

本文引用: 刘火军, 左晓琴, 杨萌卓, 等. 牡荆苷上调 FGD5-AS1 抑制缺氧复氧诱导的心肌细胞氧化应激和凋亡[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(4): 322-328. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.04.006.

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2023)31-04-0322-07

牡荆苷上调 FGD5-AS1 抑制缺氧复氧诱导的心肌细胞氧化应激和凋亡

刘火军¹, 左晓琴², 杨萌卓¹, 唐享强¹

(成都市第三人民医院蒲江医院 1. 心血管内科, 2. 心内科, 四川省成都市 611630)

[摘要] **[目的]** 探究牡荆苷对缺氧复氧(H/R)诱导的心肌细胞损伤的影响及其与 FGD5-AS1 的调控关系。**[方法]** 大鼠心肌细胞 H9c2 分为对照组, H/R 组, H/R+牡荆苷低、中、高剂量组, H/R+pcDNA 组, H/R+pcDNA-FGD5-AS1 组, H/R+牡荆苷+si-NC 组和 H/R+牡荆苷+si-FGD5-AS1 组。流式细胞术检测细胞凋亡, Western blot 检测 Caspase-3、cleaved Caspase-3 蛋白表达, 试剂盒检测 SOD 活性和 MDA 含量, RT-PCR 检测 FGD5-AS1 表达。**[结果]** 与 H/R 组比较, H/R+牡荆苷低、中、高剂量组凋亡率各降低 13%、25%、48%, Caspase-3 蛋白表达量各下降 21%、38%、56%, cleaved Caspase-3 蛋白表达各下降 17%、40%、65%, MDA 含量各下降 15%、36%、52%, SOD 活性升高 0.88、2.73、3.86 倍, FGD5-AS1 表达各升高 0.84、1.84、3.00 倍(均 $P < 0.05$), 呈浓度依赖性。与 H/R+pcDNA 组比较, H/R+pcDNA-FGD5-AS1 组凋亡率、Caspase-3 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达、MDA 含量分别下降 60%、70%、74%、60%(均 $P < 0.05$), SOD 活性升高 4.04 倍($P < 0.05$)。与 H/R+牡荆苷+si-NC 组比较, H/R+牡荆苷+si-FGD5-AS1 组凋亡率、Caspase-3 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达、MDA 含量上升 0.72、1.21、1.38、0.93 倍(均 $P < 0.05$), SOD 活性降低 67% ($P < 0.05$)。**[结论]** 牡荆苷可抑制 H/R 诱导的 H9c2 细胞氧化应激和凋亡, 其作用机制可能与上调细胞中 FGD5-AS1 表达有关。

[关键词] 牡荆苷; FGD5-AS1; 心肌细胞; 细胞凋亡; 氧化应激

[中图分类号] R5; R363

[文献标识码] A

Vitexin inhibits oxidative stress and apoptosis of cardiomyocytes induced by hypoxia and reoxygenation by up-regulating FGD5-AS1

LIU Huojun¹, ZUO Xiaoqin², YANG Mengzhuo¹, TANG Xianqiang¹

(1. Department of Cardiovascular Medicine, 2. Department of Cardiology, the Third People's Hospital of Chengdu Pujiang Hospital, Chengdu, Sichuan 611630, China)

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of vitexin on hypoxia/reoxygenation (H/R)-induced myocardial cell injury and its regulatory relationship with FGD5-AS1. **Methods** Rat cardiomyocytes H9c2 were divided into control group, H/R group, H/R+vitexin L, M, H group, H/R+pcDNA group, H/R+pcDNA-FGD5-AS1 group, H/R+vitexin+si-NC group and H/R+vitexin+si-FGD5-AS1 group. Cell apoptosis was detected by flow cytometry, Caspase-3 and cleaved Caspase-3 protein expressions were detected by Western blot, and the activity of SOD and the content of MDA in cells were detected by kits. The expression of FGD5-AS1 was detected by RT-PCR. **Results** Compared with H/R group, the apoptosis rate of H/R+vitexin L, M, H groups was decreased by 13%, 25% and 48%, respectively; Caspase-3 protein expression was decreased by 21%, 38% and 56%, respectively; Cleaved Caspase-3 protein expression was decreased by 17%, 40% and 65%, respectively; And MDA content was decreased by 15%, 36% and 52% ($P < 0.05$); But the activity of SOD was increased by 0.88, 2.73 and 3.86 times, and the expression of FGD5-AS1 was increased by 0.84, 1.84 and 3.00 times ($P < 0.05$). Compared with H/R+pcDNA group, the apoptosis rate, Caspase-3 and cleaved Caspase-3 protein expressions and MDA content were decreased in H/R+pcDNA-FGD5-AS1 group by 60%, 70%, 74%, and 60%,

[收稿日期] 2022-07-29

[修回日期] 2022-11-28

[基金项目] 四川省卫生和计划生育委员会科研课题项目(18ZD007)

[作者简介] 刘火军, 主治医师, 研究方向为高血压、心力衰竭和心律失常, E-mail: leasnw@163.com。通信作者左晓琴, 副主任医师, 研究方向为心肌病、心力衰竭和心律失常, E-mail: leasnw@163.com。

respectively ($P < 0.05$), but the activity of SOD was increased by 4.04 times ($P < 0.05$). Compared with the H/R+vitexin+si-NC group, the apoptosis rate of H9c2 cells, the expressions of Caspase-3 and cleaved Caspase-3 protein and the content of MDA were increased in the H/R+vitexin+si-FGD5-AS1 group by 0.72, 1.21, 1.38, 0.93 times ($P < 0.05$), but the activity of SOD was decreased by 67% ($P < 0.05$).

[KEY WORDS] vitexin; FGD5-AS1; cardiomyocytes; apoptosis; oxidative stress

Conclusion Vitexin could inhibit H/R-induced apoptosis and oxidative stress of H9c2 cells, and its mechanism may be related to the up-regulation of FGD5-AS1 expression in cells.

心肌缺血再灌注损伤是诱发心血管疾病如冠心病、心肌梗死和动脉粥样硬化的重要因素,严重时可引起心律失常导致猝死^[1]。大量研究表明,心肌细胞凋亡、氧化应激和炎症反应等是引起心肌缺血再灌注损伤的病理机制,抑制心肌细胞损伤对防治心肌缺血再灌注损伤尤为重要^[2-3]。中草药和其有效成分因具有高效、低毒、价格低廉等优点成为临床预防和治疗心脑血管疾病的研究热点。牡荆苷是我国传统中药金莲花、竹叶及荳蔻中的有效成分,属于黄酮碳苷类化合物。研究显示,牡荆苷可能通过活化 Nrf2 信号通路减少缺血再灌注引起的视网膜神经节细胞凋亡,并缓解大鼠视网膜氧化应激损伤^[4];牡荆苷可通过抗氧化应激作用减轻小鼠脑缺血再灌注损伤^[5]。虽然牡荆苷可以保护大鼠心脏免受心肌缺血再灌注损伤^[6],但牡荆苷对缺氧复氧(hypoxia/reoxygenation, H/R)诱导的心肌细胞氧化应激和凋亡的影响及其机制尚未完全阐明。

含有 5 个 PH 结构域的反义 RNA 1 (PH domain containing 5 antisense RNA1, FGD5-AS1) 是一种长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA), 其过表达可减轻 H/R 诱导的心肌细胞损伤^[7]。Chen 等^[8]通过加权基因共表达网络分析发现 FGD5-AS1 是扩张型心肌病的候选基因,其在细胞质中表达。Hao 等^[9]研究显示,FGD5-AS1 在急性心肌梗死患者、H/R 诱导的心肌细胞及缺血再灌注心肌中表达降低,过表达 FGD5-AS1 可增加 H/R 抑制的心肌细胞活力,减少细胞凋亡及肌酸激酶 MB 表达,减轻心肌损伤,FGD5-AS1 可能是心肌 H/R 损伤的潜在治疗靶点。多项研究表明,FGD5-AS1 的表达受到一些药物调控,对疾病进展起促进或抑制作用^[10-11]。从牡荆苷和 FGD5-AS1 的生物学作用分析,推测 FGD5-AS1 可能参与牡荆苷介导的抗心肌缺血再灌注损伤这一过程。因此,本研究旨在探索牡荆苷对 H/R 诱导的 H9c2 细胞氧化应激和凋亡的影响及其作用机制是否与 FGD5-AS1 有关。

1 材料和方法

1.1 细胞和试剂

H9c2 细胞系(上海抚生实业有限公司);牡荆苷

(纯度>97%,货号 20201025,南通飞宇公司);Annexin V-FITC/PI 试剂盒(货号 20201021)、DMEM 培养液(货号 20201009)和 BCA 试剂盒(货号 20200923)购自北京索莱宝;Lipofectamine™ 2000 试剂盒(货号 11668-027)购自美国 Invitrogen 公司;胎牛血清(货号 20200528)购自天杭公司;空载体(pcDNA)、FGD5-AS1 过表达载体(pcDNA-FGD5-AS1)、小干扰 RNA (si-FGD5-AS1)、小干扰 RNA 阴性序列 (si-NC) 和 PCR 引物购自上海生工;丙二醛(malonaldehyde, MDA;货号 20200826)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD;货号 20200915)检测试剂盒购自南京建成;RNA 抽提试剂盒(货号 20200819)、反转录试剂盒(货号 20200826)和 PCR 试剂盒(货号 20200913)购自大连宝生物;半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (Caspase-3,货号 ab184787)、裂解的 Caspase-3 (cleaved Caspase-3,货号 ab32042)抗体购自 Abcam 公司。

1.2 细胞培养和转染

H9c2 细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液培养,将对数期 H9c2 细胞调整为 2.5×10^4 个/mL,然后接种至 6 孔板中,用 Lipofectamine™ 2000 脂质体法将 pcDNA、pcDNA-FGD5-AS1、si-FGD5-AS1 和 si-NC 转染至 H9c2 细胞,培养 24 h 后,收集细胞用于后续实验。

1.3 分组

调整未转染和转染 pcDNA、pcDNA-FGD5-AS1、si-FGD5-AS1、si-NC 的 H9c2 细胞均为 4.8×10^5 个/mL,每孔 2.5 mL 接种于 6 孔板中,培养 4 h 后,弃培养液,用预冷 PBS 清洗 2 次,分组处理。未转染 H9c2 细胞分为对照(Control)组、H/R 组、H/R+牡荆苷低剂量(L)组、H/R+牡荆苷中剂量(M)组和 H/R+牡荆苷高剂量(H)组。其中 H/R 组建立 H/R 模型^[1],加经 95% N₂、5% CO₂ 饱和的不含血清的 DMEM 培养液,于 37 °C、5% CO₂、95% N₂ 的培养箱中缺氧培养 18 h,然后换为含 10% FBS 的 DMEM 培养液,于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中复氧培养 6 h;H/R+牡荆苷 L 组、H/R+牡荆苷 M 组和 H/R+牡荆苷 H 组细胞先分别用含牡荆苷终浓度为 10、20、40 mg/L^[5] 的培养液干预 24 h,然后进行 H/R 处理;对照组细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养液于 37 °C、5% CO₂ 的

培养箱中培养。转染 pcDNA、pcDNA-FGD5-AS1 的 H9c2 细胞处理同 H/R 组,记为 H/R+pcDNA 组、H/R+pcDNA-FGD5-AS1 组。转染 si-FGD5-AS1、si-NC 的 H9c2 细胞处理同 H/R+牡荆苷 H 组,记为 H/R+牡荆苷+si-FGD5-AS1 组、H/R+牡荆苷+si-NC 组。每组设 3 个复孔。

1.4 流式细胞术检测细胞凋亡

各组细胞用预冷的 PBS 清洗 2 次,取细胞悬液离心(1 000 r/min 离心 5 min),加 500 μ L 结合缓冲液,利用 Annexin V-FITC/PI 试剂盒检测细胞凋亡。

1.5 Western blot 检测 Caspase-3、cleaved Caspase-3 蛋白表达

加 RIPA 试剂提取细胞中总蛋白,BCA 法测蛋白浓度、电泳、转膜和封闭,4 $^{\circ}$ C 用 Caspase-3 (1:800)、cleaved Caspase-3 (1:800) 和 GAPDH (1:1 000) 一抗孵育过夜。37 $^{\circ}$ C 用山羊抗兔二抗 (1:2 000) 孵育 2 h,加显影液、显影,Image J 软件分析 Caspase-3 和 cleaved Caspase-3 表达量。

1.6 试剂盒检测 SOD 活性和 MDA 含量

用预冷 PBS 清洗各组细胞 2 次,离心(3 500 r/min 离心 5 min),取上清,利用 SOD、MDA 检测试剂盒,检测上清中 SOD 活性及 MDA 含量。

1.7 RT-PCR 检测 FGD5-AS1 表达

用 RNA 抽提试剂盒提取细胞中总 RNA,反转

录生成 cDNA 后,行 PCR 扩增。FGD5-AS1 引物序列为 F:5'-CGTGGAGAAGAATTGGGC-3',R:5'-CGTGGAGAAGAATTGGGC-3';GAPDH 引物序列为 F:5'-CCAGGTGGTCTCCTCTGACTT-3',R:5'-GTTGCTGTAGCCAAATTCGTTGT-3'。扩增条件为 95 $^{\circ}$ C 初始变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 45 s,57 $^{\circ}$ C 退火 45 s,30 个循环;最后在 72 $^{\circ}$ C 下延长 30 s。 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 FGD5-AS1 相对于 GAPDH 的表达量。

1.8 统计学分析

SPSS 22.0 软件分析实验数据。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞凋亡的影响

与对照组比较,H/R 组 H9c2 细胞凋亡率、Caspase-3 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达量各上升 2.03、1.60、4.06 倍($P<0.05$)。与 H/R 组比较,H/R+牡荆苷 L 组、H/R+牡荆苷 M 组和 H/R+牡荆苷 H 组 H9c2 细胞凋亡率分别降低 13%、25%、48%,Caspase-3 蛋白表达量分别下降 21%、38%、56%,cleaved Caspase-3 蛋白表达量分别下降 17%、40%、65%(均 $P<0.05$;图 1)。

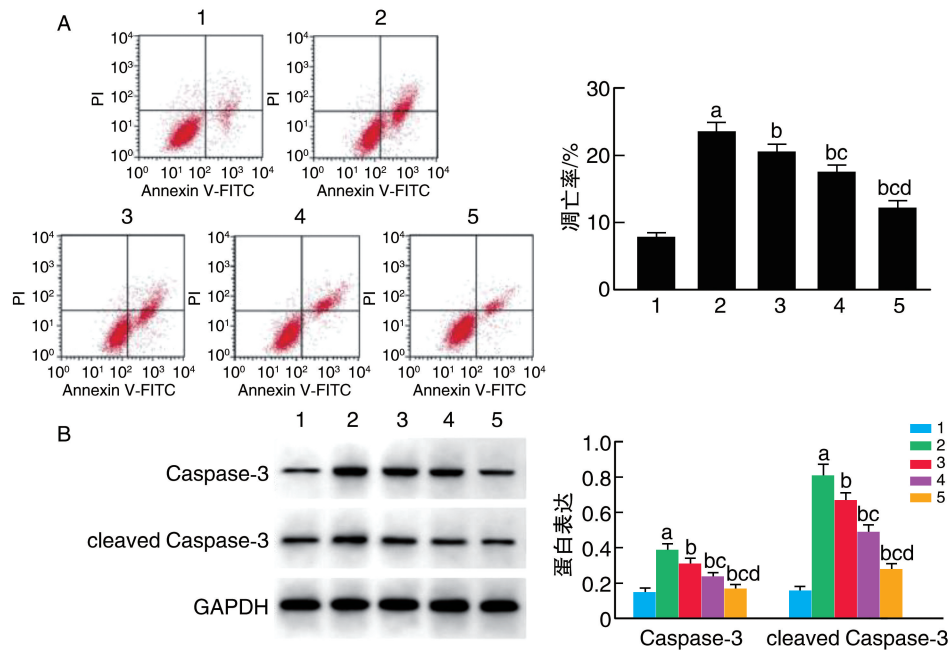


图 1. 牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞凋亡的影响($n=3$)

A 为牡荆苷抑制 H/R 诱导的心肌细胞凋亡;B 为牡荆苷抑制 H/R 诱导的心肌细胞中 cleaved Caspase-3 蛋白表达。

1 为对照组,2 为 H/R 组,3 为 H/R+牡荆苷 L 组,4 为 H/R+牡荆苷 M 组,5 为 H/R+牡荆苷 H 组。

a 为 $P<0.05$,与对照组相比;b 为 $P<0.05$,与 H/R 组相比;c 为 $P<0.05$,与 H/R+牡荆苷 L 组相比;d 为 $P<0.05$,与 H/R+牡荆苷 M 组相比。

Figure 1. Effect of vitexin on H/R-induced cardiomyocyte apoptosis($n=3$)

2.2 牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞氧化应激的影响

与对照组比较,H/R 组 H9c2 细胞中 SOD 活性降低 84% ($P<0.05$),MDA 含量升高 2.08 倍 ($P<0.05$)。与 H/R 组比较,H/R+牡荆苷 L 组、H/R+牡荆苷 M 组和 H/R+牡荆苷 H 组 H9c2 细胞中 SOD 活性分别升高 0.88、2.73、3.86 倍 (均 $P<0.05$),MDA 含量分别降低 15%、36%、52% (均 $P<0.05$;表 1)。

表 1. 牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞 SOD 活性和 MDA 含量的影响 ($n=3$)

Table 1. Effect of vitexin on SOD activity and MDA content in H/R-induced cardiomyocytes ($n=3$)

分组	SOD/(U/L)	MDA/($\mu\text{mol/L}$)
对照组	253.38 \pm 15.07	182.15 \pm 12.08
H/R 组	41.14 \pm 4.20 ^a	560.63 \pm 24.33 ^a
H/R+牡荆苷 L 组	77.32 \pm 6.80 ^b	474.67 \pm 20.58 ^b
H/R+牡荆苷 M 组	153.64 \pm 13.87 ^{bc}	361.25 \pm 22.07 ^{bc}
H/R+牡荆苷 H 组	199.78 \pm 19.14 ^{bed}	270.36 \pm 13.84 ^{bed}
<i>F</i>	133.234	188.694
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:a 为 $P<0.05$,与对照组相比;b 为 $P<0.05$,与 H/R 组相比;c 为 $P<0.05$,与 H/R+牡荆苷 L 组相比;d 为 $P<0.05$,与 H/R+牡荆苷 M 组相比。

2.3 牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞中 FGD5-AS1 表达的影响

与对照组比较,H/R 组 FGD5-AS1 的表达量下降 81% ($P<0.05$)。与 H/R 组比较,H/R+牡荆苷 L 组、H/R+牡荆苷 M 组和 H/R+牡荆苷 H 组 H9c2 细

胞中 FGD5-AS1 的表达量各升高 0.84、1.84、3.00 倍 (均 $P<0.05$;表 2)。

表 2. 牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞中 FGD5-AS1 表达的影响 ($n=3$)

Table 2. Effect of vitexin on the expression of FGD5-AS1 in H/R-induced cardiomyocytes ($n=3$)

分组	FGD5-AS1
对照组	1.00 \pm 0.00
H/R 组	0.19 \pm 0.02 ^a
H/R+牡荆苷 L 组	0.35 \pm 0.03 ^b
H/R+牡荆苷 M 组	0.54 \pm 0.05 ^{bc}
H/R+牡荆苷 H 组	0.76 \pm 0.06 ^{bed}
<i>F</i>	210.114
<i>P</i>	<0.001

注:a 为 $P<0.05$,与对照组相比;b 为 $P<0.05$,与 H/R 组相比;c 为 $P<0.05$,与 H/R+牡荆苷 L 组相比;d 为 $P<0.05$,与 H/R+牡荆苷 M 组相比。

2.4 过表达 FGD5-AS1 对 H/R 心肌细胞凋亡和氧化应激的影响

与 H/R+pcDNA 组比较,H/R+pcDNA-FGD5-AS1 组心肌细胞 H9c2 中 FGD5-AS1 的表达量上升 1.63 倍 ($P<0.05$),表明过表达 FGD5-AS1 的心肌细胞 H9c2 构建成功。同时,与 H/R+pcDNA 组比较,H/R+pcDNA-FGD5-AS1 组凋亡率、Caspase-3 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达量、MDA 含量分别下降 60%、70%、74%、60% (均 $P<0.05$),SOD 活性升高 4.04 倍 ($P<0.05$;图 2 和表 3)。

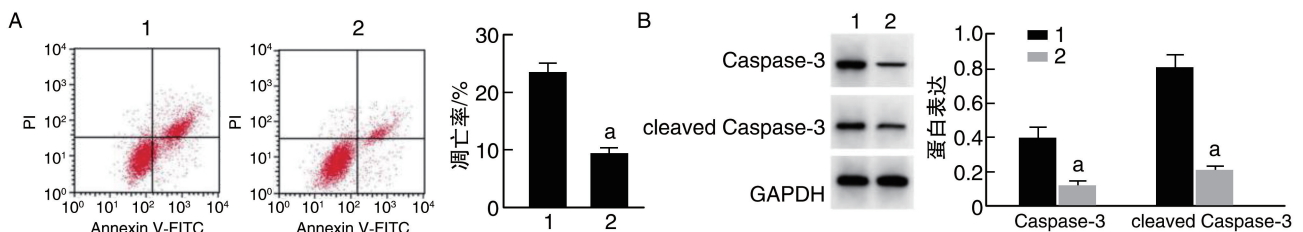


图 2. 过表达 FGD5-AS1 对 H/R 诱导的心肌细胞凋亡的影响 ($n=3$)

A 为过表达 FGD5-AS1 抑制 H/R 诱导的心肌细胞凋亡;B 为过表达 FGD5-AS1 抑制 H/R 诱导的心肌细胞中 cleaved Caspase-3 蛋白表达。1 为 H/R+pcDNA 组,2 为 H/R+pcDNA-FGD5-AS1 组。a 为 $P<0.05$,与 H/R+pcDNA 组相比。

Figure 2. Effect of FGD5-AS1 overexpression on H/R-induced cardiomyocyte apoptosis ($n=3$)

表 3. 过表达 FGD5-AS1 对 H/R 诱导的心肌细胞氧化应激的影响 ($n=3$)

Table 3. Effect of FGD5-AS1 overexpression on H/R-induced oxidative stress in cardiomyocytes ($n=3$)

分组	FGD5-AS1	SOD/(U/L)	MDA/($\mu\text{mol/L}$)
H/R+pcDNA 组	1.00 \pm 0.00	41.75 \pm 4.41	561.08 \pm 31.49
H/R+pcDNA-FGD5-AS1 组	2.63 \pm 0.25 ^a	210.44 \pm 15.38 ^a	226.46 \pm 17.30 ^a

注:a 为 $P<0.05$,与 H/R+pcDNA 组相比。

2.5 敲减 FGD5-AS1 对牡荆苷处理的 H/R 心肌细胞凋亡和氧化应激的影响

与 H/R+牡荆苷+si-NC 组比较, H/R+牡荆苷+si-FGD5-AS1 组 FGD5-AS1 的表达量下降了 81% ($P <$

0.05), 心肌细胞凋亡率、细胞中 Caspase-3 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达量分别升高了 0.72、1.21、1.38 倍 ($P <$ 0.05), SOD 活性降低了 67% ($P <$ 0.05), MDA 含量升高了 0.93 倍 ($P <$ 0.05; 图 3 和表 4)。

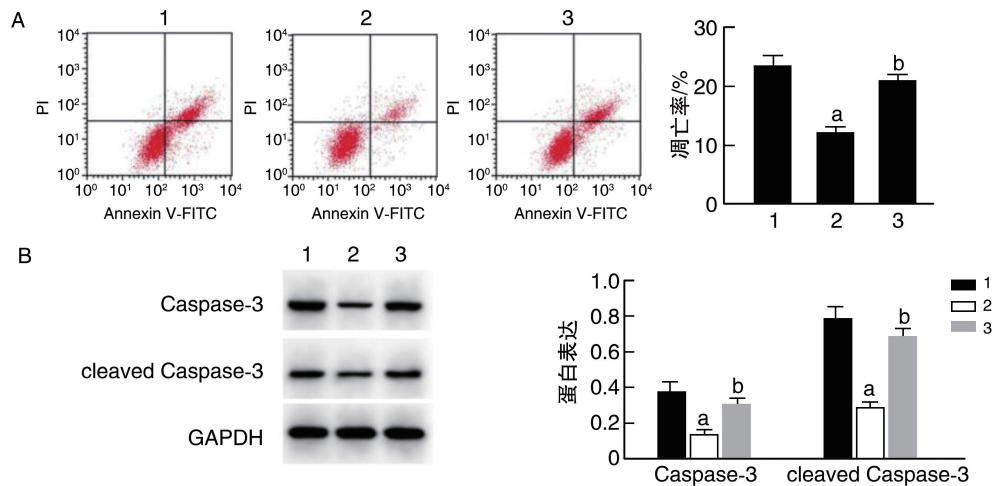


图 3. 敲减 FGD5-AS1 降低牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞凋亡的影响 ($n=3$)

A 为敲减 FGD5-AS1 降低牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞凋亡率的影响; B 为敲减 FGD5-AS1 降低牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞中 cleaved Caspase-3 蛋白表达的影响。

1 为 H/R 组, 2 为 H/R+牡荆苷+si-NC 组, 3 为 H/R+牡荆苷+si-FGD5-AS1 组。

a 为 $P <$ 0.05, 与 H/R 组相比; b 为 $P <$ 0.05, 与 H/R+牡荆苷+si-NC 组相比。

Figure 3. Knockdown of FGD5-AS1 reduces the effect of vitexin on H/R-induced cardiomyocyte apoptosis ($n=3$)

表 4. 敲减 FGD5-AS1 降低牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞氧化应激的影响 ($n=3$)

Table 4. Knockdown of FGD5-AS1 reduces the effect of vitexin on H/R-induced oxidative stress in cardiomyocytes ($n=3$)

分组	FGD5-AS1	SOD/(U/L)	MDA/(μ mol/L)
H/R 组	0.15 \pm 0.02	41.39 \pm 4.13	561.60 \pm 32.11
H/R+牡荆苷+si-NC 组	1.00 \pm 0.05 ^a	200.39 \pm 14.08 ^a	267.34 \pm 17.99 ^a
H/R+牡荆苷+si-FGD5-AS1 组	0.19 \pm 0.03 ^b	66.21 \pm 5.83 ^b	515.55 \pm 16.45 ^b
<i>F</i>	481.465	264.156	135.200
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注: a 为 $P <$ 0.05, 与 H/R 组相比; b 为 $P <$ 0.05, 与 H/R+牡荆苷+si-NC 组相比。

3 讨论

心肌缺血再灌注损伤是指缺血心肌组织在恢复血流供应后, 导致心肌细胞代谢功能障碍及结构破坏加重的现象, 严重危害人体生命健康^[12]。心肌缺血再灌注损伤的发病机制尚不明确, 认为与细胞内大量活性氧的产生、炎症反应、细胞异常凋亡相关^[13-14]。Caspase-3 是 Caspase 级联反应分子, 若被活化可形成 cleaved Caspase-3, 促进细胞凋亡^[15-16]。MDA、SOD 是脂质过氧化产物和抗氧化酶, 可间接反映氧化应激水平^[17-18]。本研究结果显示, H/R 处

理心肌细胞, 细胞凋亡率、MDA 含量升高, 而 SOD 活性降低, 说明 H/R 诱导心肌细胞 H9c2 产生了氧化应激和凋亡, 模型建立成功。

牡荆苷是一种黄酮碳苷类化合物, 广泛存在于多种中药植物中, 具有抗炎、调节脂质代谢等药理活性^[19]。有报道称, 牡荆苷可改善脑缺血再灌注损伤小鼠脑组织能量代谢, 且呈剂量依赖性^[20]; 牡荆苷可能通过调节 Th1/Th2 细胞平衡向 Th2 漂移及减轻脑细胞 DNA 损伤对急性脑缺血再灌注大鼠发挥神经保护作用^[21]; 牡荆苷可通过降低脑缺血再灌注大鼠脑组织 ROS 和 MDA 含量, 并提高 SOD 活性

来减轻脑缺血再灌注大鼠脑损伤^[22]。本研究结果显示,牡荆苷可有效减少 H/R 诱导的大鼠心肌细胞 H9c2 凋亡率、Caspase-3 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达,降低 MDA 含量,提高 SOD 活性,这提示牡荆苷可抑制 H/R 诱导的心肌细胞氧化应激和凋亡,减轻 H/R 引起的心肌细胞损伤。

lncRNA 长度超过 200 个核苷酸,在真核生物中广泛存在,参与细胞凋亡、炎症反应等病理过程,在心血管疾病的发生发展中起重要作用^[23-25]。FGD5-AS1 是一种 lncRNA,参与多种疾病的发展进程。研究显示,FGD5-AS1 可通过靶向负调控 miR-103a-3p 并抑制核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 信号通路的激活从而抑制白细胞介素 1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β) 诱导的关节软骨细胞炎症反应及细胞凋亡,FGD5-AS1 可作为骨关节炎治疗的分子靶点^[26];FGD5-AS1 在氧糖剥夺再灌注 (OGD/R) 诱导的神经元中表达降低,上调 FGD5-AS1 可促进 OGD/R 诱导的神经元增殖并抑制其凋亡,保护神经元免受 OGD/R 损伤^[27]。而且,既往研究显示,FGD5-AS1 可减轻心肌缺血再灌注损伤^[9],故本研究推测其可能作为牡荆苷的下游靶点从而对 H/R 诱导的心肌细胞损伤发挥调控作用。本研究结果显示,大鼠心肌细胞 H9c2 经 H/R 处理后,细胞中 FGD5-AS1 的表达量明显减少,而过表达 FGD5-AS1 抑制了 H/R 诱导的 H9c2 细胞氧化应激水平,显著减少了细胞凋亡,这提示 FGD5-AS1 可作为减轻心肌细胞缺氧复氧损伤的分子靶点。此外,牡荆苷可呈剂量依赖性促进 H/R 诱导的心肌细胞中 FGD5-AS1 的表达,而敲减 FGD5-AS1 降低了牡荆苷对 H/R 诱导的心肌细胞氧化应激和凋亡的抑制作用,提示牡荆苷可能通过上调 FGD5-AS1 减缓 H/R 诱导的心肌细胞氧化应激和凋亡。

本研究为牡荆苷治疗心肌缺血再灌注损伤提供了新的理论依据,FGD5-AS1 有望成为心肌缺血再灌注损伤新的干预靶点。但牡荆苷的作用机制尚需要进一步在体内进行验证,且 FGD5-AS1 调控的下游分子和信号通路也有待进一步探究。

[参考文献]

[1] 宋光兰,陈俊,鲜文. 花旗松素通过抑制 NF- κ B 信号通路对缺氧复氧诱导 H9c2 心肌细胞损伤的保护作用[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(1): 54-58.
SONG G L, CHEN J, XIAN W. Protective effect of Taxifolin on H9c2 myocardial cell injury induced by hypoxia-reoxygenation by inhibiting NF- κ B signaling pathway[J]. J

Clin Lab Med, 2020, 19(1): 54-58.

- [2] LI X, NI L C, WANG W X, et al. LncRNA Fendrr inhibits hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte apoptosis by downregulating p53 expression[J]. J Pharm Pharmacol, 2020, 72(9): 1211-1220.
- [3] CAI X Y, WANG S, HONG L, et al. Long noncoding RNA taurine-upregulated gene 1 knockdown protects cardiomyocytes against hypoxia/reoxygenation-induced injury through regulating miR-532-5p/Sox8 axis[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2020, 76(5): 556-563.
- [4] 李漫丽,范珂,崔红培. 牡荆苷对大鼠视网膜缺血-再灌注损伤模型中神经节细胞的保护作用[J]. 中华实验眼科杂志, 2021, 39(3): 191-197.
LI M L, FAN K, CUI H P. Protective effect of vitexin on retinal ganglion cells in rat retinal ischemia-reperfusion injury model[J]. Chin J Exper Ophthalmol, 2021, 39(3): 191-197.
- [5] 颜娟,郑茂东,崔玉环,等. 牡荆苷对小鼠脑缺血/再灌注损伤抗氧化应激作用[J]. 河北北方学院学报(自然科学版), 2016, 32(2): 19-22.
YAN J, ZHENG M D, CUI Y H, et al. Anti-oxidative stress of vitexin on brain in mice with cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. J Hebei North Univer (Nat Sci Edit), 2016, 32(2): 19-22.
- [6] XUE W, WANG X, TANG H, et al. Vitexin attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats by regulating mitochondrial dysfunction induced by mitochondrial dynamics imbalance[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 124(1): 109849-109859.
- [7] 孟晓京,刘亚军,项宁. lncRNA FGD5-AS1 靶向 miR-421 对缺氧/复氧诱导的心肌细胞损伤的影响[J]. 山东医药, 2021, 61(16): 30-34.
MENG X J, LIU Y J, XIANG N. Effect of lncRNA FGD5-AS1 targeting miR-421 on H/R-induced injury of myocardial cells[J]. Shandong Med J, 2021, 61(16): 30-34.
- [8] CHEN Y X, DING J, ZHOU W E, et al. Identification and functional prediction of long non-coding RNAs in dilated cardiomyopathy by bioinformatics analysis[J]. Front Genet, 2021, 12: 648111.
- [9] HAO L, WANG J, BI S J, et al. Upregulation of long non-coding RNA FGD5-AS1 ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury via microRNA-106a-5p and microRNA-106b-5p[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2021, 78(1): e45-e54.
- [10] 章涵,赵玉霞,杨惠然,等. 红花黄色素对高糖诱导小鼠足细胞损伤的影响及其机制[J]. 中成药, 2021, 43(11): 3007-3013.
ZHANG H, ZHAO Y X, YANG H R, et al. Effects and mechanism of safflower yellow on podocyte injury induced

- by high glucose[J]. *Chin Trad Patent Med*, 2021, 43(11): 3007-3013.
- [11] XIA Y, WANG W C, SHEN W H, et al. Thalidomide suppresses angiogenesis and immune evasion via lncRNA FGD5-AS1/miR-454-3p/ZEB1 axis-mediated VEGFA expression and PD-1/PD-L1 checkpoint in NSCLC [J]. *Chem Biol Interact*, 2021, 349(1): 109652-109702.
- [12] 刘丹勇, 夏正远, 韩荣辉, 等. 心肌缺血再灌注损伤机制研究的回顾与展望[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(12): 1013-1019.
- LIU D Y, XIA Z Y, HAN R H, et al. Review and prospect on the mechanism of myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Chin J Arterioscler*, 2020, 28(12): 1013-1019.
- [13] LI L, LI L, ZHANG Y Z, et al. Long non-coding RNA FTX alleviates hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte injury via miR-410-3p/Fmr1 axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(1): 396-408.
- [14] 古轩林, 吴冰璇, 黄振华, 等. 阿利吉仑通过调控线粒体介导的凋亡通路改善心肌缺血再灌注损伤[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(7): 559-565.
- GU Q L, WU B X, HUANG Z H, et al. Aliskiren protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via regulating mitochondrial-mediated apoptosis pathway[J]. *Chin J Arterioscler*, 2020, 28(7): 559-565.
- [15] ZHANG W W, GENG X, ZHANG W Q. Downregulation of lncRNA MEG3 attenuates high glucose-induced cardiomyocytes injury by inhibiting mitochondria-mediated apoptosis pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(17): 7599-7604.
- [16] CUI X, ZHOU S, LIN Y. Protective effects of liquiritin on polycystic ovary syndrome through modulating ovarian granulosa cell proliferation and apoptosis via miR-206/PI3K/Akt pathway[J]. *Cytotechnology*, 2022, 74(3): 385-393.
- [17] CHU Y, TENG J, FENG P, et al. Dexmedetomidine attenuates hypoxia/reoxygenation injury of H9c2 myocardial cells by upregulating miR-146a expression via the MAPK signal pathway [J]. *Pharmacology*, 2022, 107(1-2): 14-27.
- [18] CAI R Y, JIANG J J. LncRNA ANRIL silencing alleviates high glucose-induced inflammation, oxidative stress, and apoptosis via upregulation of MME in podocytes[J]. *Inflammation*, 2020, 43(6): 2147-2155.
- [19] 颜娟, 郑茂东, 崔玉环. 牡荆苷的药理作用研究进展[J]. *山东医药*, 2017, 57(17): 110-112.
- YAN J, ZHENG M D, CUI Y H. Advances in pharmacological effects of vitexin[J]. *Shandong Med J*, 2017, 57(17): 110-112.
- [20] 颜娟, 郑茂东, 崔玉环, 等. 牡荆苷对脑缺血再灌注损伤小鼠脑组织能量代谢的影响[J]. *山东医药*, 2017, 57(5): 26-29.
- YAN J, ZHENG M D, CUI Y H, et al. Effect of vitexin on brain energy metabolism in mice with cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Shandong Med J*, 2017, 57(5): 26-29.
- [21] 刘磊. 牡荆苷对急性脑缺血再灌注大鼠的神经保护作用及其对Th1/Th2漂移的影响[J]. *中草药*, 2019, 50(11): 2645-2650.
- LIU L. Neuroprotective effect of vitexin on acute cerebral ischemia reperfusion rats and its effect on Th1/Th2 drift [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2019, 50(11): 2645-2650.
- [22] 杜云广, 曹欣欣, 王晓茹, 等. 牡荆苷对脑缺血再灌注大鼠脑损伤保护作用及其机制研究[J]. *神经药理学报*, 2017, 7(1): 10-23.
- DU Y G, CAO X X, WANG X R, et al. Protective effect of vitexin on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Acta Neuropharmacologica*, 2017, 7(1): 10-23.
- [23] SONG X L, ZHANG F F, WANG W J, et al. LncRNA A2M-AS1 lessens the injury of cardiomyocytes caused by hypoxia and reoxygenation via regulating IL1R2[J]. *Genes Genomics*, 2020, 42(12): 1431-1441.
- [24] WANG Q S, ZHOU J, LI X. LncRNA UCA1 protects cardiomyocytes against hypoxia/reoxygenation induced apoptosis through inhibiting miR-143/MDM2/p53 axis[J]. *Genomics*, 2020, 112(1): 574-580.
- [25] ZHANG G, DING L, SUN G, et al. LncRNA AZIN1-AS1 ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury by targeting miR-6838-5p/WNT3A axis to activate Wnt- β /catenin signaling pathway [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2022, 58(1): 54-68.
- [26] 郭秀珍, 高斌礼, 郭文, 等. LncRNA FGD5-AS1 靶向 miR-103a-3p 对 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞凋亡的机制研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(6): 832-837.
- GUO X Z, GAO B L, GUO W, et al. Mechanism of lncRNA FGD5-AS1 on IL-1 β -induced articular chondrocyte apoptosis through targeting regulation of miR-103a-3p expression[J]. *Chin J Osteoporosis*, 2020, 26(6): 832-837.
- [27] ZHANG X Q, SONG L H, FENG S J, et al. LncRNA FGD5-AS1 acts as a competing endogenous RNA for miRNA-223 to lessen oxygen-glucose deprivation and simulated reperfusion (OGD/R)-induced neurons injury [J]. *Folia Neuropathologica*, 2019, 57(4): 357-365.

(此文编辑 许雪梅)