

BI-1 在心肌缺血再灌注损伤中的作用及机制研究

钟小兰 班努·库肯 景江新

摘要 目的 探讨凋亡抑制基因 BI-1 (Bax inhibitor-1, BI-1) 在心肌缺血再灌注损伤中的作用及机制研究。**方法** 构建大鼠心肌缺血再灌注损伤和 H9c2 心肌细胞氧化应激损伤模型, 在不同条件下通过实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, RT-qPCR) 检测 BI-1 的基因表达量, Western blot 法检测 BI-1 的蛋白表达量, 激光共聚焦检测 BI-1 的亚细胞定位。构建 BI-1 过表达和干扰重组质粒, 转染至心肌细胞, 观察 BI-1 表达量的变化、细胞存活率、乳酸脱氢酶活性、半胱天冬酶-3 (caspase-3)、半胱天冬酶-9 (caspase-9) 活性及心肌细胞凋亡率。**结果** 与假手术组比较, 缺血再灌注组出现了心肌梗死区, 乳酸脱氢酶水平明显升高 ($P=0.000$), BI-1 基因和蛋白表达水平随缺血时间或再灌注时间依赖性升高 ($P<0.01$)。在心肌细胞氧化应激损伤模型中, BI-1 基因和蛋白表达水平随过氧化氢刺激时间或刺激浓度依赖性升高 ($P<0.01$), 过表达 BI-1 使乳酸脱氢酶的活性降低 ($P<0.05$), 心肌细胞的凋亡数下降 ($P<0.01$), 抑制了氧化应激所引起的 caspase-3、caspase-9 活性上升, 使细胞存活率升高 ($P<0.01$)。干扰 BI-1 表达使乳酸脱氢酶的活性升高 ($P<0.01$), 细胞存活率下降 ($P<0.05$), 心肌细胞的凋亡数增加 ($P<0.01$)。激光共聚焦观察 BI-1 定位于线粒体上。**结论** 缺血再灌注损伤和氧化应激损伤可促进心肌细胞中 BI-1 的表达, BI-1 能够抑制氧化应激所导致的心肌细胞凋亡, 从而起到心肌保护作用。

关键词 心脏缺血-再灌注损伤 Bax inhibitor-1 凋亡 氧化应激损伤

中图分类号 R542.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.09.019

Role and Mechanism of bi-1 in Myocardial Ischemia-reperfusion Injury. Zhong Xiaolan, Bannu · Kuken, Jing Jiangxin. Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang 830063, China

Abstract Objective To investigate the role and mechanism of BI-1 in myocardial ischemia-reperfusion injury. **Methods** Rat models of myocardial ischemia-reperfusion injury and oxidative stress injury of H9c2 cardiomyocytes were constructed. The expression of BI-1 was evaluated by RT-qPCR and Western blot, and subcellular localization of BI-1 was observed by laser confocal microscopy. BI-1 overexpression plasmids and BI-1 shRNA were transfected into H9c2 myocardial cells. BI-1 expression, cell survival rate, activity of LDH, caspase-3 and caspase-9, and apoptotic rate of cardiomyocytes were detected. **Results** Compared with the sham group, the myocardial infarction area appeared in the I/R group, and the LDH level was significantly increased ($P=0.000$). Both mRNA and protein level of BI-1 were increased in heart tissues of rats with ischemia-reperfusion injury in a time-dependent manner ($P<0.01$). In cardiomyocyte oxidative stress injury model, the expression level of BI-1 was increased with H_2O_2 stimulation ($P<0.01$). Overexpression of BI-1 decreased the activity of LDH ($P<0.05$) and the number of apoptotic cells ($P<0.01$), but inhibited the activity of caspase-3, caspase-9 and increased the cell survival rate ($P<0.01$). Knockdown of BI-1 increased the activity of LDH ($P<0.01$), decreased the cell survival rate ($P<0.05$), and increased the number of apoptosis of cardiomyocytes ($P<0.01$). In addition, BI-1 was located on mitochondria by laser confocal observation. **Conclusion** Ischemia reperfusion injury and oxidative stress promoted the expression of BI-1 in cardiomyocytes, which could inhibit the apoptosis of cardiomyocytes caused by oxidative stress, exerting a protective role in the myocardium.

Key words Cardiac ischemia-reperfusion injury; Bax inhibitor-1; Apoptosis; Oxidative stress injury

冠状动脉急性和持续性缺血缺氧所导致的心肌坏死称为急性心肌梗死^[1], 如今社会老龄化严重, 饮食习惯改变, 生活节奏加快, 急性心肌梗死的发生率

在我国不断升高, 居高不下的高病死率给人们的身体健康和社会的稳定发展带来很大的危害^[2,3]。支架置入术、直接冠状动脉介入治疗及溶栓治疗等技术的不断进步, 明显降低了急性心肌梗死的病死率^[4]。但是, 心肌梗死患者因缺少改善冠状动脉血管再灌注损伤的有效方案, 预后受到极大的影响。研究表明心肌缺血再灌注损伤中有大量心肌细胞凋亡现象^[5,6]。

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目 (2019D01C241)

作者单位: 830063 乌鲁木齐, 新疆医科大学第二附属医院心内科

通讯作者: 景江新, 电子信箱: zxl0138@163.com

心肌凋亡是造成损伤进一步恶化的重要事件,而凋亡作为程序性细胞死亡,是可以经过调控被阻断的,因此靶向凋亡有助于缓解损伤。近年来发现的存在于细胞中的凋亡抑制因子 BI-1 (Bax inhibitor-1),能够通过抑制线粒体相关凋亡途径来阻止细胞凋亡相关过程^[7]。研究表明,BI-1 是一种抗凋亡蛋白,可保护细胞免受许多不同的固有死亡刺激包括内质网应激引起的细胞凋亡等,BI-1 可以抑制 Bax 介导 TNF 相关的凋亡诱导配体 (TNF related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 诱导的细胞凋亡^[8-10]。控制心肌缺血再灌注损伤的关键途径之一是抑制心肌细胞凋亡。BI-1 作为细胞凋亡调控蛋白,其对缺血再灌注心肌是否具有保护作用以及如何发挥作用,仍然不清楚。因此,本实验旨在研究 BI-1 在心肌缺血再灌注损伤和氧化应激损伤下抗心肌细胞凋亡的作用,进一步探讨其发挥心肌保护的作用机制。

材料与方法

1. 材料:体质量约 250g,7~8 周龄的清洁级雄性 Sprague Dawley 大鼠,来自新疆医科大学实验动物中心。大鼠 H9c2 心肌细胞购自中国科学院上海细胞生物研究所。DMEM (Dulbecco's - modified Eagle's medium) 培养基购自美国 Gibco 公司;Prime Script TM RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) 购自大连 TaKaRa 公司;线粒体荧光探针 (Mito Tracker) 购自上海翊圣生物科技有限公司;BI-1 单克隆抗体购自圣克鲁斯生物技术 (上海) 有限公司;鼠抗 GAPDH 多克隆抗体购自天津三箭生物技术有限公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗 (Goat Anti - Rabbit IgG Secondary Antibody)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠二抗 (Goat Anti - Mouse IgG Secondary Antibody) 购自北京义翘神州科技有限公司;ECL 化学发光试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;乳酸脱氢酶活性检测试剂盒购自南京建成生物公司;pcDNA3.1 (-) - BI-1 质粒购自上海吉玛公司;shRNA NC 和 BI-1 shRNA 质粒购自上海吉玛制药技术公司;Turbofect 转染试剂购自赛默飞世尔科技 (中国) 公司。37℃ 恒温细胞培养箱购自黑龙江东拓仪器制造有限公司;组织切片仪购自徕卡显微系统 (上海) 贸易有限公司;荧光定量 PCR 仪购自赛默飞世尔科技 (中国) 公司;激光扫描共聚焦显微镜购自德国 Carl Zeiss 公司产品;凝胶成像仪和蛋白电泳仪购自美国伯乐公司。

2. 大鼠心肌缺血再灌注损伤 (Ischemia - reperfu-

sion injury, I/R) 模型的建立:按照文献方法制备模型^[11]:用 10% 水合氯醛麻醉 Sprague - Dawley 大鼠,仰卧位固定大鼠,通过左胸廓切开术打开胸腔暴露心脏。将 5/0 丝线缝合在左冠状动脉前降支 (Left anterior descending, LAD) 周围,使用活结打结。关闭开胸手术,左冠状动脉前降支结扎 15、30 或 45min 后,允许心脏再灌注不同的时间 (1、2、4、8h),再灌注期结束后,收集血液,并迅速取出左心室游离壁缺血区心脏。假手术组冠状动脉不结扎,模型制备方法和上述相同。

3. 乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 活性测定:根据 LDH 测定说明书测定 LDH 活性:收取假手术组和缺血再灌注组血清,将相同体积的蒸馏水、待测样本和标准液分别加到标准管、空白管、对照管和测定管中。再向各管添加 250μl 基质缓冲液,将 50μl 辅酶 I 加到待测管里,充分混匀后在 37℃ 水浴锅中孵育 15min,将 2,4 - 二硝基苯肼加入到各管中,37℃ 孵育 15min,添加 2.5ml 氢氧化钠 (0.4mmol/L) 溶液于各管中,静置 5min,测定各管吸光度,利用公式 LDH 活性 (U/L) = (ODu - ODc) / (ODS - ODB) × Cs × N × 1000 进行计算。

4. 大鼠心肌细胞氯化三苯基四氮唑 (triphenyl tetrazolium chloride, TTC) 染色:建立大鼠缺血再灌注损伤模型后,将各组细胞心脏取出,用 PBS 冲洗几次,吸干水分后置于 -20℃ 冷冻 30min,用组织切片仪切取冷冻的心脏,将切取的冷冻切片置于 2% TTC 溶液中,于室温浸泡 20min,注意避光,用 4% 多聚甲醛固定染好的心脏切片,观察灰白色区域 (梗死区) 和砖红色区域 (非梗死区) 并拍取照片。

5. 心肌细胞培养及处理:在含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基的培养瓶中培养 H9c2 细胞,放于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。每天按时观察细胞状态,用 1mmol/L 过氧化氢 (hydrogen peroxide, H₂O₂) 刺激心肌细胞 2、4、8、16h 后收集细胞 RNA 样和蛋白样用于检测,不同浓度 (0.25、0.50、0.75、1.00mmol/L) H₂O₂ 刺激细胞 16h 收集细胞 RNA 样和蛋白样用于后续实验。

6. 细胞转染:将 H9c2 细胞以 1 × 10⁵ 个/孔接种于 12 孔板,待细胞密度生长至约 70% 时,将 pcDNA3.1 (-) - BI-1、pcDNA3.1 (-)、BI-1 shN 和 shNC 质粒 (序列为:BI-1 - shRNA:5' - GCATCCT-TATCACTGCATTTG - 3', shNC:5' - GTTCTC-CGAACGTGTCACGT - 3') 按照 Turbofect 转染试剂的说明书转染到 H9c2 细胞中,放于 37℃、5% CO₂ 培养箱

中小心培养一定时间后,收集细胞 RNA 样和蛋白样用于后续实验。

7. Cell Counting Kit - 8 (CCK - 8) 法检测细胞存活率:将转染 pcDNA3. 1 (-) - BI - 1、pcDNA3. 1 (-)、BI - 1 - shRNA 和 shNC 质粒的 H9c2 细胞株按照 1×10^5 个/毫升铺于 96 孔板中,放在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,用 1mmol/L 的 H₂O₂ 刺激细胞 16h,同时设置未用 H₂O₂ 刺激的细胞作为对照组,然后去除上清液,每个孔加入 100μl 混合培养液 (CCK8 工作液和培养液比例为 1: 10),继续自培养箱中培养 2h 后,用酶标仪读取各孔细胞在 450nm 处的吸光值。

8. 实时荧光定量 PCR (RT - qPCR):按照实验要求收取细胞 RNA 样,利用 Trizol 试剂提取细胞的 RNA,测定浓度后,参照 TaKaRa 公司两步法反转录试剂盒说明书反转成 cDNA,使用 Applied Biosystems 7300 实时 PCR 系统完成 RT - qPCR,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析定量结果。实验所用的引物见表 1。

表 1 引物序列	
基因名称	引物序列 (5'→3')
GAPDH - F	CAAGGACCTCTACGCCAACAC
GAPDH - R	GGTCTAGGCTATGGTATCGTTC
BI - 1 - F	GACCGAGCAAAAGAGACTGG
BI - 1 - R	AAGGCCAGGATCAACATGAG

9. Western blot 法检测:收取蛋白样,提取出蛋白质后,通过 BCA 法测定上清液中蛋白质的浓度,配置 SDS - PAGE 胶,浓缩胶 80V、30min,分离胶 120V、1. 5h 的程序进去电泳,结束后根据蛋白大小湿转或半干转至 PVDF 膜上,室温下用 50g/L 脱脂奶粉封闭 2h,用 Tris - HCl 缓冲盐溶液 (TBST) 按比例稀释特异性一抗,将封闭后的 PVDF 膜转移至一抗稀释液中 4℃ 孵育过夜,TBST 洗 5 洗,每次 5min,再将 PVDF 膜转移至 TBST 稀释好的二抗中,37℃ 孵育 2h,TBST 洗 5 洗,每次 5min,将 PVDF 膜置于 ECL 发光成像仪中显影照相,分析结果。

10. 激光共聚焦显微镜检测了 BI - 1 的亚细胞定位:培养 H9c2 细胞于激光共聚焦皿中,待细胞密度合适时,将重组质粒 GFP - BI - 1 转染于细胞里,培养 24h 后,加入 Mitotracker 探针,37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 45min,PBS 清洗 3 次,每次 5min,加入 40 g/L 多聚甲醛固定 20min,PBS 清洗 3 次,每次 5min,加入 Hoechst 33258 染核 10min,PBS 清洗 3 次,每次

5min,在激光共聚焦显微镜下观察细胞。

11. caspase - 3、caspase - 9 活性检测:在指定的时间段内,用 1mmol/L 的 H₂O₂ 处理细胞。用 50μl 细胞裂解液裂解细胞 10min,在 4℃ 条件下以 12000r/min 离心 1min,通过 Bradford 法 (DingGuo Biotechnology) 测定上清液中的蛋白质浓度。含有等量蛋白质的上清液用于 caspase - 3 比色测定或 caspase - 9 活性测定,在 37℃ 下孵育 1 ~ 2h 后,用微量滴定板读数器测量 405nm 处的吸光度。

12. 流式细胞仪 (flow cytometry, FCM) 检测心肌细胞凋亡:用 1mmol/L H₂O₂ 处理 H9c2 心肌细胞,胰酶消化后,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 进行中和,1000r/min 离心 10min 弃上清,PBS 洗 3 次,沉淀置于 70% 的乙醇中于 4℃ 固定过夜,用流式细胞仪检测各组细胞的细胞凋亡水平,收集数据进行显著性分析。

13. 统计学方法:采用 SPSS 19. 0 统计学软件对数据进行统计分析,计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD - t 检验,以 $P < 0. 05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 缺血再灌注损伤模型中 BI - 1 的表达量:建立缺血再灌注损伤模型,通过 RT - qPCR 检测不同缺血时间和不同再灌注时间细胞中 BI - 1 的基因水平,Western blot 法检测 BI - 1 的蛋白水平,测定乳酸脱氢酶活性和 TTC 染色观察心肌梗死范围。与假手术组比较,缺血再灌注组乳酸脱氢酶活性明显升高 ($P = 0. 000$,图 1A),出现了心肌梗死区,心肌梗死组织大面积呈现灰白色 (图 1B);不同缺血时间 (15、30、45min) 后再灌注 8h,细胞中 BI - 1 的基因水平和蛋白水平均明显升高,且随缺血时间依赖性升高 ($P = 0. 000$,图 1C,图 1D);缺血 45min 后,再灌注不同时间 (1、2、4、8h),BI - 1 的基因和蛋白表达量也明显升高,且随再灌注时间依赖性升高 ($P < 0. 01$,图 1E,图 1F)。

2. H9c2 心肌细胞氧化应激损伤模型中 BI - 1 的表达量:建立 H9c2 心肌细胞氧化应激损伤模型,通过 RT - qPCR、Western blot 法检测同一浓度 H₂O₂ 刺激不同时间 BI - 1 的基因和蛋白表达量和不同浓度 H₂O₂ 刺激相同时间 BI - 1 的基因和蛋白表达量。与对照组比较,用 1mmol/L H₂O₂ 刺激心肌细 2、4、8、16h 后 BI - 1 的基因水平和蛋白水平均明显提高,且随刺激时间依赖性升高 ($P < 0. 01$,图 2A,图 2B)。不

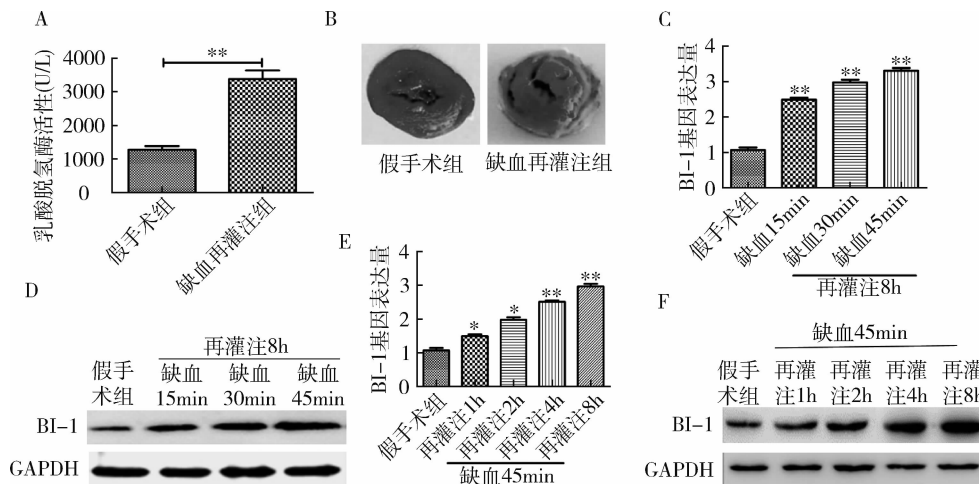


图1 BI-1在大鼠心肌缺血再灌注损伤细胞中的表达

A. 假手术组和缺血再灌注组乳酸脱氢酶活性测定; B. 心肌细胞 TTC 染色 ($\times 200$); C. RT-qPCR 检测不同缺血时间 BI-1 的表达量; D. Western blot 法检测不同缺血时间 BI-1 的表达量; E. RT-qPCR 检测不同再灌注时间 BI-1 的表达量; F. Western blot 法检测不同再灌注时间 BI-1 的表达量。与假手术组比较, * $P < 0.01$, ** $P = 0.000$

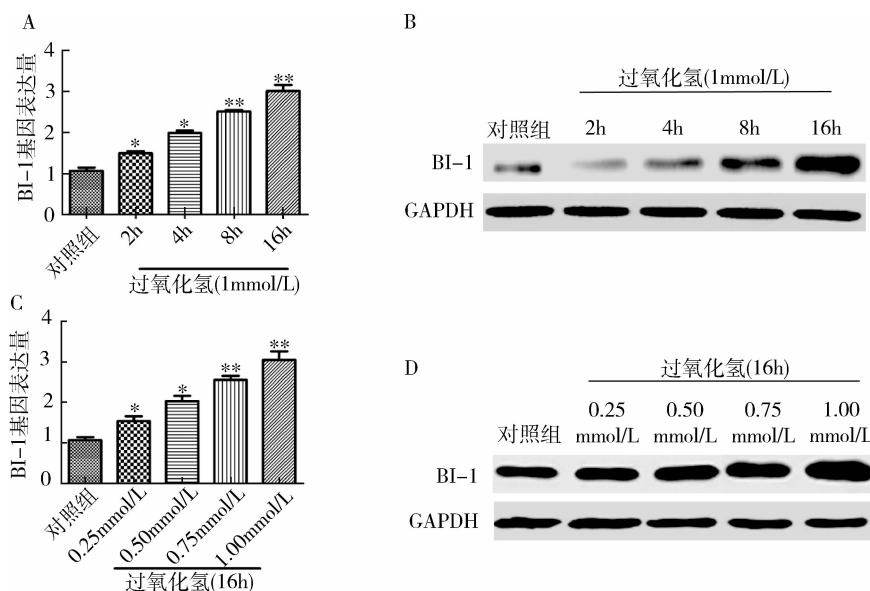


图2 BI-1在氧化应激损伤心肌细胞中的表达

A. RT-qPCR 检测 1mM H₂O₂ 刺激心肌细胞不同时间后 BI-1 的表达量; B. Western blot 法检测 1mmol/L H₂O₂ 刺激心肌细胞不同时间后 BI-1 的表达量; C. RT-qPCR 检测不同浓度 H₂O₂ 刺激细胞 16h 后 BI-1 的表达量; D. Western blot 法检测不同浓度 H₂O₂ 刺激细胞 16h 后 BI-1 的表达量。与对照组比较, * $P < 0.01$, ** $P = 0.000$

同浓度 H₂O₂ (0.25、0.50、0.75、1.00mmol/L) 刺激细胞 16h 后, BI-1 的基因水平和蛋白水平均显著提升, 且随刺激浓度依赖性升高 ($P < 0.01$, 图 2C, 图 2D)。

3. 过表达 BI-1 对 H₂O₂ 所致 H9c2 细胞损伤的影响: 构建了 pcDNA3.1(-) - BI-1 重组质粒, 转染 H9c2 细胞并用 1mmol/L H₂O₂ 刺激细胞, 检测过表达

BI-1 对 H₂O₂ 所致 H9c2 细胞损伤的影响。RT-qPCR 和 Western blot 法检测 BI-1 的基因和蛋白表达量都高于对照组, pcDNA3.1(-) - BI-1 重组质粒在 H9c2 细胞中成功表达 (图 3A, 图 3B)。过表达 BI-1 使乳酸脱氢酶的活性降低 ($P < 0.05$), 还能减少细胞毒性, 使细胞存活率升高 ($P < 0.01$, 图 3C, 图 3D); 过表达 BI-1 抑制了氧化应激所引起的 caspase -

3、caspase - 9 活性上升 ($P < 0.05$, 图 3G, 图 3H); 过表达 BI - 1 明显抑制了氧化应激损伤所致细胞的调

亡 ($P < 0.01$, 图 3E, 图 3F)。

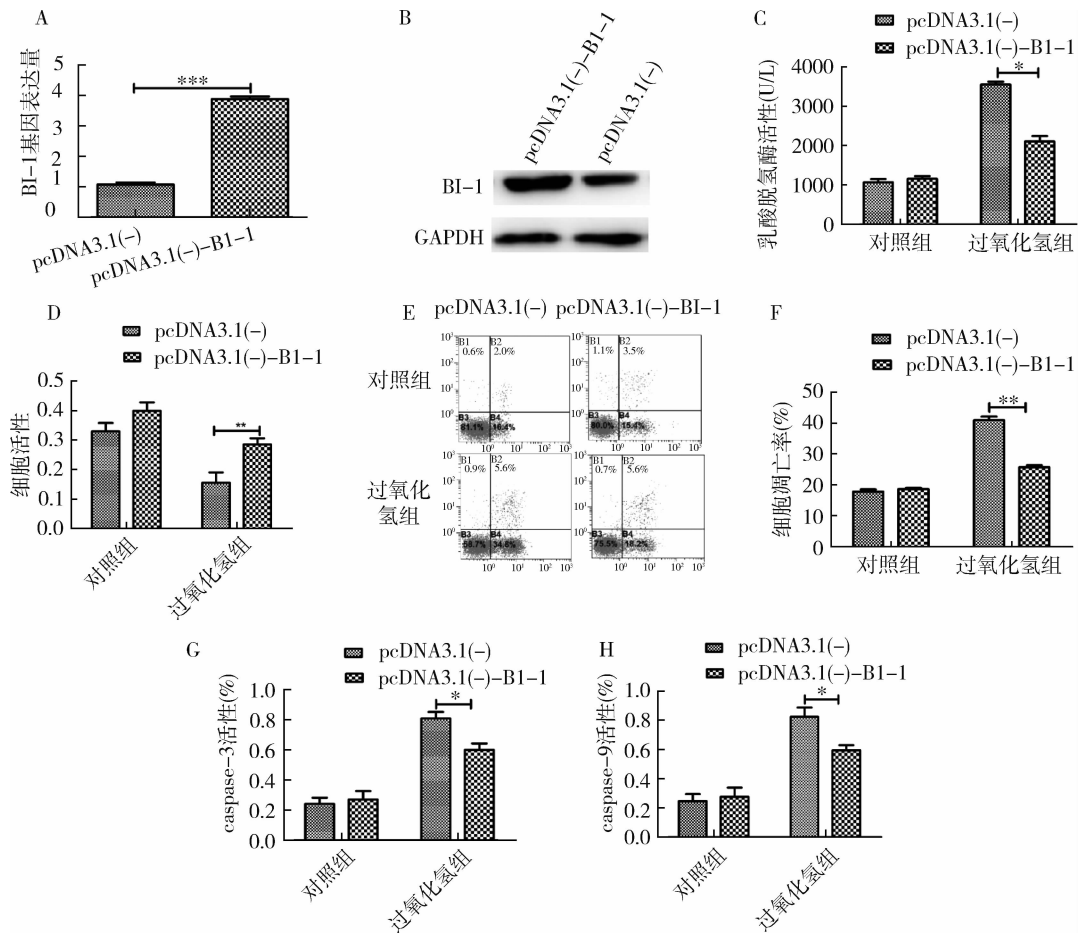


图 3 过表达 BI - 1 对 H₂O₂ 所致 H9c2 细胞损伤的影响

A. RT - qPCR 检测 pcDNA3.1 (-) - BI - 1 的过表达效果; B. Western blot 法检测 pcDNA3.1 (-) - BI - 1 的过表达效果; C. 乳酸脱氢酶活性测定; D. 心肌细胞存活率测定; E. 流式细胞仪检测心肌细胞凋亡率; F. 心肌细胞凋亡率统计; G. caspase - 3 活性检测; H. caspase - 9 活性检测。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.000$

4. 干扰 BI - 1 表达对 H₂O₂ 所致 H9c2 细胞损伤的影响: 构建了 BI - 1 - shRNA 重组质粒, 转染 H9c2 细胞并用 1mmol/L H₂O₂ 刺激细胞, 检测干扰 BI - 1 表达对 H₂O₂ 所致 H9c2 细胞损伤的影响。RT - qPCR 和 Western blot 法检测 BI - 1 的基因和蛋白表达量都低于对照组, BI - 1 - shRNA 重组质粒在 H9c2 细胞中成功表达 (图 4A, 图 4B)。干扰 BI - 1 表达使乳酸脱氢酶的活性升高 ($P < 0.01$), 细胞存活率下降 ($P < 0.05$, 图 4C, 图 4D)。干扰 BI - 1 表达使 H9c2 细胞的凋亡数增加 ($P < 0.01$, 图 4E, 图 4F)。

5. 激光共聚焦观察 BI - 1 的亚细胞定位: 构建 GFP - BI - 1 重组质粒, 通过激光共聚焦观察 BI - 1 的亚细胞定位, BI - 1 定位于线粒体上, 和线粒体标

志物存在共定位 (图 5)。

讨 论

随着人们生活方式的不断改变, 急性心肌梗死患者病死率不断上升, 作为心血管危重症, 其危害性很大。笔者在心肌梗死早期利用溶栓治疗或放置支架进行干预^[12,13]。然而心肌梗死后使用冠状动脉搭桥术常出现心肌缺血再灌注损伤, 引起心肌细胞凋亡和死亡, 进而引发冠状动脉疾病^[14]。心肌缺血再灌注损伤是复杂的病理学过程, 研究表明该损伤与氧自由基的产生、白细胞激活和腺嘌呤核苷三磷酸 (adenosine triphosphate, ATP) 合成障碍等有关, 对急性心肌梗死患者的预后产生很大的影响, 但其生理机制尚未完全清楚。研究发现 BI - 1 作为一种凋亡抑制因子,

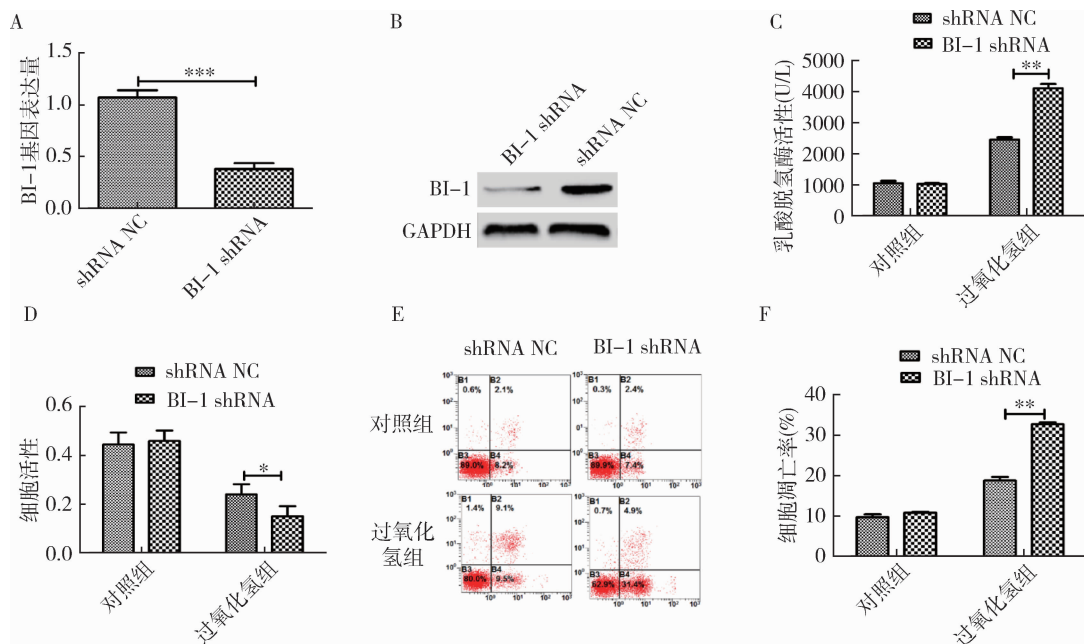


图4 干扰BI-1表达对H₂O₂所致H9c2细胞损伤的影响

A. RT-qPCR检测干扰BI-1表达后BI-1的表达量;B. Western blot法检测干扰BI-1表达后BI-1的表达量;C. 乳酸脱氢酶活性测定;
D. 心肌细胞存活率测定;E. 流式细胞仪检测心肌细胞凋亡率;F. 心肌细胞凋亡率统计。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P = 0.000$

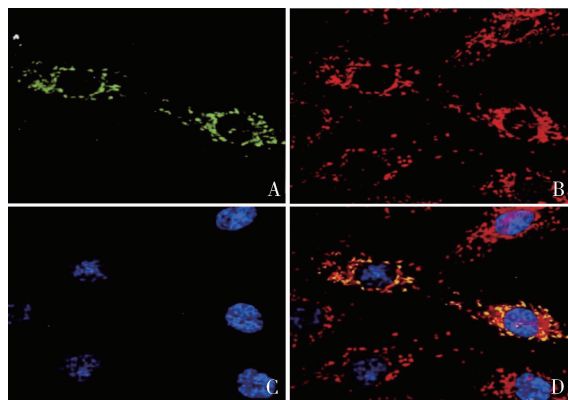


图5 激光共聚焦观察BI-1的亚细胞定位

A. 激光共聚焦观察BI-1-GFP的定位;B. 激光共聚焦观察线粒体的定位;C. 激光共聚焦观察细胞核的定位;
D. 激光共聚焦观察BI-1与线粒体的共定位

已参与了机体各种病理和生理过程。因此,本实验利用过表达和干扰等技术探讨BI-1在心肌缺血再灌注损伤和氧化应激损伤中的作用及其机制。

研究表明BI-1在脑、心脏、肾脏、肝脏等大部分组织中均有表达,在很多疾病中都发挥关键作用。有文献报道BI-1基因对于哺乳动物肝脏和肾脏心肌缺血再灌注损伤具有内在抵抗力。另外发现在脑损伤和急性脑梗死模型中,BI-1能够通过抑制海马区内ERS调控其诱导的细胞凋亡^[15]。本实验中笔者

首先检测了BI-1在大鼠心肌缺血再灌注损伤中的表达量,结果发现BI-1基因和蛋白表达量均升高;在氧化应激模型中,BI-1的表达量也明显上升,笔者认为表达量上调是由缺血再灌注和氧化应激损伤所诱导产生的。猜想BI-1表达量上升可能会起到心肌保护作用,所以构建了BI-1过表达和干扰重组质粒,转染细胞后检测过表达和干扰BI-1对H₂O₂所致H9c2细胞损伤的影响,结果发现过表达BI-1能够明显抑制氧化应激引起的细胞损伤和凋亡,由此可见BI-1具有心肌保护作用。caspases-3、caspase-9凋亡执行蛋白酶在细胞凋亡过程中起关键作用,笔者检测了过表达BI-1对caspase-3、caspase-9活性的影响,发现过表达BI-1能够降低caspase-3、caspase-9活性,进一步说明了BI-1能够在细胞中发挥抗凋亡功能。之前研究发现,在调节细胞凋亡过程中,线粒体发挥着枢纽作用。而通过激光共聚焦发现BI-1定位于线粒体上,和线粒体标志物存在共定位,更进一步证明了BI-1的抗凋亡作用。

综上所述,凋亡抑制因子Bax inhibitor-1(BI-1)在缺血再灌注损伤和氧化应激中表达量增加,能够抑制损伤所导致的心肌细胞凋亡,从而起到心肌保护作用。然而这可能仅是一方面,有关BI-1抗心肌细胞凋亡的作用机制还需要进一步探讨,为BI-1在

急性心肌梗死靶向治疗中的应用提供更多的依据。

参考文献

- Lansky AJ, Stone GW. Periprocedural myocardial infarction prevalence, prognosis, and prevention[J]. *Circulat Cardiovasc Intervent*, 2010, 3(6): 602
- 苏懿, 王磊, 张敏州. 急性心肌梗死的流行病学研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2012, 10(4): 467-469
- 佟士骅, 居海宁, 王玉华. 心脏运动康复对心肌梗死 PCI 术后患者心功能及生活质量的影响[J]. *医学研究杂志*, 2018, 47(3): 142-145
- Farhat N, Haddad N, Crispo J, *et al.* Trends in concomitant clopidogrel and proton pump inhibitor treatment among ACS inpatients, 2000-2016[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2019, 75(2): 227-235
- Scarabelli T, Stephanou A, Rayment N, *et al.* Apoptosis of endothelial cells precedes myocyte cell apoptosis in ischemia/reperfusion injury[J]. *Circulation*, 2001, 104(3): 253-256
- 任澎, 张巍, 刘永国, 等. 心肌细胞缺血再灌注损伤中信号分子 p38MAPK 对心肌细胞凋亡的影响[J]. *临床心血管病杂志*, 2014, 30(4): 359-361
- Ishikawa T, Aki T, Yanagisawa S, *et al.* Overexpression of Bax inhibitor-1 links plasma membrane microdomain proteins to stress[J]. *Plant Physiol*, 2015, 169(2): 1333-1343
- Xu Q, Reed JC. Bax inhibitor-1, a mammalian apoptosis suppressor

- identified by functional screening in yeast[J]. *Mol Cell*, 1998, 1: 337-346
- Chae HJ, Kim HR, Xu C, *et al.* BI-1 regulates an apoptosis pathway linked to endoplasmic reticulum stress[J]. *Mol Cell*, 2004, 15(3): 355-366
- Robinson KS, Clements A, Williams AC, *et al.* Bax Inhibitor 1 in apoptosis and disease[J]. *Oncogene*, 2011, 30(21): 2391-2400
- 齐志敏, 张莹, 王倩. 大鼠心肌缺血再灌注损伤实验模型研究[J]. *中国组织工程研究*, 2004, 8(30): 6620-6621
- Reddy K, Khaliq A, Henning RJ. Recent advances in the diagnosis and treatment of acute myocardial infarction[J]. *World J Cardiol*, 2015, 7(5): 21-54
- 张伯亨, 张亚静, 岳博成, 等. 尿激酶原联合血栓抽吸对高血栓负荷的 STEMI 患者的疗效观察[J]. *医学研究杂志*, 2018, 47(5): 179-182
- Murphy E, Steenberg C. Mechanisms underlying acute protection from cardiac ischemia-reperfusion injury[J]. *Physiol Rev*, 2008, 88(2): 581-609
- 刘佳鑫, 周帅, 钱希颖, 等. 过表达 Bax 抑制子 1 (BI-1) 通过内质网 IRE1-JNK 通路抑制蛛网膜下腔出血大鼠海马神经元凋亡[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(10): 1316-1322
(收稿日期: 2020-02-02)
(修回日期: 2020-04-09)

(上接第 86 页)

- Dos Santos GA, Kats L, Pandolfi PP. Synergy against PML-RARα: targeting transcription, proteolysis, differentiation, and self-renewal in acute promyelocytic leukemia[J]. *J Exp Med*, 2013, 210(13): 2793-2802
- Wang ZY, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable[J]. *Blood*, 2008, 111(5): 2505-2515
- de The H, Pandolfi PP, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: a paradigm for oncoprotein-targeted cure[J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(5): 552-560
- Tong Q, You H, Chen X, *et al.* ZYH005, a novel DNA intercalator, overcomes all-trans retinoic acid resistance in acute promyelocytic leukemia[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(7): 3284-3297
- Kayser S, Schlenk RF, Platzbecker U. Management of patients with acute promyelocytic leukemia[J]. *Leukemia*, 2018, 32(6): 1277-1294
- Wei S, Zhao M, Wang X, *et al.* PU. 1 controls the expression of long noncoding RNA HOTAIRM1 during granulocytic differentiation[J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(1): 44
- Chen ZH, Wang WT, Huang W, *et al.* The lncRNA HOTAIRM1 regulates the degradation of PML-RARA oncoprotein and myeloid cell differentiation by enhancing the autophagy pathway[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(2): 212-224
- Zeng C, Xu Y, Xu L, *et al.* Inhibition of long non-coding RNA NEAT1 impairs myeloid differentiation in acute promyelocytic leukemia cells[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 693
- Zhang X, Weissman SM, Newburger PE. Long intergenic non-coding RNA HOTAIRM1 regulates cell cycle progression during myeloid maturation in NB4 human promyelocytic leukemia cells[J]. *RNA Biology*, 2014, 11(6): 777-787
- Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method[J]. *Nature Protocols*, 2008, 3(6): 1101-1108

- Li R, Liu J, Qi J. Knockdown of long non-coding RNA CCAT1 suppresses proliferation and EMT of human cervical cancer cell lines by down-regulating Runx2[J]. *Exp Mol Pathol*, 2020, 113: 104380
- Li ZT, Zhang X, Wang DW, *et al.* Overexpressed lncRNA GATA6-AS1 inhibits LNM and EMT via FZD4 through the Wnt/beta-Catenin signaling pathway in GC[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 19: 827-840
- Zhang X, Weissman SM, Newburger PE. Long intergenic non-coding RNA HOTAIRM1 regulates cell cycle progression during myeloid maturation in NB4 human promyelocytic leukemia cells[J]. *RNA Biol*, 2014, 11(6): 777-787
- Krauss AC, Gao X, Li L, *et al.* FDA approval summary: (daunorubicin and cytarabine) liposome for injection for the treatment of adults with high-risk acute myeloid leukemia[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(9): 2685-2690
- Murphy T, Yee KWL. Cytarabine and daunorubicin for the treatment of acute myeloid leukemia[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2017, 18(16): 1765-1780
- Wang Y, Fu L, Sun A, *et al.* C/EBPβ contributes to transcriptional activation of long non-coding RNA NEAT1 during APL cell differentiation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 499(2): 99-104
- Tian YJ, Wang YH, Xiao AJ, *et al.* Long noncoding RNA SBF2-AS1 act as a ceRNA to modulate cell proliferation via binding with miR-188-5p in acute myeloid leukemia[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 1730-1737
- Yang T, Jin X, Lan J, *et al.* Long non-coding RNA SNHG16 has tumor suppressing effect in acute lymphoblastic leukemia by inverse interaction on hsa-miR-124-3p[J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(1): 134-142

(收稿日期: 2020-03-11)

(修回日期: 2020-04-24)