

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2019.04.0386

· 论 著 ·

微 RNA-21 通过激活沉默信息调控因子 1 信号通路缓解多柔比星心肌毒性

郭 显^{1,2}, 史承勇¹, 王文生², 余 慧¹, 李 攀^{1*}, 赵仙先^{1*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)长海医院心血管内科, 上海 200433

2. 解放军 95247 部队医院, 惠州 516259

[摘要] **目的** 探讨微 RNA-21 (miR-21) 能否减轻多柔比星 (DOX) 心肌毒性, 并阐明沉默信息调控因子 1 (SIRT1) 信号通路是否介导其作用。**方法** 用 DOX (1 $\mu\text{mol/L}$) 处理大鼠原代心肌细胞构建 DOX 心肌毒性模型。将心肌细胞分为 8 组: 对照组、miR-21 组、miR-21 抑制剂组、DOX 组、miR-21+DOX 组、miR-21 抑制剂+DOX 组、Sirtinol+miR-21+DOX 组、Sirtinol+DOX 组, miR-21 mimics、miR-21 抑制剂和 Sirtinol (SIRT1 抑制剂) 分别于 DOX 处理前 24 h 加入细胞培养液中。DOX 处理 24 h 后检测心肌细胞的细胞活力、凋亡率、凋亡相关蛋白和 SIRT1 信号通路表达情况。**结果** 与对照组相比, DOX 处理 24 h 后心肌细胞活力降低, Bcl-2 和 SIRT1 表达量降低, 而 Bax 和 cleaved Caspase-3 表达量增加, 细胞凋亡率增高, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。与 DOX 组相比, miR-21 可明显提高心肌细胞活力, 上调 Bcl-2 和 SIRT1 表达, 下调 Bax 和 cleaved Caspase-3 表达, 降低细胞凋亡率, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。抑制 SIRT1 信号通路可削弱 miR-21 对心肌细胞的保护作用 ($P<0.05$)。**结论** miR-21 可通过激活 SIRT1 信号通路抑制心肌细胞凋亡, 提高细胞活力, 缓解 DOX 心肌毒性。

[关键词] 多柔比星; 心肌毒性; 微 RNA-21; 沉默信息调控因子 1; 细胞凋亡**[中图分类号]** R 979.1**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2019)04-0386-08

MicroRNA-21 attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity by activating silent information regulator 1 signaling pathway

GUO Xian^{1,2}, SHI Cheng-yong¹, WANG Wen-sheng², YU Hui¹, LI Pan^{1*}, ZHAO Xian-xian^{1*}

1. Department of Cardiovasology, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

2. Hospital of PLA No. 95247 Troop, Huizhou 516259, Guangdong, China

[Abstract] **Objective** To explore whether microR-21 (miR-21) can alleviate doxorubicin (DOX)-induced cardiotoxicity and whether silent information regulator 1 (SIRT1) signaling pathway mediates the roles. **Methods** Neonatal rat cardiac myocytes were treated with DOX (1 $\mu\text{mol/L}$) to induce DOX myocardial toxicity model. The cardiomyocytes were randomized into 8 groups: control group, miR-21 group, miR-21 inhibitor group, DOX group, miR-21+DOX group, miR-21 inhibitor+DOX group, Sirtinol+miR-21+DOX group and Sirtinol+DOX group. The miR-21 mimics, miR-21 inhibitors and Sirtinol (SIRT1 inhibitor) were given at 24 h before DOX treatment. After treatment with DOX for 24 h, the cell viability, apoptosis rate, and the expression levels of apoptosis-related proteins and SIRT1 signaling pathway were detected. **Results** Compared with the control group, the cell viability, and the expression levels of Bcl-2 and SIRT1 were significantly decreased in the cardiomyocytes after treatment with DOX for 24 h, while the expression levels of Bax and cleaved Caspase-3, and apoptotic rate were significantly increased ($P<0.05$). Compared with the DOX group, miR-21 significantly increased cell viability and the expression levels of Bcl-2 and SIRT1, and significantly decreased the expression levels of Bax and cleaved Caspase-3 and apoptotic rate ($P<0.05$). Inhibiting SIRT1 signaling pathway could significantly weaken the protective effect of miR-21 on cardiomyocytes ($P<0.05$). **Conclusion** miR-21 can inhibit cardiomyocyte apoptosis, increase cell viability and alleviate DOX-induced cardiotoxicity by activating SIRT1 signaling pathway.

[Key words] doxorubicin; cardiotoxicity; miR-21; silent information regulator 1; cell apoptosis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(4): 386-393]

[收稿日期] 2018-12-04 **[接受日期]** 2019-03-14**[基金项目]** 国家自然科学基金(81570208). Supported by National Natural Science Foundation of China (81570208).**[作者简介]** 郭 显, 博士生. E-mail: guoxian1608@163.com

*通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-31161263, E-mail: smmulipan@163.com; Tel: 021-31161263, E-mail: 13601713431@163.com

多柔比星 (doxorubicin, DOX) 是临床上应用最广泛的抗肿瘤药物之一, 可用于治疗乳腺癌^[1]、卵巢癌^[2]、淋巴瘤^[3]等, 但其具有剂量相关心脏毒性, 可导致心肌病和充血性心力衰竭^[4], 因而其临床应用明显受限。心肌细胞凋亡是 DOX 心肌毒性的主要机制^[5], 抑制心肌细胞凋亡可能是缓解 DOX 心肌毒性的关键策略。

微 RNA (microRNA, miRNA) 是一类高度保守的长度约为 18~25 个核苷酸的单链非编码 RNA, 通过多种机制 (如 mRNA 切割和翻译抑制) 在转录后水平负向调控基因表达^[6-7]。miRNA 参与调节多种细胞功能, 包括细胞增殖、分化、凋亡、自噬、代谢和细胞衰老等^[8-10]。其中, miRNA-21 (miR-21) 是最早发现的哺乳动物 miRNA 之一。最新研究发现, miR-21 在缓解心肌梗死^[11]、放射性心肌损伤^[12]、心肌缺血再灌注^[13]等多种心血管疾病中发挥积极作用。此外, miR-21 还可通过抑制心肌细胞凋亡抵抗 DOX 心肌毒性^[14], 但是其具体分子机制尚未完全阐明。沉默信息调控因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 是机体内最先发现的一种具有去乙酰化酶活性的转录调节因子, 激活 SIRT1 信号通路可有效缓解 DOX 引起的心肌毒性^[15]。已有文献报道, miR-21 可通过激活 SIRT1 信号通路抑制肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 诱导的肾内髓质集合管细胞 CD40 表达^[16]。然而, miR-21 是否通过激活 SIRT1 信号通路缓解 DOX 心肌毒性尚未见报道。本研究拟采用 DOX 处理大鼠原代心肌细胞构建 DOX 心肌毒性模型, 观察 miR-21 能否减轻 DOX 心肌毒性并阐明 SIRT1 是否介导其作用。

1 材料和方法

1.1 主要试剂 DOX (货号: D1515)、Sirtinol (SIRT1 抑制剂; 货号: S7942) 和四甲基偶氮唑盐 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT; 货号: M5655) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; miR-21 mimics、miR-21 抑制剂和 miR-21 错义链购自上海吉玛制药技术有限公司; 抗 SIRT1 抗体购自英国 Abcam 公司; 抗乙酰化叉头框蛋白 O1 (acetylated forkhead box protein O1, Ac-FOXO1) 抗体购自美国 Santa Cruz 公司; 抗 Bcl-2、Bax、cleaved

Caspase-3 和 β -actin 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 羊抗兔、羊抗鼠抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 原位末端转移酶标记 (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 凋亡检测试剂盒购自瑞士 Roche 公司; Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen 公司; miRNeasy Mini 试剂盒、miScript 反转录试剂盒和 miScript SYBR Green PCR 试剂盒购自美国 Qiagen 公司; 7500 快速实时荧光定量 PCR 系统购自美国 Applied Biosystems 公司。

1.2 心肌毒性细胞模型的建立 从新生大鼠心脏中分离提取原代心肌细胞 (neonatal rat cardiac myocyte, NRCM) 并进行培养^[17]。细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液培养于含 5% CO₂ 的 37 °C 恒温孵箱中。参照国际通用的 DOX 心肌毒性细胞模型的建立方法^[18], 采用 DOX (1 μ mol/L) 处理原代心肌细胞构建 DOX 心肌毒性模型。

1.3 实验分组及处理 将原代心肌细胞分为 8 组: (1) 对照组, 转染 50 nmol/L 的 miR-21 错义链; (2) miR-21 组, 转染 50 nmol/L 的 miR-21 mimics; (3) miR-21 抑制剂组, 转染 50 nmol/L 的 miR-21 抑制剂; (4) DOX 组, 先向心肌细胞转染 50 nmol/L 的 miR-21 错义链, 再用 DOX 处理 24 h; (5) miR-21+DOX 组, 先向心肌细胞转染 50 nmol/L 的 miR-21 mimics, 再用 DOX 处理 24 h; (6) miR-21 抑制剂+DOX 组, 先向心肌细胞转染 50 nmol/L 的 miR-21 抑制剂, 再用 DOX 处理 24 h; (7) Sirtinol+miR-21+DOX 组, 先向心肌细胞转染 50 nmol/L 的 miR-21 mimics 并同时给予 Sirtinol (20 μ mol/L) 处理, 然后再用 DOX 处理 24 h; (8) Sirtinol+DOX 组: 先向心肌细胞转染 50 nmol/L 的 miR-21 错义链并同时给予 Sirtinol (20 μ mol/L) 处理, 然后再用 DOX 处理 24 h。

1.4 MTT 比色法测定细胞活力 将 DOX 与原代心肌细胞在 37 °C 孵箱中温育 24 h 后, 在培养液中加入 20 μ L MTT (5 mg/mL) 处理 4 h, 随后加入二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO)。充分震荡后, 在 550 nm 波长下检测光密度, 以光密度值间接反映细胞活力。以对照组细胞活力为 100%, 其他组细胞活力为对照组的相对值。

1.5 TUNEL 染色检测细胞凋亡情况 采用 TUNEL 试剂盒检测细胞凋亡情况^[19], 荧光显微镜

下观察并拍照。细胞凋亡率(%) = TUNEL 染色阳性细胞核数量/全部细胞核数量 $\times 100\%$ 。

1.6 蛋白质印迹法检测相关蛋白的表达 通过 12% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离细胞蛋白,用湿转法转移至聚偏二氟乙烯膜;将聚偏二氟乙烯膜用 5% 牛奶在室温下封闭 1 h,分别加入 Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3、Ac-FOXO1、SIRT1 和 β -actin 抗体(稀释比例均为 1:1 000)在 4℃ 下孵育过夜;用 TBST 彻底洗涤 3 次,每次 10 min;然后,将聚偏二氟乙烯膜与辣根过氧化物酶偶联的二抗(稀释比例为 1:5 000)在室温下孵育 1 h;用 TBST 彻底洗涤 3 次,每次 10 min;通过化学发光法检测目的蛋白的表达。使用 ImageJ 软件进行蛋白表达半定量分析。

1.7 实时荧光定量 PCR 法检测 miR-21 的表达 用 miRNeasy Mini 试剂盒从心肌细胞中提取总 RNA。使用 miScript 反转录试剂盒、miScript

SYBR Green PCR 试剂盒和 7500 快速实时荧光定量 PCR 系统检测 miR-21 的表达水平,以 RNU6B 作为内参。通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因相对表达量。

1.8 统计学处理 采用 GraphPad Prism 5 软件进行统计学分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间差异的比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 miR-21 提高 DOX 处理后心肌细胞活力 实时荧光定量 PCR 结果(图 1A)显示,与对照组相比,miR-21 组和 DOX 组心肌细胞 miR-21 的表达量升高($P < 0.05$)。MTT 结果(图 1B)显示,与对照组相比,DOX 组心肌细胞活力降低($P < 0.05$),而 miR-21 可以提高 DOX 处理后心肌细胞活力($P < 0.05$);miR-21 组与对照组相比心肌细胞活力差异无统计学意义($P > 0.05$)。

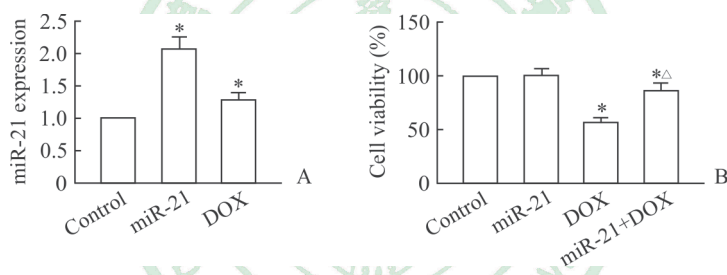


图1 miR-21对DOX处理后新生大鼠心肌细胞活力的影响

Fig 1 Effect of miR-21 on cell viability of DOX-treated neonatal rat cardiomyocytes

A: miR-21 expression level; B: Cell viability. miR-21: microRNA-21; DOX: Doxorubicin. * $P < 0.05$ vs control group; ^ $P < 0.05$ vs DOX group. $n = 4$, $\bar{x} \pm s$

2.2 miR-21 抑制 DOX 处理后心肌细胞凋亡水平 TUNEL 染色结果(图 2A、2B)显示,与对照组相比,DOX 组心肌细胞凋亡率增高,而 miR-21 可降低 DOX 处理后心肌细胞凋亡率($P < 0.05$);miR-21 组与对照组相比心肌细胞凋亡率差异无统计学意义($P > 0.05$)。进一步通过蛋白质印迹法检测凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 和 cleaved Caspase-3 的表达量,结果(图 2C~2E)显示,与对照组相比,DOX 增加了心肌细胞 Bax 和 cleaved Caspase-3 的表达量并降低了 Bcl-2 的表达量($P < 0.05$);miR-21 可降低 DOX 处理后心肌细胞内 Bax 和 cleaved Caspase-3 表达量,提高 Bcl-2 表达量($P < 0.05$);miR-21 组与对照组相比,心肌细胞 Bax、Bcl-2 和 cleaved Caspase-3 的表达量差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 miR-21 激活 DOX 处理后心肌细胞 SIRT1 信号通路 蛋白质印迹分析结果(图 3)显示,与对照组相比,DOX 组心肌细胞 SIRT1 表达量降低、Ac-FOXO1 表达量增高($P < 0.05$),而 miR-21 可以提高 DOX 处理后心肌细胞 SIRT1 表达量、降低 Ac-FOXO1 表达量($P < 0.05$)。采用 Sirtinol 特异性地抑制 SIRT1 信号通路后,与 miR-21+DOX 组相比,Sirtinol+miR-21+DOX 组心肌细胞内 SIRT1 的表达量降低,而 Ac-FOXO1 的表达量增高($P < 0.05$)。观察 miR-21 抑制剂对于 SIRT1 表达的影响,结果显示,与 DOX 组相比,miR-21 抑制剂+DOX 组心肌细胞内 SIRT1 的表达量进一步降低,而 Ac-FOXO1 的表达量进一步增高($P < 0.05$)。

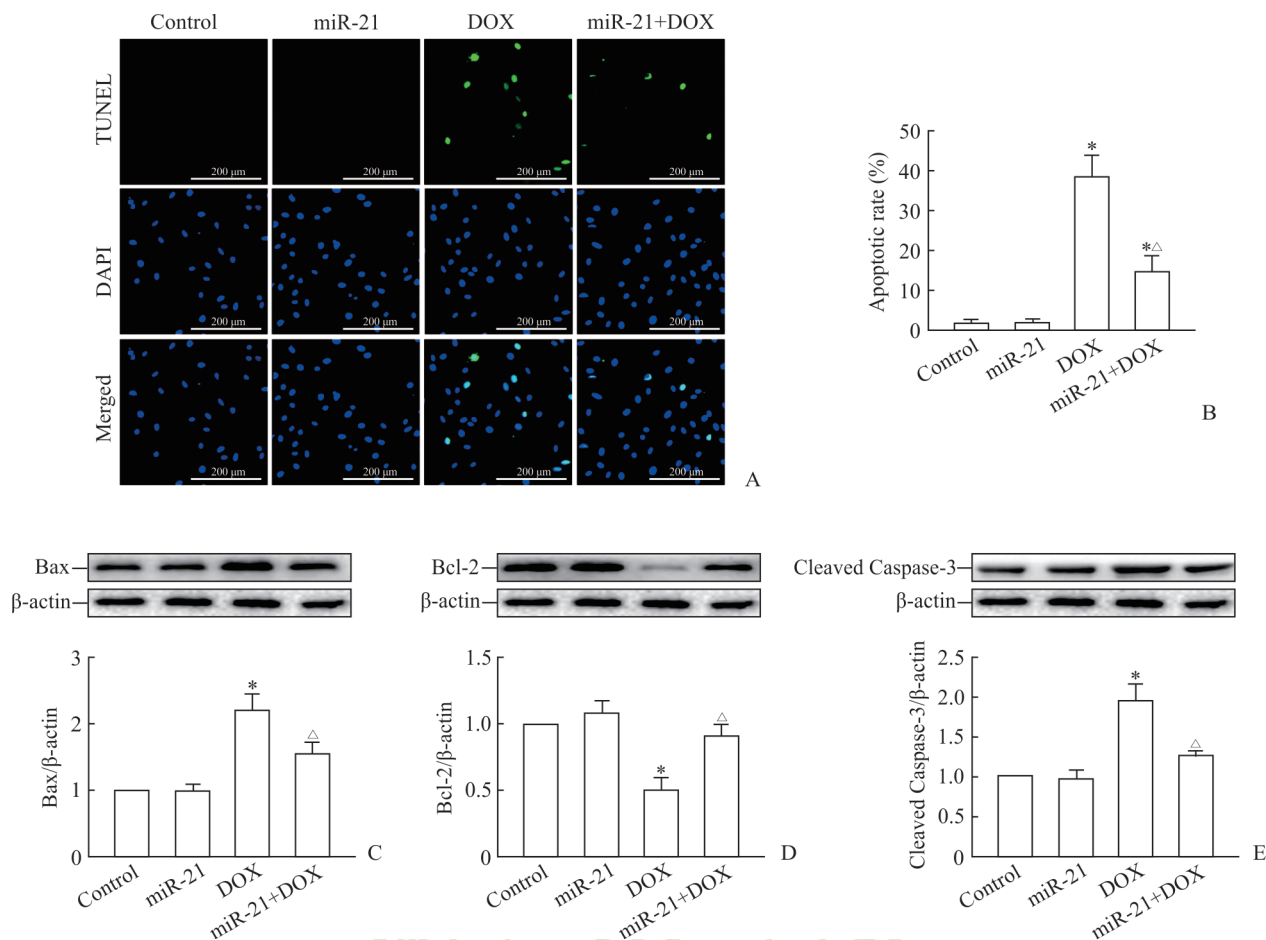


图2 miR-21 对 DOX 处理后新生大鼠心肌细胞凋亡的影响

Fig 2 Effects of miR-21 on apoptosis of DOX-treated neonatal rat cardiomyocytes

A: TUNEL images; B: The apoptotic rate; C: Bax expression detected by Western blotting; D: Bcl-2 expression detected by Western blotting; E: Cleaved Caspase-3 expression detected by Western blotting. miR-21: microRNA-21; DOX: Doxorubicin; TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling; DAPI: 4',6-Diamidino-2-phenylindole. * $P < 0.05$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs DOX group. $n = 4$, $\bar{x} \pm s$

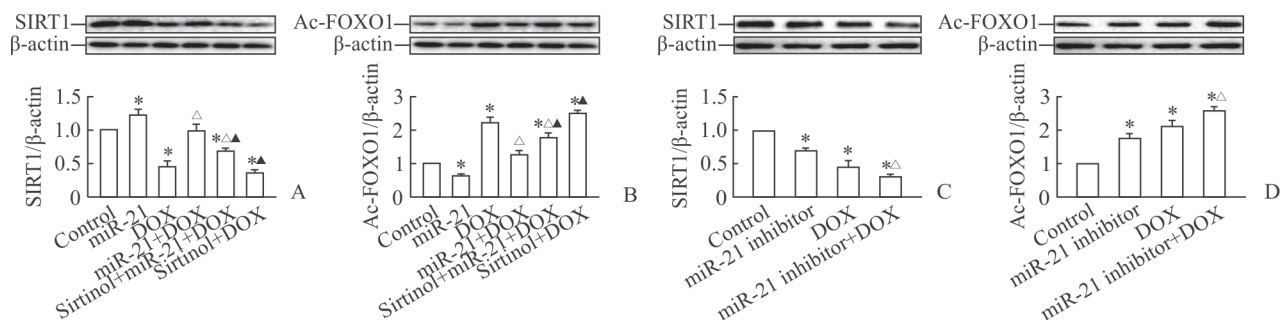


图3 miR-21、Sirtinol 和 miR-21 抑制剂对 DOX 处理后新生大鼠心肌细胞 SIRT1 信号通路的影响

Fig 3 Effect of miR-21, Sirtinol and miR-21 inhibitors on SIRT1 signaling pathway of DOX-treated neonatal rat cardiomyocytes

A: Effect of miR-21 and Sirtinol on SIRT1 expression detected by Western blotting; B: Effect of miR-21 and Sirtinol on Ac-FOXO1 expression detected by Western blotting; C: Effect of miR-21 inhibitor on SIRT1 expression detected by Western blotting; D: Effect of miR-21 inhibitor on Ac-FOXO1 expression detected by Western blotting. miR-21: microRNA-21; DOX: Doxorubicin; SIRT1: Silent information regulator 1; Ac-FOXO1: Acetylated forkhead box protein O1. * $P < 0.05$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs DOX group; $\Delta P < 0.05$ vs miR-21 + DOX group. $n = 4$, $\bar{x} \pm s$

2.4 阻断 SIRT1 信号通路削弱 miR-21 抗 DOX 心肌毒性作用 如图 4 所示,与 miR-21+DOX 组相比, Sirtinol+miR-21+DOX 组心肌细胞的细胞活力降低 ($P<0.05$),提示阻断 SIRT1 信号通路削弱了 miR-21 抗 DOX 心肌毒性作用。

2.5 阻断 SIRT1 信号通路削弱 miR-21 抗心肌细胞凋亡作用 TUNEL 染色结果 (图 5A、5B) 显示,与 miR-21+DOX 组相比, Sirtinol+miR-21+DOX 组心肌细胞凋亡率增高 ($P<0.05$); Sirtinol+DOX 组与 DOX 组相比,心肌细胞凋亡率差异无统计学意义 ($P>0.05$)。蛋白质印迹分析结果 (图 5C~5E) 显示,与 miR-21+DOX 组相比, Sirtinol+miR-21+DOX 组心肌细胞 Bax 和 cleaved Caspase-3 的表达量增高、Bcl-2 表达量降低 ($P<0.05$); Sirtinol+DOX 组与 DOX 组相比,

心肌细胞 Bax、Bcl-2 和 cleaved Caspase-3 的表达量差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

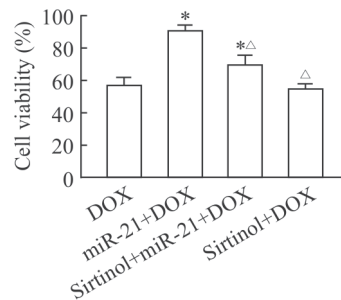
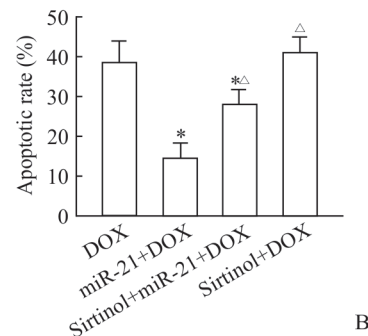
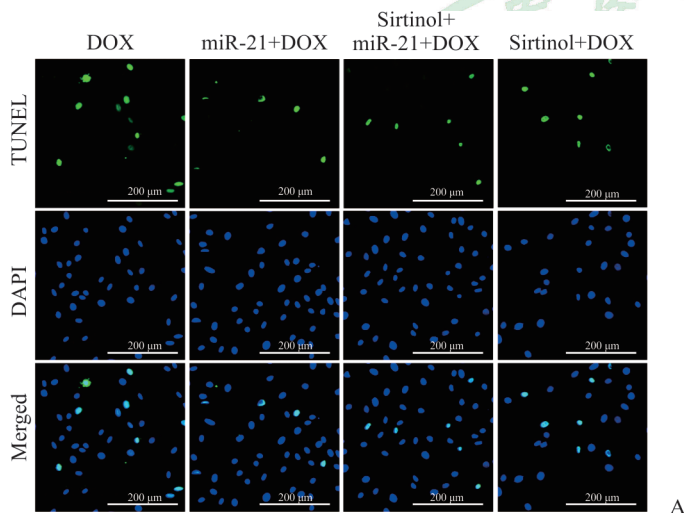


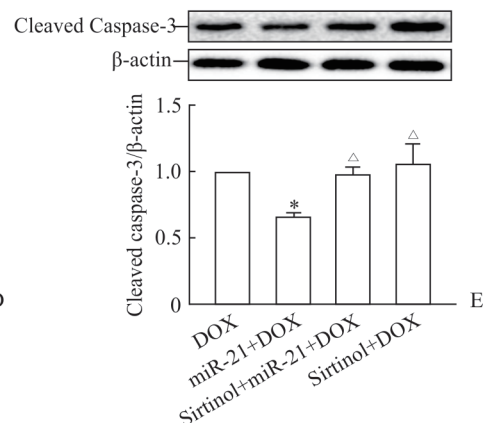
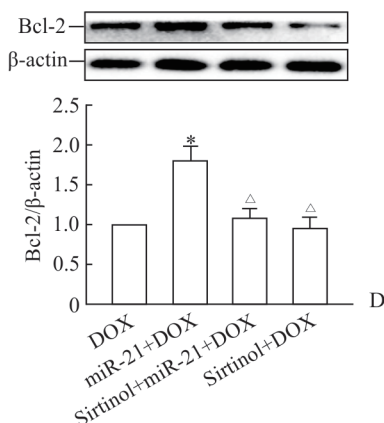
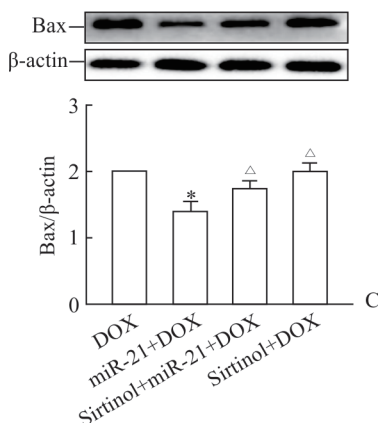
图 4 miR-21 和 Sirtinol 对 DOX 处理后新生大鼠心肌细胞活力的影响

Fig 4 Effect of miR-21 and Sirtinol on cell viability of DOX-treated neonatal rat cardiomyocytes

miR-21: microRNA-21; DOX: Doxorubicin. * $P<0.05$ vs DOX group; $\Delta P<0.05$ vs miR-21+DOX group. $n=4$, $\bar{x}\pm s$



B



E

图 5 miR-21 和 Sirtinol 对 DOX 处理后新生大鼠心肌细胞凋亡的影响

Fig 5 Effects of miR-21 and Sirtinol on apoptosis of DOX-treated neonatal rat cardiomyocytes

A: Representative TUNEL images; B: The apoptotic rate; C: Bax expression detected by Western blotting; D: Bcl-2 expression detected by Western blotting; E: Cleaved Caspase-3 expression detected by Western blotting. miR-21: microRNA-21; DOX: Doxorubicin; TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling; DAPI: 4',6-Diamidino-2-phenylindole. * $P<0.05$ vs DOX group; $\Delta P<0.05$ vs miR-21+DOX group. $n=4$, $\bar{x}\pm s$

3 讨论

研究发现, miRNA 是一类短链非编码 RNA, 可通过结合 mRNA 引起 mRNA 降解或翻译抑制进而调节基因表达, 是调节细胞增殖、分化、凋亡、应激反应和肿瘤发生的重要调节因子^[20]。近年来, miRNA 在心血管系统中的作用越来越受到重视。miRNA 可作为冠状动脉粥样硬化性心脏病、心肌梗死和心力衰竭等多种心血管疾病的生物诊断标志物^[21]。此外, 基于 miRNA 的新型治疗策略在心血管病方面的应用也已取得重大进展^[22]。

研究表明 miR-21 在心血管系统中高度表达, 是缓解心肌肥厚、放射性心肌损伤、心力衰竭以及缺血性心脏病等心血管疾病的重要干预靶点, 并在调节心肌细胞生长和死亡以及心脏成纤维细胞功能中发挥重要作用^[11-13, 23-26]。过表达 miR-21 可减轻缺血引起的细胞凋亡、减少心肌梗死面积^[11]。miR-21 能够通过调控 PTEN/Akt 信号通路抵抗缺血/再灌注和缺氧/复氧诱导的心肌细胞凋亡^[13]。Dai 等^[25]证实, miR-21 能有效缓解糖尿病小鼠早期心脏舒张功能障碍, 降低活性氧的产量, 减轻心肌细胞肥大。此外, 过表达 miR-21 可减弱 DOX 诱导的心肌细胞凋亡, 而抑制其表达会增加 DOX 诱导的细胞凋亡^[14]。本研究发现, DOX 处理心肌细胞后, miR-21 的表达量增高, 提示 miR-21 表达的增高可能是细胞受到 DOX 刺激后引发的一种内源性保护机制。通过外源性上调 miR-21 表达, 我们发现 miR-21 能够有效改善 DOX 处理后心肌细胞活力, 减少细胞凋亡。

SIRT1 在动脉粥样硬化、心肌肥厚、心肌缺血再灌注损伤、心肌梗死、心力衰竭等多种心血管疾病中发挥保护作用^[27]。激活 SIRT1 信号通路是缓解 DOX 心肌毒性的有效策略。Ruan 等^[15]证实, SIRT1 过表达可通过抑制 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK) 磷酸化和 Caspase-3 激活减少 DOX 诱导的心肌细胞凋亡, 减少活性氧的产量。Cui 等^[28]发现, 红细胞生成素可通过激活 SIRT1 增强线粒体功能并预防 DOX 诱导的心肌毒性。Yuan 等^[29]证实, 心脏特异性过表达 C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白 3 (C1q/tumour necrosis factor-related protein 3, CTRP3) 可通过激活 SIRT1 信号

通路改善 DOX 引起的心脏功能障碍, 减轻 DOX 诱导的心脏炎症反应和细胞凋亡。本研究证实, DOX 处理的原代心肌细胞中 SIRT1 的表达量较正常心肌细胞降低, 而 SIRT1 下游靶蛋白 FOXO1 的乙酰化水平增高, 提示 DOX 可使 SIRT1 去乙酰化酶活性受损, 这与既往研究结果^[15]一致。SIRT1 信号通路的受损还伴随心肌细胞凋亡率增高, Bax 和 cleaved Caspase-3 的表达量增高, Bcl-2 的表达量降低。本研究发现 miR-21 可以明显上调 DOX 处理后心肌细胞内 SIRT1 的表达量, 降低 Ac-FOXO1 的表达水平, 改善心肌细胞活力并且抑制心肌细胞凋亡。而阻断 SIRT1 信号通路后, miR-21 的上述保护作用明显减弱。以上结果提示, miR-21 可通过激活 SIRT1 信号通路改善 DOX 心肌毒性。此外, 本研究还发现通过 miR-21 抑制剂下调 miR-21 的表达可降低心肌细胞内 SIRT1 的表达。近年来研究发现, miR-21 主要通过负向调控 *PDCD4*、*FASL*、*PTEN*、*SPRY1* 等基因发挥心血管保护作用^[30]。鉴于 miR-21 主要是通过降解 mRNA 或抑制翻译过程发挥负向调控作用, 我们推测 miR-21 并非直接作用于 *SIRT1* 基因, 而可能通过抑制 *SIRT1* 基因的负向调控分子间接提高 SIRT1 的表达水平。但 miR-21 具体通过负向调控哪种分子影响 SIRT1 的表达仍需进一步研究。

综上所述, 本研究证实 miR-21 是缓解 DOX 心肌毒性的有效干预靶点, miR-21 主要通过激活 SIRT1 信号通路抑制心肌细胞凋亡途径发挥其保护作用。值得注意的是, miR-21 也是参与多种癌症发生发展的重要 miRNA 之一, 其在许多实体肿瘤中高度表达, 并且与肿瘤生长、侵袭和转移密切相关^[31]。例如, miR-21 能够刺激非小细胞肺癌细胞生长和增殖、肿瘤血管生成、肿瘤侵袭和转移, 增加肿瘤化学治疗和放射治疗抵抗^[32]; 上调 miR-21 表达能够促进人舌鳞癌细胞的增殖, 抑制细胞凋亡^[33]; 联合使用 DOX 和 miR-21 抑制剂可减少成胶质细胞瘤肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移^[34]。因此, miR-21 的临床应用必须同时关注其对心肌细胞和肿瘤细胞的双重作用。如何选择性地提高心肌组织 miR-21 表达并降低肿瘤组织 miR-21 表达, 可能成为缓解化学治疗药物心肌毒性、增强肿瘤杀伤能力的新研究方向。

[参考文献]

- [1] KATSUTA E, YAN L, NAGAHASHI M, RAZA A, STURGILL J L, LYON D E, et al. Doxorubicin effect is enhanced by sphingosine-1-phosphate signaling antagonist in breast cancer[J]. *J Surg Res*, 2017, 219: 202-213.
- [2] TEMPFER C B, GIGER-PABST U, SEEBACHER V, PETERSEN M, DOGAN A, REZNICZEK G A. A phase I, single-arm, open-label, dose escalation study of intraperitoneal cisplatin and doxorubicin in patients with recurrent ovarian cancer and peritoneal carcinomatosis[J]. *Gynecol Oncol*, 2018, 150: 23-30.
- [3] ZHAI Q, CHEN Y, XU J, HUANG Y, SUN J, LIU Y, et al. Lymphoma immunochemotherapy: targeted delivery of doxorubicin via a dual functional nanocarrier[J]. *Mol Pharm*, 2017, 14: 3888-3895.
- [4] MINOTTI G, MENNA P, SALVATORELLI E, CAIRA G, GIANNI L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity[J]. *Pharmacol Rev*, 2004, 56: 185-229.
- [5] ZHANG YW, SHI J, LI Y J, WEI L. Cardiomyocyte death in doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2009, 57: 435-445.
- [6] LI J, XU J, CHENG Y, WANG F, SONG Y, XIAO J. Circulating microRNAs as mirrors of acute coronary syndromes: miRacle or quagMire?[J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17: 1363-1370.
- [7] LIU X, XIAO J, ZHU H, WEI X, PLATT C, DAMILANO F, et al. miR-222 is necessary for exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling[J]. *Cell Metab*, 2015, 21: 584-595.
- [8] CHEN J, HUANG Z P, SEOK H Y, DING J, KATAOKA M, ZHANG Z, et al. miR-17-92 cluster is required for and sufficient to induce cardiomyocyte proliferation in postnatal and adult hearts[J]. *Circ Res*, 2013, 112: 1557-1566.
- [9] MELMAN Y F, SHAH R, DANIELSON K, XIAO J, SIMONSON B, BARTH A, et al. Circulating microRNA-30d is associated with response to cardiac resynchronization therapy in heart failure and regulates cardiomyocyte apoptosis: a translational pilot study[J]. *Circulation*, 2015, 131: 2202-2216.
- [10] WANG N, YANG J, ZHANG H, LU X, WANG J, CAO Y, et al. MicroRNA-9a-5p alleviates ischemia injury after focal cerebral ischemia of the rat by targeting ATG5-mediated autophagy[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45: 78-87.
- [11] DONG S, CHENG Y, YANG J, LI J, LIU X, WANG X, et al. MicroRNA expression signature and the role of microRNA-21 in the early phase of acute myocardial infarction[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 29514-29525.
- [12] VICZENCZOVA C, SZEIFFOVA BACOVA B, EGAN BENOVA T, KURA B, YIN C, WEISMANN P, et al. Myocardial connexin-43 and PKC signalling are involved in adaptation of the heart to irradiation-induced injury: implication of miR-1 and miR-21[J]. *Gen Physiol Biophys*, 2016, 35: 215-222.
- [13] YANG Q, YANG K, LI A. microRNA-21 protects against ischemia-reperfusion and hypoxia-reperfusion-induced cardiocyte apoptosis via the phosphatase and tensin homolog/Akt-dependent mechanism[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9: 2213-2220.
- [14] TONG Z, JIANG B, WU Y, LIU Y, LI Y, GAO M, et al. MiR-21 protected cardiomyocytes against doxorubicin-induced apoptosis by targeting BTG2[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16: 14511-14525.
- [15] RUAN Y, DONG C, PATEL J, DUAN C, WANG X, WU X, et al. SIRT1 suppresses doxorubicin-induced cardiotoxicity by regulating the oxidative stress and p38MAPK pathways[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35: 1116-1124.
- [16] LIN Q, GENG Y, ZHAO M, LIN S, ZHU Q, TIAN Z. MiR-21 regulates TNF- α -induced CD40 expression via the SIRT1-NF- κ B pathway in renal inner medullary collecting duct cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41: 124-136.
- [17] ZHAI M, LIU Z, ZHANG B, JING L, LI B, LI K, et al. Melatonin protects against the pathological cardiac hypertrophy induced by transverse aortic constriction through activating PGC-1 β : *in vivo* and *in vitro* studies[J/OL]. *J Pineal Res*, 2017, 63: e12433. doi: 10.1111/jpi.12433.
- [18] ZHU S G, KUKREJA R C, DAS A, CHEN Q, LESNEFSKY E J, XI J. Dietary nitrate supplementation protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy by improving mitochondrial function[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57: 2181-2189.
- [19] ZHAI M, LI B, DUAN W, JING L, ZHANG B, ZHANG M, et al. Melatonin ameliorates myocardial ischemia reperfusion injury through SIRT3-dependent regulation of oxidative stress and apoptosis[J/OL]. *J Pineal Res*, 2017, 63: e12419. doi: 10.1111/jpi.12419.
- [20] DA COSTA MARTINS P A, LEPTIDIS S, SALIC K, DE WINDT L J. MicroRNA regulation in cardiovascular disease[J]. *Curr Drug Targets*, 2010, 11: 900-906.
- [21] SCHULTE C, KARAKAS M, ZELLER T. microRNAs in cardiovascular disease—clinical application[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 55: 687-704.

- [22] VIJAYARATHNA S, OON C E, JOTHY S L, CHEN Y, KANWAR J R, SASIDHARAN S. MicroRNA pathways: an emerging role in identification of therapeutic strategies[J]. *Curr Gene Ther*, 2014, 14: 112-120.
- [23] CHENG Y, ZHANG C. MicroRNA-21 in cardiovascular disease[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2010, 3: 251-255.
- [24] GUPTA S K, ITAGAKI R, ZHENG X, BATKAI S, THUM S, AHMAD F, et al. miR-21 promotes fibrosis in an acute cardiac allograft transplantation model[J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 110: 215-226.
- [25] DAI B, LI H, FAN J, ZHAO Y, YIN Z, MIE X, et al. MiR-21 protected against diabetic cardiomyopathy induced diastolic dysfunction by targeting gelsolin[J/OL]. *Cardiovasc Diabetol*, 2018, 17: 123. doi: 10.1186/s12933-018-0767-z.
- [26] 肖静,潘宇,李晓红,杨翔宇,姜霖,冯娟,等. 心脏干细胞来源的 exosomes 通过传递 miR-21 抗心肌细胞凋亡[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32: 1533.
- [27] D'ONOFRIO N, SERVILLO L, BALESTRIERI M L. SIRT1 and SIRT6 signaling pathways in cardiovascular disease protection[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 28: 711-732.
- [28] CUI L, GUO J, ZHANG Q, YIN J, LI J, ZHOU W, et al. Erythropoietin activates SIRT1 to protect human cardiomyocytes against doxorubicin-induced mitochondrial dysfunction and toxicity[J]. *Toxicol Lett*, 2017, 275: 28-38.
- [29] YUAN Y P, MA Z G, ZHANG X, XU S C, ZENG X F, YANG Z, et al. CTRP3 protected against doxorubicin-induced cardiac dysfunction, inflammation and cell death via activation of Sirt1[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 114: 38-47.
- [30] OYAMA Y, BARTMAN C M, GILE J, ECKLE T. Circadian microRNAs in cardioprotection[J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23: 3723-3730.
- [31] HUANG Y, YANG Y B, ZHANG X H, YU X L, WANG Z B, CHENG X C. MicroRNA-21 gene and cancer[J/OL]. *Med Oncol*, 2013, 30: 376. doi: 10.1007/s12032-012-0376-8.
- [32] BICA-POP C, COJOCNEANU-PETRIC R, MAGDO L, RADULY L, GULEI D, BERINADAN-NEAGEO L. Overview upon miR-21 in lung cancer: focus on NSCLC[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75: 3539-3551.
- [33] 初旭,刘永兴,党新文,周永红,赵咪. microRNA-21 对人舌鳞癌细胞的增殖和凋亡的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18: 1940-1943.
- [34] ZHANG S, HAN L, WEI J, SHI Z, PU P, ZHANG J, et al. Combination treatment with doxorubicin and microRNA-21 inhibitor synergistically augments anticancer activity through upregulation of tumor suppressing genes[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46: 1589-1600.

[本文编辑] 尹 茶