

沉默 Nrf2 基因的骨髓间充质干细胞移植对大鼠心肌梗死后心室重构和纤维化的影响

龙仙萍, 邓文文, 赵然尊, 郑小宇, 石蓓

(遵义医学院附属医院心内科, 贵州省遵义市 563003)

[关键词] 核因子 E2 相关因子 2; 小分子 RNA; 心肌梗死; 骨髓间充质干细胞; 心室重构

[摘要] **目的** 探讨以 siRNA 为载体沉默骨髓间充质干细胞(MSC)中核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)基因后细胞移植对大鼠心肌梗死后心肌纤维化和心室重构的影响及可能机制。**方法** 建立心肌梗死大鼠模型,随机分为沉默 Nrf2 基因的 MSC 移植组(MSC^{Nrf2-/-}组)、过表达 Nrf2 基因的 MSC 移植组(MSC^{Nrf2+/+}组)和生理盐水转染 MSC 移植组(对照组),每组 12 只。细胞移植后 28 天,采用 Masson 染色检测心肌梗死边缘区胶原沉积含量和纤维化程度,Western blot 检测梗死心肌 Nrf2 和血红素氧合酶 1(HO-1)蛋白表达水平,超声心动图评价梗死后心功能。**结果** siRNA-Nrf2 转染 MSC 后,Nrf2 蛋白表达明显减少。移植后第 28 天,MSC^{Nrf2-/-}组心肌组织纤维化程度较对照组加重,MSC^{Nrf2+/+}组心肌组织纤维化程度较对照组减轻($P < 0.05$);MSC^{Nrf2-/-}组梗死心肌中 Nrf2、HO-1 蛋白表达较对照组下降($P < 0.05$),而 MSC^{Nrf2+/+}组梗死心肌中 Nrf2、HO-1 蛋白表达较对照组增加($P < 0.05$);超声心动图结果显示,与对照组比较,MSC^{Nrf2-/-}组左室舒张期末内径(LVEDD)和左室收缩期末内径(LVESD)增大,左室射血分数(LVEF)下降($P < 0.05$),MSC^{Nrf2+/+}组 LVEDD 和 LVESD 均减小,LVEF 无下降($P < 0.05$)。**结论** siRNA-Nrf2 可有效干扰 MSC 中 Nrf2 蛋白的表达,降低外源性 MSC 对梗死心脏的修复能力,增加心肌梗死区胶原沉积,进而促进心室重构,降低心功能。由此推测 Nrf2 信号通路在干细胞移植治疗心肌梗死后心室重构和纤维化中起了关键作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of siRNA Silent Nrf2 Gene Modifying Mesenchymal Stem Cell Transplantation on the Ventricular Remodeling After Rat Myocardial Infarction

LONG Xian-Ping, DENG Wen-Wen, ZHAO Ran-Zun, ZHENG Xiao-Yu, and SHI Bei

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

[KEY WORDS] NF-E2 Related Factor 2; siRNA; Myocardial Infarction; Bone Mesenchymal Stem Cell; Ventricular Remodeling

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of Nrf2 gene in silent bone marrow mesenchymal stem cells (MSC) that take siRNA as the vector on the myocardial fibrosis and ventricular remodeling after the treatment of rat myocardial infarction (MI) with its transplantation as well as to investigate the potential mechanism of this process. **Methods** The established MI rat models were randomly divided into MSC transplantation group with silent Nrf2 gene (MSC^{Nrf2-/-}), MSC transplantation group with over expression of Nrf2 gene (MSC^{Nrf2+/+}), and MSC transplantation group with PBS (control group), 12 rats in each group. At the 28 th day after cell transplantation, the collagen deposition and fibrosis degrees after MI were evaluated using myocardial tissue Masson staining, the expression levels of infarcted myocardium Nrf2 and heme oxygenase-1 (HO-1) proteins were detected using Western blot, LVEDD, LVESD and LVEF were evaluated using echocardiography. **Results** At the 28 th day after cell transplantation, Masson staining results showed that myocardial tissue fibrosis degree in MSC^{Nrf2-/-} group was severer than that in control group ($P < 0.05$), but the MSC^{Nrf2+/+} group showed to decrease with control group ($P < 0.05$). Western blot results showed that the Nrf2 and HO-1 protein expression decreased in MSC^{Nrf2-/-} group with a statistically significant difference compared with control group ($P < 0.05$), how-

[收稿日期] 2015-01-19

[修回日期] 2015-04-07

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(NSFC 81360021);贵州省科学技术基金资助项目(黔科合J字号 LKZ[2012] 29号)

[作者简介] 龙仙萍,硕士,副主任医师,研究方向为干细胞介入治疗,E-mail 为 longxianping1201@163.com。邓文文,硕士,住院医师。通讯作者石蓓,硕士,主任医师,教授,硕士研究生导师,E-mail 为 shibei2147@163.com。

ever, the Nrf2 and HO-1 protein expression in MSC^{Nrf2+/+} group significantly increased compared with control group ($P < 0.05$). Echocardiography results showed that LVEDD and LVESD values increased and LVEF value decreased in MSC^{Nrf2-/-} group with a statistically significant difference compared with control group ($P < 0.05$). While the comparison of control group, LVEDD and LVESD values decreased and LVEF value increased in MSC^{Nrf2+/+} group. **Conclusions** Nrf2 siRNA can effectively interfere the expression of Nrf2 in MSC and reduce the repair ability of exogenous MSC for MI heart, which will increase the collagen deposition in infarcted area, thus contributing to ventricular remodeling and reducing cardiac function.

心肌梗死后由于局部恶劣的微环境(氧化应激)使神经内分泌和交感肾上腺激活增加,导致梗死后心肌重构和心肌纤维化,最终导致心肌梗死后心功能下降。近来多项研究显示骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是组织修复能力最有潜力的干细胞。动物实验和小规模的临床实验均证实 MSC 移植能改善梗死后心功能^[1-3],我们前期课题研究也显示心肌梗死后 MSC 移植 28 天兔的心功能得到改善^[4]。虽然,目前大量干细胞对组织修复性的研究得到了鼓舞,但其对组织修复的确切机制目前仍未知。核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor-E2-related factor 2, Nrf2)是一种抑制氧化应激的转录因子^[5]。Cho 等^[6]研究显示, MSC 移植后 Nrf2 激活能抑制四氯化碳(CCl₄)诱导的肝组织损伤,抑制肝纤维化。那么 MSC 移植治疗心肌梗死后, Nrf2 是否也具有心脏的保护效应呢?本研究拟通过重组干扰 Nrf2 的慢病毒载体转染 MSC 后移植治疗心肌梗死大鼠模型,观察沉默 Nrf2 的干细胞移植对梗死心肌纤维化及心室重构的影响及其可能机制。

1 材料和方法

1.1 主要实验试剂与仪器

沉默 Nrf2 基因的慢病毒载体(siRNA-Nrf2-EGFP-LV)和过表达 Nrf2 基因的慢病毒载体(shRNA-Nrf2-EGFP-LV)及仅含 EGFP 的慢病毒载体(EGFP-LV)由南京凯基生物公司合成。DMEM 培养基、胰蛋白酶和胎牛血清(Hyclone 公司)。兔抗大鼠 Nrf2 抗体、血红素氧合酶 1(heme oxygenase-1, HO-1)抗体、GAPDH 抗体和 HistoneH3 抗体(Abcam 公司);苏木精-伊红染色(HE)和 Masson 染色剂试剂盒(南京奥多福尼生物科技有限公司);图像处理系统(Leica QwinPlus, 德国莱卡公司);小动物超声机(Philip 公司)。

1.2 实验动物及分组

清洁级 SD 大鼠 60 只,雌雄不限,体重 200 ~

250 g,鼠龄 2~3 个月,购自中国人民解放军第三军医大学大坪医院动物中心[合格证号为 SCXK(渝)2012-0005]。构建心肌梗死模型成功,利用随机数字表进行随机化分组,分为沉默 Nrf2 基因的 MSC 移植组(MSC^{Nrf2-/-}组)、过表达 Nrf2 基因的 MSC 移植组(MSC^{Nrf2+/+}组)和生理盐水转染 MSC 移植组(对照组),每组 12 只。实验过程中如有动物死亡,则按同样方法补充相应的动物。

1.3 MSC 的培养、鉴定、慢病毒转染及 Nrf2 表达检测

参考课题组前期实验方法^[4]培养细胞,采用全骨髓贴壁法培养获得大鼠骨髓 MSC。第 3 代细胞用于实验。在体外,应用 EGFP-LV 转染细胞,观察慢病毒对细胞的影响,转染 PBS 作为对照。细胞转染方法参考课题组前期实验方法^[7],细胞转染后 72 h,应用流式细胞仪检测转染后细胞凋亡率,荧光显微镜观察转染细胞形态。用同样方法转染 siRNA-Nrf2-EGFP-LV 和 shRNA-Nrf2-EGFP-LV,转染 PBS 作为对照,应用 Western blot 检测病毒转染前后 MSC 中 Nrf2 蛋白的表达,使用奥德赛软件测定条带的积分光密度值(integral optical density, IOD),将目的蛋白 IOD 与内参蛋白 IOD 的比值进行统计学分析。

重复转染细胞,细胞转染后 72 h,胰蛋白酶消化细胞,以无血清 DMEM 制成 MSC^{Nrf2+/+}细胞悬液和 MSC^{Nrf2-/-}细胞悬液用于细胞移植。

1.4 大鼠心肌梗死模型的建立及细胞移植

参照课题组前期实验方法建立大鼠心肌梗死模型^[4],通过观察心室心肌局部颜色变化及心电图 ST 段变化来判断模型是否建立成功。10 min 后,采用胰岛素注射针在梗死交界区注射 $2 \times 10^6/0.3$ mL 的细胞。逐层关胸,待大鼠转为苏醒状态时清除气管内分泌物,缓慢拔出器官插管并缝合。

1.5 组织病理学检查

细胞移植后 28 天处死大鼠,立即取出心脏,沿梗死交界区中部垂直于长轴的方向切厚约 5 mm 的心肌组织存放于 10% 多聚甲醛缓冲液中固定,常规脱水,透明,石蜡包埋。常规 HE 染色和 Masson 染

色,并在普通显微镜下观察心肌组织结构。

1.6 心功能及心肌梗死面积测定

细胞移植后 28 天再次麻醉大鼠,剃毛后用频率为 10 MHz 的超声探头,置于大鼠胸骨左缘第 4、5 肋间,测量左心室舒张期末内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)和收缩期末内径(left ventricular end systolic diameter, LVESD),并计算左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。心脏彩超检测后,处死动物,取出心脏速放在 -20℃ 冻存 15 min,从心尖至心底,将每个心脏标本行心肌横断面切片为 1~2 mm 厚的组织切片,将切片置于 TTC 溶液中 37℃ 温孵 15 min,可观察到心肌梗死区未被染色,非心肌梗死区被染为红色。

1.7 Western blot 检测梗死心肌组织 Nrf2 和 HO-1 蛋白的表达

取梗死交界区心肌组织,加入适量的裂解液和 PMSF(100:1),在冰上低温快速研磨匀浆,离心后取上清液,应用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。取样品上样行 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,再将电泳蛋白转移至硝酸纤维素膜上,以 5% 脱脂奶粉溶液于室温下封闭 2 h,加入一抗于 4℃ 摇床孵育过夜,加二抗于室温下避光孵育 1 h。使用奥德赛软件测定条带的 IOD,将目的蛋白 IOD 与内参蛋白 IOD 的比值进行统计学分析。

1.8 统计学分析

所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,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。

2 结果

2.1 慢病毒转染后细胞活性变化

镜下可见第 3 代 MSC 细胞形态一致,呈长梭形,且分布均匀(图 1A)。慢病毒转染 MSC 后 72 h,可见大量 MSC 稳定表达绿色荧光,细胞形态未见明显改变,仍呈长梭形外观(图 1B)。流式细胞仪检测显示,细胞转染后 72 h,慢病毒转染和 PBS 转染对细胞凋亡率无明显增加,两组间细胞凋亡率差异无显著性($P > 0.05$;图 2)。

2.2 干扰 siRNA 对 MSC 中 Nrf2 蛋白表达的影响

Western blot 检测显示,siRNA-Nrf2 转染 MSC 后细胞 Nrf2 蛋白表达较对照组降低($P < 0.05$),而 shRNA-Nrf2 转染 MSC 后细胞 Nrf2 蛋白表达较对照组增加($P < 0.05$),表明 Nrf2 siRNA 或 Nrf2 shRNA 可干扰细胞 Nrf2 的表达(图 3)。

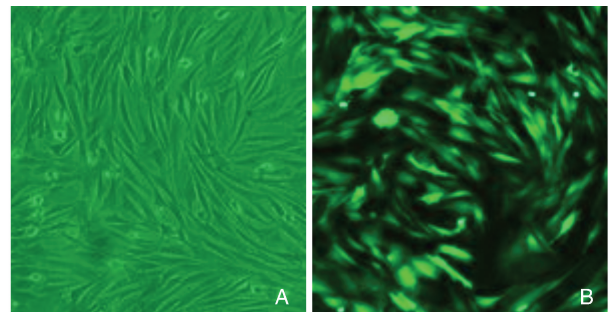


图 1. 骨髓 MSC 及病毒转染后绿色荧光蛋白表达情况($\times 100$)

Figure 1. The cultivation of rat bone marrow MSC by using tissue explants method and the expression of EGFP in the MSC after transfection($\times 100$)

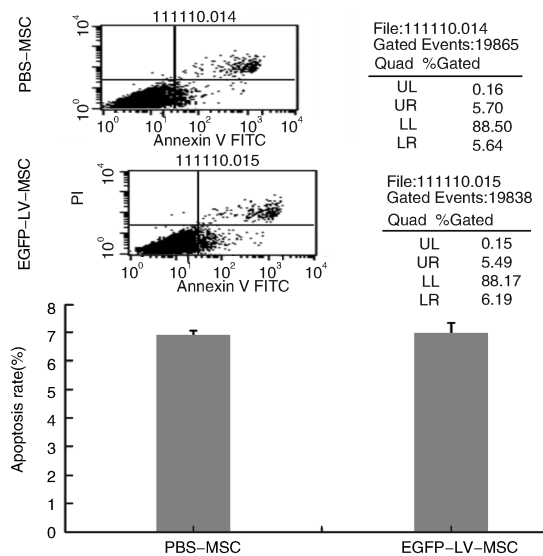


图 2. 流式细胞仪检测慢病毒转染后对细胞凋亡率的影响
Figure 2. Effect of lentiviral transfection on cell apoptosis rate detected by flow cytometry

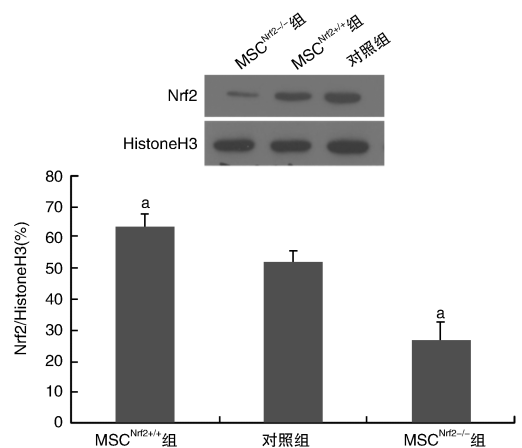


图 3. Western blot 检测 siRNA 干扰前后 Nrf2 蛋白的表达
a 为 $P < 0.05$,与对照组比较。

Figure 3. Nrf2 protein expression detected by Western blot

2.3 心肌梗死模型建立成功的判断

左冠状动脉结扎后,胸导联 ST 段弓背向上抬高大于 0.1 mV 并持续 10 min 以上提示为心肌梗死(图 4)。心肌梗死后 28 天,取大体心脏切片行 TTC 染色、HE 染色和 Masson 染色,TTC 染色白色提示梗死心肌,红色提示正常心肌。TTC 染色显示,梗死心脏中白色区域面积较正常心脏显著增大(图 5);HE 染色显示,正常心肌组织可见纤维结构清晰、心肌排列整齐,未见大量炎症细胞浸润,而梗死心肌组织可见心肌坏死,坏死心肌纤维化、排列紊乱,可见大量炎症细胞浸润(图 5);Masson 染色显示,正常心肌染成红色,胶原纤维呈蓝色,梗死心肌中胶原纤维显著增多,呈条索状,部分胶原纤维融合(图 6)。

2.4 细胞移植后心脏大体形态学变化

细胞移植后 28 天,siRNA-Nrf2 转染 MSC 移植后梗死区域较对照组增大,而 shRNA-Nrf2 转染 MSC 移植后梗死区域较对照组减小(图 7)。

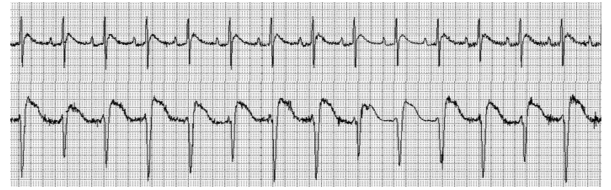


图 4. 心肌梗死前后 V2 导联心电图改变

Figure 4. The changes in V2 precordial of ECG before and after myocardial infarction

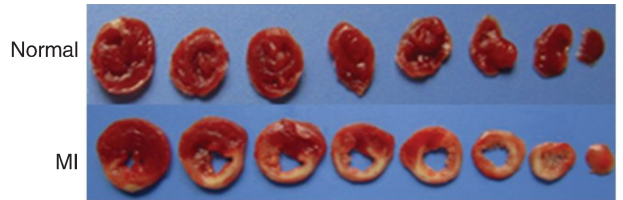


图 5. 梗死前后心脏组织的 TTC 染色

Figure 5. Cardiac tissue TTC staining before and after infarction

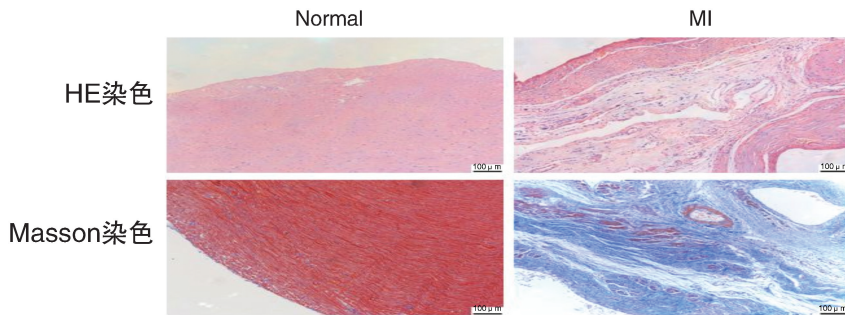


图 6. HE 染色和 Masson 染色($\times 100$)

Figure 6. HE staining and Masson staining($\times 100$)

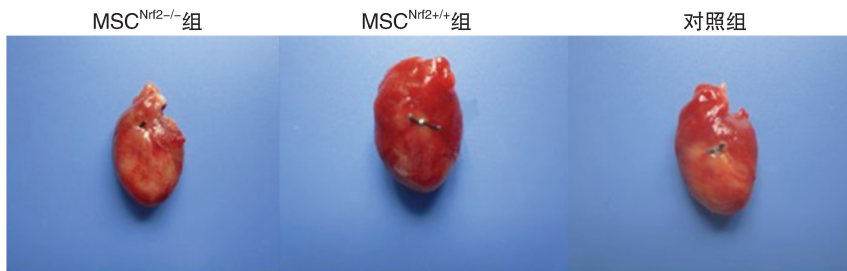


图 7. 心肌梗死后 7 天心脏大体外观

Figure 7. The gross appearance seven days after myocardial infarction

2.5 细胞移植后心脏组织形态学变化

细胞移植后 28 天,对照组左心室梗死区胶原纤维显著增多,呈条索状,部分胶原纤维融合,梗死交界区边界清晰;siRNA-Nrf2 转染 MSC 移植后心肌组织病理改变比对照组重,而 shRNA-Nrf2 转染 MSC 移植后心肌组织梗死区的纤维化程度减轻,胶原纤维

较少(图 8)。

2.6 心功能变化

心肌梗死后 28 天, siRNA-Nrf2 转染 MSC 移植后 LVEDD 和 LVESD 较对照组增大, LVEF 降低($P < 0.05$);而 shRNA-Nrf2 转染 MSC 移植后 LVEDD 和 LVESD 较对照组缩小, LVEF 增加($P < 0.05$;表 1)。

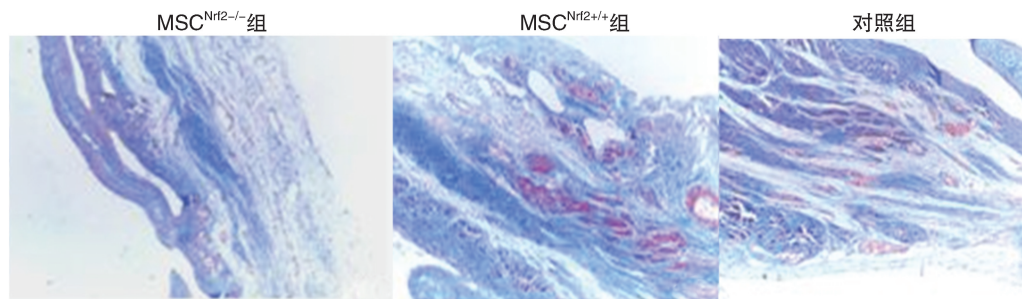


图 8. 心肌梗死后 28 天 Masson 染色 (×100)

Figure 8. Masson staining 28 days after myocardial infarction (×100)

表 1. 心肌梗死后 28 天各组 LVEF、LVEDD 和 LVESD 的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1. The comparison of LVEF, LVEDD and LVESD in each group ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

项目	MSC ^{Nrf2} -/- 组	对照组	MSC ^{Nrf2} +/+ 组
LVEF (%)	40.48 ± 1.47 ^a	44.50 ± 1.29	53.35 ± 1.07 ^a
LVEDD (mm)	1.16 ± 0.06 ^a	0.91 ± 0.03	0.80 ± 0.03 ^a
LVESD (mm)	0.90 ± 0.06 ^a	0.73 ± 0.01	0.62 ± 0.02 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.7 心肌梗死区 Nrf2 和 HO-1 蛋白的表达

心肌梗死后 28 天,与对照组比较, MSC^{Nrf2}-/- 组梗死区域 Nrf2、HO-1 表达下降 ($P < 0.05$), 而 MSC^{Nrf2}+/+ 组梗死区域 Nrf2、HO-1 表达增加 ($P < 0.05$; 图 9)。

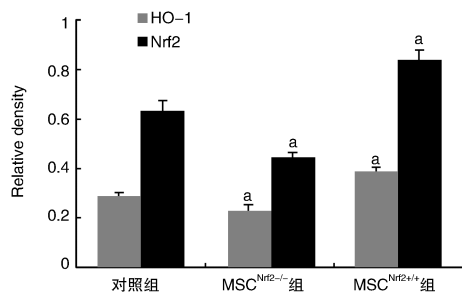
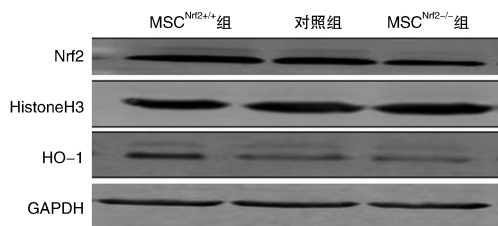


图 9. Western blot 检测心肌梗死后 28 天左心室心肌梗死区 Nrf2 和 HO-1 蛋白的表达 a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

Figure 9. Nrf2 and HO-1 protein expression 28 days after myocardial infarction detected by Western blot

3 讨论

经皮冠状动脉介入治疗 (percutaneous coronary intervention, PCI) 能够有效改善和恢复冠心病心肌梗死后血流灌注,挽救因缺血缺氧而濒临坏死心肌,改善心室重构,提高梗死后心功能。然而,PCI 术后血管再狭窄是影响 PCI 治疗远期疗效的重要因素,特别是高危再狭窄患者,可能影响着 PCI 治疗全过程。除此外,由于 PCI 治疗仍无法使梗死区域血管和心肌再生,因而其并不能对心肌梗死部位心肌细胞进行针对性的治疗。

近年来,由于 MSC 具有多项分化潜能,可以分化为心肌细胞、内皮细胞及血管平滑肌细胞^[8],是目前心脏再生治疗最有潜力的种子细胞。基础研究及临床上应用 MSC 移植治疗在提高心功能方面取得明显成效^[9-10],本课题组前期研究显示, MSC 移植心肌梗死的兔模型后,心肌梗死面积以及胶原纤维含量较对照组明显减少, MSC 移植改善梗死后心功能^[4]。然而,尽管 MSC 移植对修复受损组织和恢复梗死心肌有显著的作用,但由于细胞移植后低的细胞存活力仍影响细胞疗效^[11]。而细胞移植后大量细胞丢失的确切机制目前仍不清楚,并且这一过程中激活的相关基因及信号分子知之甚少。

Nrf2 是机体氧化反应的重要因子,其激活后可以激活下游各种抗氧化基因和Ⅱ相解毒酶基因的转录和表达,这些基因包括:HO-1、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和硫氧还蛋白等。众所周知,在氧化应激条件下会引起细胞死亡,然而,有趣的是,在这种情况下, Nrf2 表达上调。Nrf2 几乎表达于所有器官和组织中,在肝脏、肾脏、心脏均有丰富表达。在无应激情况下, Nrf2 定位于细胞浆中, Nrf2 功能处于抑制状态,当氧化应激因素存在时(心肌梗死环境), Nrf2 转录细胞核,与抗氧化反应元件结合,发挥抗氧化应激的保护作用。心肌梗死后,由于局部恶劣的微环境,导

致移植细胞持续暴露于应激环境,氧化应激的感受器通过调控抗氧化基因的表达而维持氧化还原的稳态,这一过程中 Nrf2 起了关键作用^[12]。研究显示,Nrf2 缺失能导致心脏成纤维细胞和心肌细胞对活性氧和活性氮诱导的细胞毒性的易感性增高^[13]。腺病毒转染过表达 Nrf2 能够抑制心肌细胞肥厚和心脏成纤维细胞增殖^[14]。

体外实验也证明,过表达 Nrf2 抑制心肌细胞的氧化应激,降低 Nrf2 表达后有相反的作用^[15]。除此外,Nrf2 过表达能逆转 MSC 对 CCl₄ 诱导的肝脏损伤的修复作用^[6]。由上述结果得知,Nrf2 是在炎症环境中抵御细胞毒性侵害的重要保护因子。那么 Nrf2 是否也调节 MSC 的活性因而增加移植细胞的存活率呢?为了观察 Nrf2 对 MSC 移植的影响,本研究应用慢病毒为载体携带过表达及干扰 Nrf2,转染 MSC 后移植心肌梗死的动物体内,观察过表达及沉默 Nrf2 的 MSC 对心肌修复的作用。本研究结果发现,慢病毒载体转染细胞后对细胞生物活性无影响,慢病毒转染不增加细胞的死亡率。在大鼠心肌梗死细胞移植后 28 天,沉默 Nrf2 的 MSC 移植对梗死心肌无修复作用,MSC^{Nrf2-/-}移植梗死动物的心功能无明显改善,心肌纤维化增加,且 HO-1 表达减少。而过表达 Nrf2 的 MSC 移植后,梗死动物心功能得到明显改善,心肌纤维化减少,HO-1 表达增加。这间接从正反面证实 Nrf2 在细胞移植中的保护作用,这为 MSC 移植治疗心肌梗死的新策略提供了重要的实验证据和理论依据。

[参考文献]

- [1] Zhao Y, Li T, Wei X, et al. Mesenchymal stem cell transplantation improves regional cardiac remodeling following ovine infarction[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1 (9): 685-695.
- [2] Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics-2014 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2014, 129 (3): 399-410.
- [3] Karantalis V, DiFede DL, Gerstenblith G, et al. Autologous mesenchymal stem cells produce concordant improvements in regional function, tissue perfusion, and fibrotic burden when administered to patients undergoing coronary artery bypass grafting: The Prospective Randomized Study of Mesenchymal Stem Cell Therapy in Patients Undergoing

- Cardiac Surgery (PROMETHEUS) trial[J]. *Circ Res*, 2014, 114 (8): 1 302-310.
- [4] 石蓓,刘志江,赵然尊,等.骨髓间充质干细胞移植对心肌梗死后心脏功能及损伤血管再狭窄的影响[J].*中华医学杂志*, 2011, 91 (32): 2 269-273.
- [5] Gorbunov NV, Garrison BR, McDaniel DP, et al. Adaptive redox response of mesenchymal stromal cells to stimulation with lipopolysaccharide inflammagen: mechanisms of remodeling of tissue barriers in sepsis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013: 186795.
- [6] Cho KA, Woo SY, Seoh JY, et al. Mesenchymal stem cells restore CCl₄-induced liver injury by an antioxidative process[J]. *Cell Biol Int*, 2012, 36: 1 267-274.
- [7] 石蓓,璀璨,龙仙萍,等. CGRP 修饰的间充质干细胞及其 CGRP 受体对血管平滑肌细胞增殖及表型转化的影响[J]. *中华医学杂志*, 2013, 93 (30): 2 372-376.
- [8] 刘志江,石蓓,许官学,等.骨髓间充质干细胞移植对兔颈动脉球囊损伤后再狭窄的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21 (1): 22-27.
- [9] Tang XL, Rokosh G, Sanganalmath SK, et al. Intracoronary administration of cardiac progenitor cells alleviates left ventricular dysfunction in rats with a 30-day-old infarction [J]. *Circulation*, 2010, 121 (2): 293-305.
- [10] Tan HB, Giannoudis PV, Boxall SA, et al. The systemic influence of platelet-derived growth factors on bone marrow mesenchymal stem cells in fracture patients [J]. *BMC Med*, 2015, 13: 6.
- [11] Arnous S, Mozi A, Martin J, et al. Bone marrow mononuclear cells and acute myocardial infarction [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2012, 3 (1): 2.
- [12] Abilleria S, Bevan S, Markus HS, et al. The role of genetic variants of matrix metalloproteinases in coronary and carotid atherosclerosis [J]. *J Med Gene*, 2006, 43 (12): 897-901.
- [13] Zhang Y, Xia J, Li Q, et al. NRF2/long noncoding RNA ROR signaling regulates mammary stem cell expansion and protects against estrogen genotoxicity [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (45): 31 310-318.
- [14] Mohammadzadeh M, Halabian R, Gharehbaghian A, et al. Nrf2 overexpression in mesenchymal stem cells reduces oxidative stress-induced apoptosis and cytotoxicity [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2012, 17 (3): 553-565.
- [15] Dreger H, Westphal K, Wilck N, et al. Protection of vascular cells from oxidative stress by proteasome inhibition depends on Nrf2 [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 85 (2): 395-403.

(此文编辑 文玉珊)