的结果。作为 caspase 家族的一员，caspase-3 是细胞凋亡过程中关键的效应因子。在细胞凋亡执行的开始阶段，caspase-3 被激活后产生 17 kD 的活性亚单位。

进一步建立 I/R 大鼠模型，转染 miR-126mimic 慢病毒后 I/R 大鼠心肌梗死范围明显增加，心肌凋亡率明显增加；而转染 miR-126inhibitor 的慢病毒则得到相反的结果。本研究结果初步表明了 miR-126 在心肌缺血再灌注损伤中的作用。郑华峰等[12]对 miR-126 在大鼠心肌缺血再灌注早期的表达及抗凋亡作用进行了研究，结果发现，在 I/R 早期大鼠心肌缺血区 miR-126 表达随再灌注时间延长、心肌细胞凋亡进展呈进行性下降；而过表达 miR-126 可减

少 I/R 导致的心肌细胞凋亡，发挥保护心功能的作用。Long 等[13]研究表明，miR-126 主要表达于内皮细胞，能负调节血管生成。他们的研究结果显示 miR-126 在血管生成和保持血管完整性方面具有重要的作用。心肌缺血发生后，心肌血管内皮细胞受损并激活人体的保护机制以及形成新生血管的能力，而 miR-126 能促进心肌恢复，降低新生血管形成[14-15]。本研究结果进一步发现，抑制 miR-126 表达可能会降低心肌细胞凋亡，无论是在体内还是体外。因此，推测 miR-126 在 I/R 可能具有双重调节作用，一方面 miR-126 表达增加能够促进受损心肌恢复，另一方面也会导致新生血管生成能力降低，抑制血管系统使血管退化。

目前，缺血再灌注损伤中细胞凋亡的机制仍不明确。Jiang 等[16]认为 miR-126 通过与热休克蛋白 70 作用参与心肌细胞凋亡。本研究中未对 miR-126 的目标基因进行明确，需要进一步研究以阐明miR-126 调控心肌细胞凋亡的确切作用机制。

综上所述，miR-126 表达能够影响心肌缺血再灌注损伤，此外，抑制 miR-126 表达可能会降低心肌细胞凋亡。本研究报道了心肌缺血再灌注损伤中一种新的识别分子，并为将来心肌缺血再灌注损伤的临床治疗提供了可能的药物作用靶点。

参 考 文 献

[1] Lobb I, Davison M, Carter D, et al. Hydrogen sulfide treatment mitigates renal allograft ischemia-reperfusion injury during cold storage and improves early transplant kidney function and survival following allogeneic renal transplantation[J]. J Urol, 2015, 194(6): 1806-1815.

[2] Chen L, Wang J, Wang B, et al. MiR-126 inhibits vascular endothelial cell apoptosis through targeting PI3K/Akt signaling[J]. Ann Hematol, 2016, 95(3): 365-374.

[3] Wu K, Yang Y, Zhong Y, et al. The effects of microvesicles on endothelial progenitor cells are compromised in type 2 diabetic patients via downregulation of the miR-126/VEGFR2 pathway[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2016, 310(10): E828-837.

[4] Wang L, Lee AY, Wigg JP, et al. miR-126 regulation of angiogenesis in age-related macular degeneration in CNV mouse model[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(6): piiE895.

[5] 刘付平，姚宏伟，李 俊，等. 大鼠心肌缺血再灌注损伤模型的改进[J]. 安徽医科大学学报，2003，38(3)：234-236.

[6] Penna C, Brancaccio M, Tullio F, et al. Overexpression of the muscle-specific protein, melusin, protects from cardiac ischemia/reperfusion injury[J]. Basic Res Cardiol, 2014, 109(4): 418.

[7] Yang J, Fan Z, Yang J, et al. microRNA-22 attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury via an anti-inflammatory mechanism in rats[J]. Exp Ther Med, 2016, 12(5): 3249-3255.

[8] Wu Z, Qi Y, Guo Z, et al. miR-613 suppresses ischemia-reperfusion-induced cardiomyocyte apoptosis by targeting the programmed cell death 10 gene[J]. Biosci Trends, 2016, 10(4): 251-257.

[9] Zuo Y, Wang Y, Hu H, et al. Atorvastatin protects Myocardium against ischemia-reperfusion injury through inhibiting miR-199a-5p[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 39(3): 1021-1030.

[10] Gao CK, Liu H, Cui CJ, et al. Roles of MicroRNA-195 in cardiomyocyte apoptosis induced by myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. J Genet, 2016, 95(1): 99-108.

[11] Liu PY, Tian Y, Xu SY. Mediated protective effect of electroacupuncture pretreatment by miR-214 on myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. J Geriatr Cardiol, 2014, 11(4): 303-310.

[12] 郑华峰，陶 晶，张 斌，等. MiR-126 在大鼠心肌缺血再灌注早期的表达及抗凋亡作用[J]. 中国心血管病研究，2015，13(11)：1041-1046，1055-1056.

[13] Long G, Wang F, Li H, et al. Circulating miR-30a, miR-126 and let-7b as biomarker for ischemic stroke in humans[J]. BMC Neurol, 2013, 16(13): 178.

[14] 郑志伟，朱志伟，郑 滢，等. miR-126 对 EA.hy926 细胞血管内皮生长因子表达的调控作用[J]. 中国病理生理杂志，2014，30(1)：30-34.

[15] Li Z, Li N, Wu M, et al. Expression of miR-126 suppresses migration and invasion of colon cancer cells by targeting CXCR4[J]. Mol Cell Biochem, 2013, 381(1-2): 233-242.

[16] Jiang C, Ji N, Luo G, et al. The effects and mechanism of miR-92a and miR-126 on myocardial apoptosis in mouse ischemia-reperfusion model[J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 70(3): 1901-1906.

（责任编辑：冉明会）