

## 京尼平通过 miR-499 调节缺血缺氧诱导 心肌细胞线粒体途径凋亡

倪斌, 易成, 张理科

(浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院药学部, 浙江省杭州市 310006)

[关键词] 心肌细胞; 缺血缺氧; 京尼平; 线粒体途径凋亡; miR-499

[摘要] **目的** 研究京尼平对缺血缺氧诱导心肌细胞线粒体途径凋亡的调节作用及其分子机制。**方法** 培养 H9c2 细胞并进行分组处理, 对照组用不含药物的 DMEM 在常氧条件下培养, 缺氧组用不含药物的 DMEM 在缺氧条件下培养, 低、中、高剂量京尼平组在缺氧条件下分别用含有 2.5  $\mu\text{mol/L}$ 、5.0  $\mu\text{mol/L}$ 、10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平的 DMEM 处理, NC 抑制物组在常氧条件下转染 NC 抑制物, NC 抑制物+缺氧组在缺氧条件下转染 NC 抑制物, NC 抑制物+缺氧+京尼平组在缺氧条件下转染 NC 抑制物并用含有 10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平的 DMEM 处理, miR-499 抑制物+缺氧+京尼平组在缺氧条件下转染 miR-499 抑制物并用含有 10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平的 DMEM 处理。比较组间心肌酶含量、细胞凋亡率、凋亡基因及 miR-499 表达的差异。**结果** 京尼平组能够以剂量依赖性的方式降低细胞培养基中乳酸脱氢酶 (LDH)、磷酸肌酸激酶 (CK)、磷酸肌酸激酶同工酶 (CK-MB) 含量及细胞凋亡率和细胞中 Bax、Caspase-3 表达, 增加细胞中 Bcl-xL 及 miR-499 的表达; 转染 miR-499 的抑制物能够逆转 10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平降低细胞培养基中 LDH、CK、CK-MB 含量及细胞凋亡率、细胞中 Bax、Caspase-3 表达和增加细胞中 Bcl-xL 表达的效应。**结论** 京尼平通过 miR-499 调节缺血缺氧诱导心肌细胞线粒体途径凋亡。

[中图分类号] R5; R363

[文献标识码] A

### Effect of Genipin on mitochondrial pathway apoptosis of myocardial cells induced by ischemia and hypoxia through miR-499

NI Bin, YI Cheng, ZHANG Like

(Department of Pharmacy, Hangzhou First People's Hospital Affiliated to School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310006, China)

[KEY WORDS] myocardial cells; ischemia and hypoxia; Genipin; mitochondrial pathway apoptosis; miR-499

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the regulatory effects of Genipin on mitochondrial pathway apoptosis induced by ischemia and its mechanisms. **Methods** H9c2 cells were cultured and grouped. The control group was cultured with DMEM without drugs under normal oxygen condition, the hypoxia group was cultured with DMEM without drugs under hypoxia condition, the Genipin group was treated with DMEM containing 2.5  $\mu\text{mol/L}$ , 5.0  $\mu\text{mol/L}$ , 10.0  $\mu\text{mol/L}$  Genipin under hypoxia condition, the NC inhibitor group was transfected with NC inhibitor under normal oxygen condition, and the NC inhibitor+hypoxia group was transfected with NC inhibitor under hypoxic conditions, NC inhibitors+hypoxia+Genipin group was transfected with NC inhibitor and treated with DMEM containing 10.0  $\mu\text{mol/L}$  Genipin under hypoxic conditions, miR-499 inhibitor+hypoxia+Genipin group was transfected with miR-499 inhibitor and treated with DMEM containing 10.0  $\mu\text{mol/L}$  Genipin under hypoxic conditions. The differences of myocardial enzyme content, apoptotic rate, expression of apoptotic gene and miR-499 among groups were compared. **Results** Genipin group could decrease lactate dehydrogenase (LDH), creatine phosphate kinase (CK), creatine phosphate kinase isoenzymes (CK-MB) contents in cell culture medium, cell apoptotic rate, Bax and caspase-3 expression in cells, and increased the expression of Bcl-xL and miR-499 in cells in a dose-dependent manner. Transfection with miR-499 inhibitors could reverse 10.0  $\mu\text{mol/L}$  Genipin reducing LDH, CK, CK-MB content in cell culture medium, apoptotic rate, Bax and caspase-3 expression and increasing Bcl-xL expression. **Conclusion** Genipin regulates mitochondrial apoptosis induced by ischemia and hypoxia

via miR-499.

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是临床上常见的心血管系统疾病,随着近年来高血压、糖尿病、高脂血症等代谢性疾病的增多,AMI 的发病率也呈逐年升高趋势。冠状动脉内斑块破裂、血栓形成所导致的冠状动脉管腔闭塞、心肌缺血缺氧损害是 AMI 的基本病理生理特征,在缺血缺氧条件下细胞内线粒体功能发生障碍、线粒体细胞凋亡途径过度激活是引起心肌细胞损害的重要病理环节<sup>[1-2]</sup>。已有研究报道,缺血缺氧引起 miR-499 表达下调是造成心肌细胞发生线粒体途径凋亡的分子机制,通过 miR-499 途径调节心肌细胞线粒体途径凋亡是减轻心肌缺血缺氧损伤的重要靶点<sup>[3-4]</sup>。京尼平是环烯醚萜类化合物,由京尼平苷经  $\beta$ -葡萄糖苷酶水解生成,具有抗氧化、抗炎、抗凋亡等生物学效应,对高糖引起的心肌细胞损害及缺血再灌注引起的神经元损害均具有保护作用<sup>[5-6]</sup>。为了明确京尼平对缺血缺氧诱导心肌细胞损伤的保护作用及机制,本研究具体分析了京尼平通过 miR-499 对缺血缺氧诱导心肌细胞线粒体途径凋亡的调节作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料

H9c2 细胞株购自 ATCC 细胞公司,京尼平购自 Sigma 公司,细胞培养试剂包括 DMEM、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、胰蛋白酶购自 Gibco 公司,miR-499 抑制物及阴性对照 (negative control, NC) 抑制物购自上海吉玛公司,乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、磷酸肌酸激酶 (creatine phosphate kinase, CK)、磷酸肌酸激酶同工酶 (creatine phosphate kinase isoenzyme, CK-MB) 的分光光度检测试剂盒购自上海艾美捷科技公司, TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天公司, B 细胞淋巴瘤因子 2 XL (B-cell leukemia/lymphoma 2 XL, Bcl-xL)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3 (cysteine aspartate specific proteinase-3, Caspase-3) 的第一抗体购自 Santa Cruz 公司, miR-499 表达的检测试剂盒购自北京天根科技公司。

### 1.2 细胞培养及分组干预方法

H9c2 细胞用含有 5% FBS、1% 双抗的 DMEM 培养,细胞汇合至 80% ~ 90% 后用 0.125% 胰蛋白

酶进行消化,消化后的细胞进行传代并取对数生长期的细胞进行分组干预,每组干预条件重复 5 次,具体如下:(1)对照组用不含药物的 DMEM 在常氧培养箱中培养;(2)缺氧组用不含药物的 DMEM 在缺氧培养箱 (1% 氧气、94% 氮气、5% 二氧化碳)培养;(3)低、中、高剂量京尼平组在缺氧基础上分别用含有 2.5  $\mu\text{mol/L}$ 、5.0  $\mu\text{mol/L}$ 、10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平的 DMEM 处理;(4)NC 抑制物组在常氧条件下转染 NC 抑制物;(5)NC 抑制物+缺氧组在缺氧条件下转染 NC 抑制物;(6)NC 抑制物+缺氧+京尼平组在缺氧条件下转染 NC 抑制物并用含有 10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平的 DMEM 处理;(7)miR-499 抑制物+缺氧+京尼平组在缺氧条件下转染 miR-499 抑制物并用含有 10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平的 DMEM 处理。

### 1.3 培养基中心肌酶含量的检测方法

培养 24 h 后,留取细胞培养基,采用分光光度检测试剂盒测定 LDH、CK、CK-MB 的含量。

### 1.4 细胞凋亡率检测方法

培养 24 h 后,弃去细胞培养基、保留细胞,用 TUNEL 试剂盒进行 TUNEL 染色及 DAPI 染色后在荧光显微镜下观察,计算高倍视野下 TUNEL 阳性数目占 DAPI 阳性数目的百分比,即为凋亡率。

### 1.5 Western blot 检测 Bcl-xL、Bax、Caspase-3 蛋白表达水平

培养 24 h 后,弃去细胞培养基、保留细胞,加入蛋白裂解液提取细胞中的蛋白,将蛋白加入聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳,电泳分离不同分子量的蛋白后进行电转膜,蛋白转移至 NC 膜后用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h,而后在 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育 Bcl-xL、Bax、Caspase-3 的第一抗体过夜;第二天,室温孵育第二抗体 2 h,最后在凝胶成像仪中曝光得到蛋白条带,根据蛋白条带的灰度值计算蛋白表达量。

### 1.6 Real-time PCR 检测 miR-499 表达水平

培养 24 h 后,弃去细胞培养基、保留细胞,采用 miRNA 提取试剂盒提取细胞中的 miRNA,采用 miRNA cDNA 第一链合成试剂盒将 miRNA 反转录为 cDNA,采用 miRNA 荧光定量 PCR 检测试剂盒对 cDNA 中的 miR-499 进行荧光定量 PCR,软件中生成 PCR 循环曲线及循环阈值 (Ct),根据公式  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算 miR-499 的表达量。

### 1.7 统计学方法

采用 SPSS22.0 软件录入数据,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间的比较采用方差分析,  $P < 0.05$  为差异

有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同剂量京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞培养基中心肌酶含量的调节作用

与对照组比较,缺氧组 H9c2 细胞培养基中 LDH、CK、CK-MB 的含量均明显增加 ( $P<0.05$ );与缺氧组比较,不同剂量京尼平组 H9c2 细胞培养基

中 LDH、CK、CK-MB 的含量均明显下降且随着京尼平剂量增加, H9c2 细胞培养基中 LDH、CK、CK-MB 的含量也明显下降 ( $P<0.05$ ;表 1)。

2.2 不同剂量京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞凋亡率的调节作用

与对照组比较,缺氧组 H9c2 细胞的凋亡率明显增加 ( $P<0.05$ );与缺氧组比较,不同剂量京尼平组 H9c2 细胞的凋亡率明显减少且随着京尼平剂量增加, H9c2 细胞的凋亡率也明显减少 ( $P<0.05$ ;图 1)。

表 1. 不同剂量京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞培养基中心肌酶含量的调节作用 (U/L)

Table 1. Regulatory effect of different dose of Genipin on myocardial enzymes contents in H9c2 cell culture medium under hypoxia condition (U/L)

分 组	<i>n</i>	LDH	CK	CK-MB
对照组	5	132.51±32.94	426.67±75.23	8.12±1.32
缺氧组	5	291.25±53.92 <sup>a</sup>	1327.63±215.23 <sup>a</sup>	32.88±7.51 <sup>a</sup>
低剂量京尼平组	5	221.37±38.38 <sup>b</sup>	1012.35±135.72 <sup>b</sup>	25.72±5.62 <sup>b</sup>
中剂量京尼平组	5	191.61±32.37 <sup>c</sup>	894.63±112.72 <sup>c</sup>	19.38±3.26 <sup>c</sup>
高剂量京尼平组	5	170.35±24.81 <sup>d</sup>	703.41±97.53 <sup>d</sup>	12.42±2.17 <sup>d</sup>

a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与缺氧组比较;c 为  $P<0.05$ ,与低剂量京尼平组比较;d 为  $P<0.05$ ,与中剂量京尼平组比较。

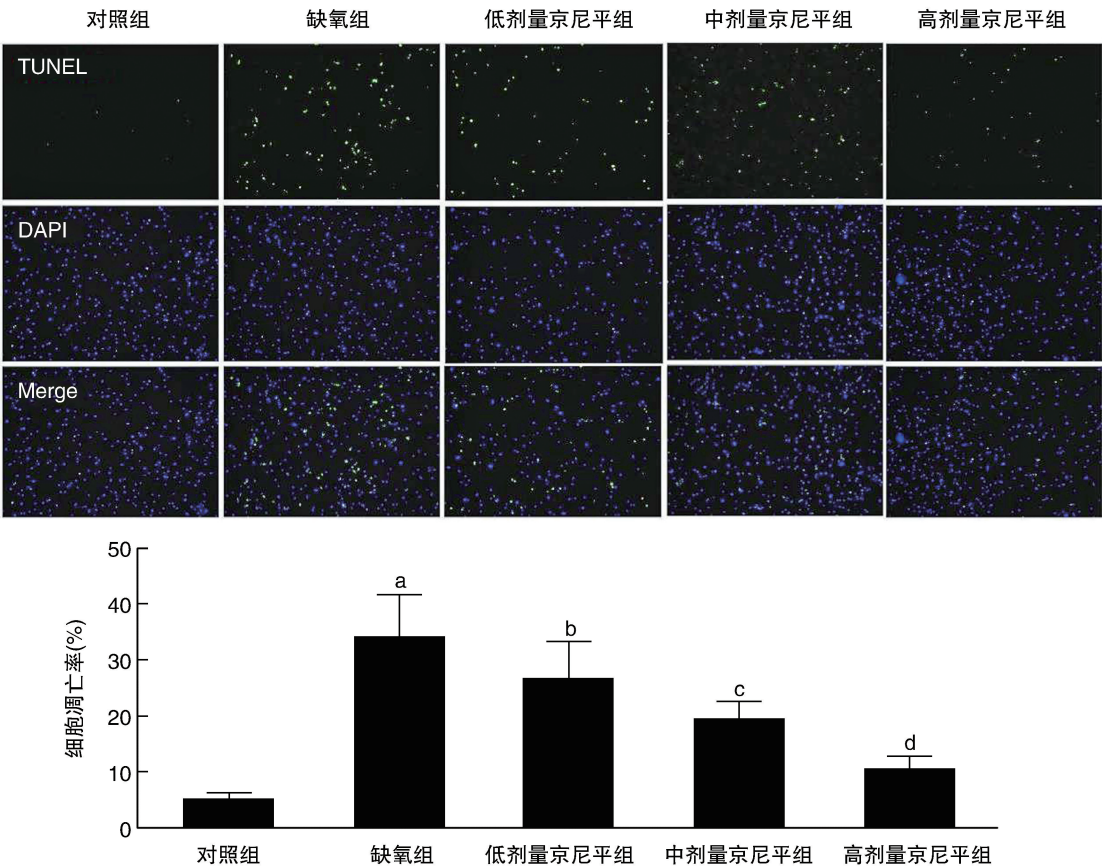


图 1. 不同剂量京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞凋亡率的调节作用 (200×,  $n=5$ ) a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与缺氧组比较;c 为  $P<0.05$ ,与低剂量京尼平组比较;d 为  $P<0.05$ ,与中剂量京尼平组比较。

Figure 1. Regulatory effect of different doses of Genipin on H9c2 cell apoptotic rate under hypoxia condition (200×,  $n=5$ )



### 2.3 不同剂量京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞中线粒体凋亡基因表达的调节作用

与对照组比较,缺氧组 H9c2 细胞中 Bcl-xL 的表达水平明显下降,Bax、Caspase-3 的表达水平明显增加( $P<0.05$ );与缺氧组比较,不同剂量京尼平组 H9c2 细胞中 Bcl-xL 的表达水平明显增加,Bax、Caspase-3 的表达水平明显减少,且随着京尼平剂量增加,H9c2 细胞中 Bcl-xL 的表达水平也明显增加,Bax、Caspase-3 的表达水平明显减少( $P<0.05$ ;图 2)。

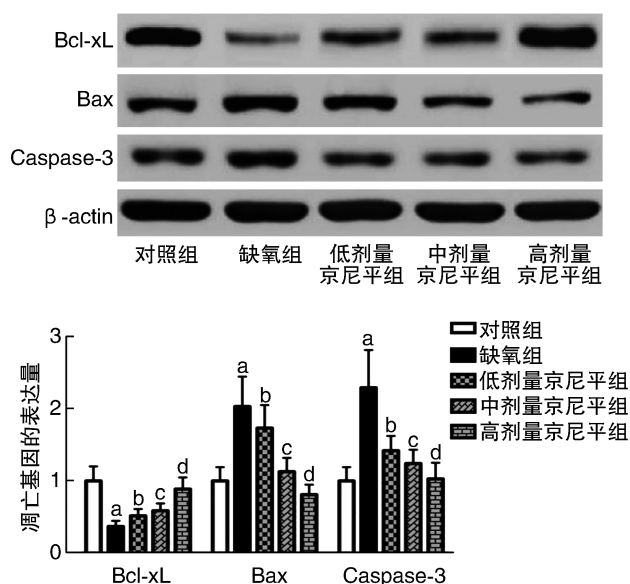


图 2. 不同剂量京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞中线粒体凋亡基因表达的调节作用( $n=5$ ) a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与缺氧组比较;c 为  $P<0.05$ ,与低剂量京尼平组比较;d 为  $P<0.05$ ,与中剂量京尼平组比较。

Figure 2. Regulatory effect of different doses of Genipin on mitochondrial apoptotic gene expression in H9c2 cell under hypoxia condition( $n=5$ )

### 2.4 不同剂量京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞中 miR-499 表达的调节作用

与对照组比较,缺氧组 H9c2 细胞中 miR-499 的表达水平明显下降( $P<0.05$ );与缺氧组比较,不

同剂量京尼平组 H9c2 细胞中 miR-499 的表达水平明显增加,且随着京尼平剂量增加,H9c2 细胞中 miR-499 的表达水平也明显增加( $P<0.05$ ;图 3)。

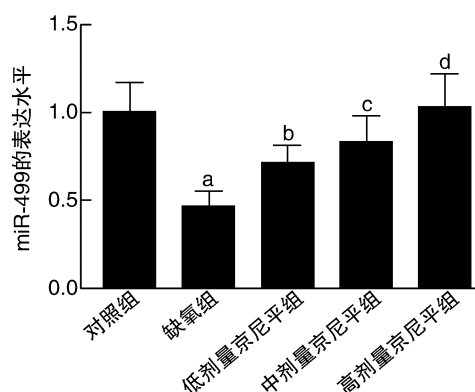


图 3. 不同剂量京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞中 miR-499 表达的调节作用( $n=5$ ) a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与缺氧组比较;c 为  $P<0.05$ ,与低剂量京尼平组比较;d 为  $P<0.05$ ,与中剂量京尼平组比较。

Figure 3. Regulatory effect of different doses of Genipin on miR-499 expression in H9c2 cell under hypoxia condition( $n=5$ )

### 2.5 转染 miR-499 抑制物逆转 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 京尼平对缺氧诱导 H9c2 细胞凋亡的调节作用

与 NC 抑制物组比较,NC 抑制物+缺氧组细胞培养基中 LDH、CK、CK-MB 的含量、细胞凋亡率、细胞中 Bax、Caspase-3 表达水平均明显增加,细胞中 Bcl-xL 表达水平明显减少( $P<0.05$ );与 NC 抑制物+缺氧组比较,NC 抑制物+缺氧+京尼平组细胞培养基中 LDH、CK、CK-MB 的含量和细胞凋亡率、细胞中 Bax、Caspase-3 表达水平均明显减少,细胞中 Bcl-xL 表达水平明显增加( $P<0.05$ );与 NC 抑制物+缺氧+京尼平组比较,miR-499 抑制物+缺氧+京尼平组细胞培养基中 LDH、CK、CK-MB 的含量和细胞凋亡率、细胞中 Bax、Caspase-3 表达水平均明显增加,细胞中 Bcl-xL 表达水平明显减少( $P<0.05$ ;表 2、图 4 和图 5)。

表 2. 转染 miR-499 抑制物逆转 10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞中心肌酶的调节作用(U/L)

Table 2. Transfection of miR-499 inhibitor attenuates the regulatory effect of 10.0  $\mu\text{mol/L}$  Genipin on myocardial enzymes contents in H9c2 cell culture medium under hypoxia condition(U/L)

分组	n	LDH	CK	CK-MB
NC 抑制物组	5	156.72±29.35	426.67±75.23	9.07±1.52
NC 抑制物+缺氧组	5	327.89±59.15 <sup>a</sup>	1474.89±232.77 <sup>a</sup>	32.88±7.51 <sup>a</sup>
NC 抑制物+缺氧+京尼平组	5	192.57±27.46 <sup>b</sup>	813.33±102.48 <sup>b</sup>	16.69±2.04 <sup>b</sup>
miR-499 抑制物+缺氧+京尼平组	5	268.32±42.93 <sup>c</sup>	1203.96±201.92 <sup>c</sup>	27.61±5.62 <sup>c</sup>

a 为  $P<0.05$ ,与 NC 抑制物组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 NC 抑制物+缺氧组比较;c 为  $P<0.05$ ,与 NC 抑制物+缺氧+京尼平组比较。



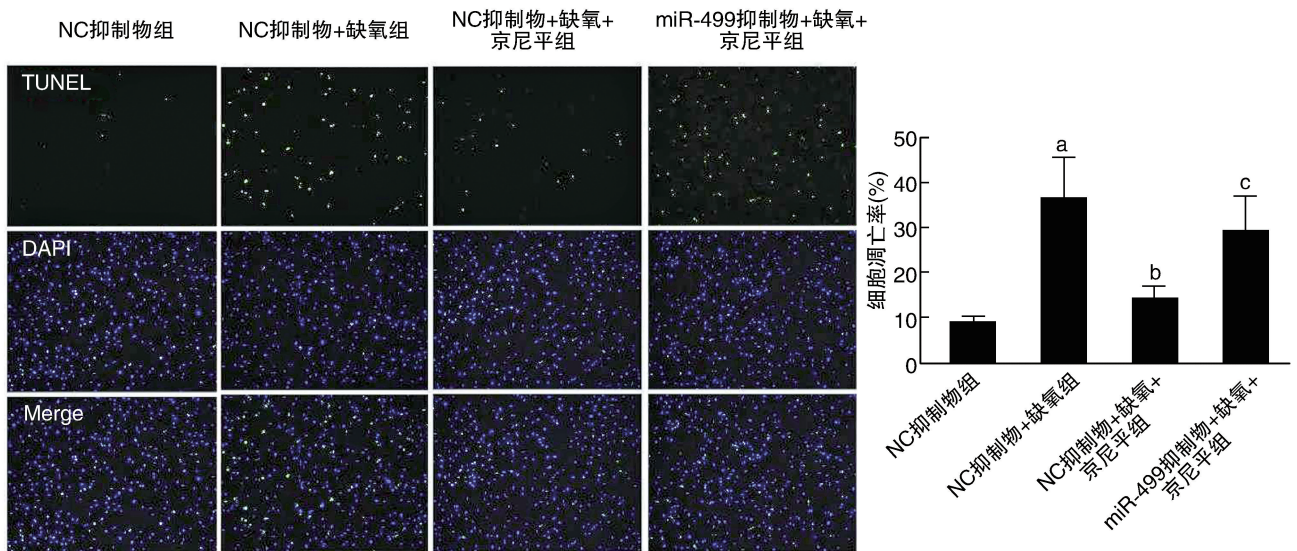


图4. 转染 miR-499 抑制物逆转 10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞凋亡率的调节作用 (200 $\times$ ,  $n=5$ ) a 为  $P<0.05$ , 与 NC 抑制物组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 NC 抑制物+缺氧组比较; c 为  $P<0.05$ , 与 NC 抑制物+缺氧+京尼平组比较。

Figure 4. Transfection of miR-499 inhibitor attenuates the regulatory effect of 10.0  $\mu\text{mol/L}$  Genipin on H9c2 cell apoptosis rate under hypoxia condition (200 $\times$ ,  $n=5$ )

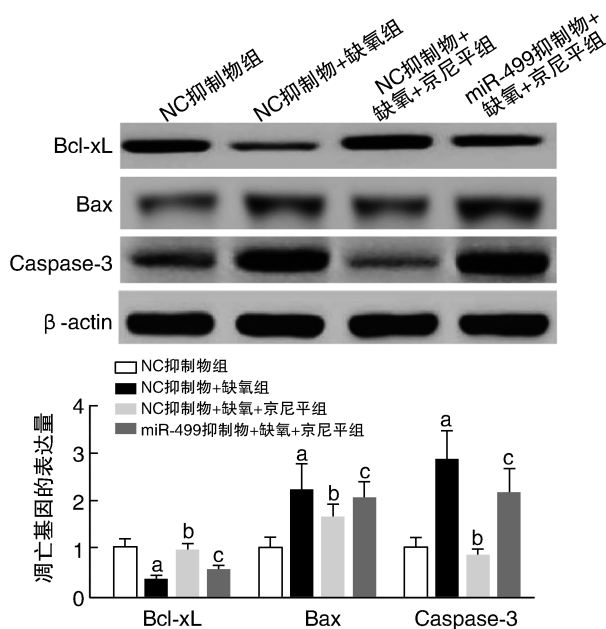


图5. 转染 miR-499 抑制物逆转 10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平对缺氧条件下 H9c2 细胞中线粒体途径凋亡基因表达的调节作用 ( $n=5$ ) a 为  $P<0.05$ , 与 NC 抑制物组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 NC 抑制物+缺氧组比较; c 为  $P<0.05$ , 与 NC 抑制物+缺氧+京尼平组比较。

Figure 5. Transfection of miR-499 inhibitor attenuates the regulatory effect of 10.0  $\mu\text{mol/L}$  Genipin on mitochondrial apoptotic gene expression in H9c2 cell under hypoxia condition ( $n=5$ )

### 3 讨论

心肌细胞在缺血缺氧环境下发生损伤是 AMI

的基本病理生理特征,针对缺血缺氧诱导的心肌细胞损伤进行治疗具有现实的临床价值。在本研究中,心肌 H9c2 细胞经缺氧处理后培养基中的心肌酶 LDH、CK、CK-MB 含量均明显增加,提示缺氧能够引起心肌细胞损伤、细胞破裂后多种心肌酶释放至细胞外。传统中药材栀子花及果实中活性成分京尼平经  $\beta$ -葡萄糖苷酶水解生成京尼平,京尼平属于环烯醚萜类化合物,分子量小、容易被局部组织吸收。已有多项研究表明,京尼平能够在心脑血管系统中发挥细胞保护作用<sup>[7-8]</sup>。本实验在缺氧条件下用不同剂量的京尼平进行处理,细胞培养基中的 LDH、CK、CK-MB 含量均明显低于缺氧组且京尼平剂量越大,培养基中 LDH、CK、CK-MB 的含量越低,表明京尼平能够以剂量依赖性的方式减轻缺氧诱导的心肌细胞损伤,减少多种心肌酶的释放。

心肌细胞在缺血缺氧条件下会发生线粒体功能障碍、线粒体内的细胞色素 C 释放进入胞质并启动线粒体凋亡途径。Bax 和 Bcl-xL 是线粒体膜上调细胞色素 C 通透性的分子,前者增加细胞色素 C 的释放并起到促凋亡作用,后者阻碍细胞色素 C 的释放并起到抗凋亡作用<sup>[9-11]</sup>;进入胞质的细胞色素 C 通过级联反应来激活 Caspase-3 并引起细胞凋亡<sup>[12-13]</sup>。在本实验中,缺氧组的细胞凋亡率及细胞中 Bax、Caspase-3 的表达水平均明显高于对照组, Bcl-xL 的表达水平低于对照组,提示缺氧能够导致心肌细胞的线粒体凋亡途径发生激活。在缺氧条

件下用不同剂量的京尼平进行处理后,京尼平组的细胞凋亡率及细胞中 Bax、Caspase-3 的表达水平明显低于对照组,Bcl-xL 的表达水平明显高于对照组且京尼平剂量越大,细胞凋亡率及细胞中 Bax、Caspase-3 的表达水平越低,Bcl-xL 的表达水平越高,表明京尼平能够以剂量依赖性的方式抑制缺血缺氧引起的心肌细胞线粒体途径凋亡。

在明确京尼平能够抑制缺血缺氧引起的心肌细胞线粒体途径凋亡后,本实验进一步对潜在的分子机制进行了探究。miR-499 参与缺血心肌中线粒体途径凋亡的调控,该 miRNA 能够在转录后水平抑制 Bax、Caspase-3 的表达,进而抑制心肌的线粒体途径凋亡<sup>[14-15]</sup>。在本实验中,缺氧组细胞中 miR-499 的表达水平明显低于对照组,而京尼平干预后细胞中 miR-499 的表达水平高于缺氧组且京尼平剂量越大,miR-499 的表达水平越高,表明 miR-499 的表达受到缺氧及京尼平的调控,进而推测京尼平可能通过增加 miR-499 的表达来发挥抑制心肌细胞线粒体途径凋亡的作用。为了验证这一推测,本实验在 10  $\mu\text{mol/L}$  京尼平处理的基础上转染了 miR-499 抑制物,通过 miR-499 抑制物来削弱京尼平上调 miR-499 的效应,由心肌酶及细胞凋亡的分析可知:转染 miR-499 抑制物能够使 10.0  $\mu\text{mol/L}$  京尼平降低细胞培养基中 LDH、CK、CK-MB 含量和细胞凋亡率及细胞中 Bax、Caspase-3 表达以及增加细胞中 Bcl-xL 表达的效应发生逆转,由此表明京尼平减轻心肌细胞损害、抑制心肌细胞凋亡的效应部分由 miR-499 介导。

综上所述,京尼平能够减轻缺氧诱导的心肌细胞损害、抑制缺氧诱导的心肌细胞线粒体途径凋亡;同时,京尼平能够增加 miR-499 的表达并且增加 miR-499 表达是京尼平在缺氧条件下发挥心肌细胞保护作用的分子机制。

#### [参考文献]

- [1] Maneechote C, Palee S, Kerdphoo S, et al. Balancing mitochondrial dynamics via increasing mitochondrial fusion attenuates infarct size and left ventricular dysfunction in rats with cardiac ischemia/reperfusion injury[J]. Clin Sci (Lond), 2019, 133(3): 497-513.
- [2] Iqbal A, Iqbal MK, Sharma S, et al. Molecular mechanism involved in cyclophosphamide-induced cardiotoxicity: old drug with a new vision [J]. Life Sci, 2019, 218: 112-131.
- [3] Li Y, Lu J, Bao X, et al. MiR-499-5p protects cardiomyocytes against ischaemic injury via anti-apoptosis by targeting PDCD4[J]. Oncotarget, 2016, 7(24): 35607-35617.
- [4] 吴丽梦, 李恩, 周小翠, 等. miR-499-5 p 干预对心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2018, 53(5): 614-618.
- [5] 师岩, 徐晶, 程昊, 等. 京尼平抑制高糖诱导的大鼠心肌 H9c2 细胞氧化应激及凋亡损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(2): 224-230.
- [6] Zhao B, Sun LK, Jiang X, et al. Genipin protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by regulating the UCP2-SIRT3 signaling pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2019, 15(845): 56-64.
- [7] Shumin C, Wei X, Yunfeng L, et al. Genipin alleviates vascular hyperpermeability following hemorrhagic shock by up-regulation of SIRT3/autophagy[J]. Cell Death Discov, 2018, 9(4): 52.
- [8] Wang J, Chen L, Liang Z, et al. Genipin inhibits LPS-induced inflammatory response in BV2 microglial cells[J]. Neurochem Res, 2017, 42(10): 2769-2776.
- [9] Chen C, He H, Luo Y, et al. Involvement of Bcl-2 signal pathway in the protective effects of apigenin on anoxia/reoxygenation-induced myocardium injury[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2016, 67(2): 152-63.
- [10] Zhou YL, Sun Q, Zhang L, et al. miR-208b targets Bax to protect H9c2 cells against hypoxia-induced apoptosis[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106: 1751-1759.
- [11] Yang C, Liu X, Yang F, et al. Mitochondrial phosphatase PGAM5 regulates Keap1-mediated Bcl-xL degradation and controls cardiomyocyte apoptosis driven by myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2017, 53(3): 248-257.
- [12] Zhao H, Xu M, Chu G. Association between myocardial cell apoptosis and calpain-1/caspase-3 expression in rats with hypoxic-ischemic brain damage[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(5): 2727-2731.
- [13] Almohammed A, Kapetanaki SM, Wood BR, et al. Spectroscopic analysis of myoglobin and cytochrome c dynamics in isolated cardiomyocytes during hypoxia and reoxygenation [J]. J R Soc Interface, 2015, 12(105): 20141339.
- [14] Wan Q, Xu T, Ding W, et al. miR-499-5p attenuates mitochondrial fission and cell apoptosis via p21 in doxorubicin cardiotoxicity[J]. Front Genet, 2019, 21(9): 734.
- [15] Zhu J, Yao K, Wang Q, et al. Ischemic Postconditioning-regulated miR-499 protects the rat heart against ischemia/reperfusion injury by inhibiting apoptosis through PDCD4 [J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 39(6): 2364-2380.

(此文编辑 许雪梅)