

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.12.017

论著·基础

# lncRNA SOX21-AS1 通过调控 miR-7-5p 表达对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的心肌细胞损伤的影响

王花, 辛兴昌, 刘田田



基金项目: 2020 年青海省卫健委项目(2020-wjzdx-20)

作者单位: 810000 西宁, 青海省人民医院急诊科(王花); 810000 西宁, 青海大学附属医院急诊内科(辛兴昌, 刘田田)

通信作者: 王花, E-mail: wa4btx@163.com

**【摘要】目的** 探讨长链非编码 RNA(lncRNA) SOX21 反义 RNA1(SOX21-AS1) 是否靶向 miR-7-5p 调控 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的心肌细胞损伤。**方法** 2022 年 7 月—2023 年 2 月于青海省人民医院进行实验。以 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导 H9C2 细胞构建氧化应激损伤模型。将 H9C2 分为 Con 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-NC 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + miR-NC 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + miR-7-5p 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-NC 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-7-5p 组。采用 RT-qPCR 检测细胞中 SOX21-AS1 和 miR-7-5p 表达。CCK-8 法和流式细胞术检测 H9C2 活力和凋亡。应用相应试剂盒检测细胞中超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量。双荧光素酶报告实验验证 SOX21-AS1 与 miR-7-5p 的靶向关系。**结果** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后 H9C2 活力、miR-7-5p 表达、SOD 活力下降( $P < 0.05$ ), 而凋亡率、SOX21-AS1 表达、MDA 含量增加( $P < 0.05$ )。干扰 SOX21-AS1 或过表达 miR-7-5p 均可促进 H9C2 细胞存活( $P < 0.05$ ), 增加 SOD 活力( $P < 0.05$ ), 降低 MDA 含量( $P < 0.05$ ), 抑制细胞凋亡( $P < 0.05$ )。miR-7-5p 是 SOX21-AS1 的靶基因。抑制 miR-7-5p 表达可逆转干扰 SOX21-AS1 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理 H9C2 细胞的保护作用( $P < 0.01$ )。**结论** 干扰 SOX21-AS1 可上调 miR-7-5p 表达, 从而抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的心肌损伤。

**【关键词】** H9C2 细胞; SOX21 反义 RNA1; miR-7-5p; 过氧化氢; 心肌细胞; 氧化应激**【中图分类号】** R542.2 **【文献标识码】** A

**Effect of lncRNA SOX21-AS1 on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cardiomyocyte injury by regulating miR-7-5p expression** Wang Hua\*, Xin Xingchang, Liu Tiantian. \* Department of Emergency, Qinghai Provincial People's Hospital, Qinghai Province, Xining 810000, China

Funding program: 2020 Qinghai Provincial Health Commission Project (2020-wjzdx-20)

Corresponding author: Wang Hua, E-mail: wa4btx@163.com

**【Abstract】 Objective** To study whether long non-coding RNA (lncRNA) SOX21 antisense RNA1 (SOX21-AS1) regulates H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cardiomyocyte damage by targeting miR-7-5p. **Methods** From July 2022 to February 2023, the experiment was carried out in Qinghai Provincial People's Hospital. The H9C2 cells were treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to mimic an oxidative stress injury model. H9C2 cells was divided into Con group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-NC group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + miR-NC group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + miR-7-5p group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-NC group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-7-5p group. Expression of SOX21-AS1 and miR-7-5p was detected using RT-qPCR. The viability and apoptosis of H9C2 were calculated using CCK-8 method and flow cytometry. A commercial kit was used to measure the activity of SOD and the content of malondialdehyde (MDA). Dual luciferase reporter experiment was used verify the targeting relationship between SOX21-AS1 and miR-7-5p. **Results** After H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment, cell viability, miR-7-5p expression and SOD activity of H9C2 were significantly reduced ( $P < 0.05$ ), while apoptosis rate, SOX21-AS1 expression and MDA content were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Interference with SOX21-AS1 or miR-7-5p overexpression can promote H9C2 cell survival ( $P < 0.05$ ), increase SOD activity ( $P < 0.05$ ), reduce MDA content ( $P < 0.05$ ), as well as inhibit cell apoptosis ( $P < 0.05$ ). miR-7-5p is the target gene of SOX21-AS1. miR-7-5p inhibition can reverse the protective effect of interference SOX21-AS1 on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced H9C2 cells ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Interfering with SOX21-AS1 can reduce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cardiomyocyte injury by up-regulating miR-7-5p expression.

**【Key words】** H9C2 cells; SOX21-antisense RNA1; Micro RNA-7-5p; Hydrogen peroxid; Cardiomyocytes; Oxidative stress

心血管疾病因其高发病率和病死率而备受关注。氧化应激是心血管疾病的主要因素之一,在急性心肌梗死(AMI)中缺血区血流的恢复诱导产生大量活性氧,增加血管通透性<sup>[1]</sup>。非编码 RNA(ncRNA)包括长链 ncRNA(lncRNA)和微小 RNA(miRNA),研究证实 lncRNA 和 miRNA 参与心肌细胞分化、增殖和凋亡等多种细胞过程,与 AMI、缺血—再灌注(I/R)损伤、心肌肥厚等心肌损伤疾病相关<sup>[2-4]</sup>。lncRNA SOX21 反义 RNA1(SOX21-AS1)位于染色体 13q32.1,包含 2 986 个核苷酸转录本。最近研究表明,沉默 SOX21-AS1 可以减轻阿尔茨海默病小鼠的氧化应激并抑制神经元凋亡<sup>[5]</sup>。然而,SOX21-AS1 在 AMI 发病中的潜在机制未见报道。StarBase 数据库预测到 miR-7-5p 是 SOX21-AS1 的潜在靶点,文献报道心肌 I/R 损伤后 miR-7-5p 表达降低,miR-7 通过靶向聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1(PARP1)保护心肌细胞免受 I/R 诱导的凋亡<sup>[6]</sup>。然而 SOX21-AS1 是否调控 miR-7-5p 参与 AMI 并不清楚。本研究以 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激心肌细胞建立 AMI 细胞损伤模型<sup>[7]</sup>,探讨 SOX21-AS1 靶向 miR-7-5p 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的心肌细胞凋亡和氧化损伤的影响,以期为 AMI 后心肌修复提供新的分子靶点,报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 细胞、试剂 (1)细胞:大鼠心肌细胞 H9C2 由上海致备生物科技有限公司提供;QIAGEN 通用总 RNA 提取试剂盒由上海力敏实业有限公司提供。(2)试剂:SYBR<sup>®</sup> Premix Ex TaqTM II 由北京智杰方远科技有限公司提供;SOX21-AS1 小干扰 RNA(si-SOX21-AS1)由上海生工生物公司提供;细胞计数试剂盒(CCK-8)、凋亡检测试剂盒购自上海钰博生物公司;兔源 Bcl-2 多克隆抗体、鼠 Bax 单克隆抗体、鼠 GAPDH 单克隆抗体以及羊抗兔或鼠 IgG 二抗购自 abcam 公司;丙二醛(MDA)测定试剂盒由合肥莱尔生物科技有限公司提供;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定试剂盒由天津怡森源生物技术有限公司提供;双荧光素酶活性检测试剂盒由上海沪峥生物科技有限公司提供;荧光素酶报告载体购自上海吉玛制药公司。

1.2 实验方法 2022 年 7 月—2023 年 2 月于青海省人民医院进行实验。

1.2.1 RT-qPCR 检测 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 H9C2 细胞中 SOX21-AS1 和 miR-7-5p 表达:参照丁婉雪等<sup>[7]</sup>实验方法,用含 100 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的 DMEM 培养液孵育 H9C2 建立 AMI 细胞损伤模型,记为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组。H9C2 在无 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的培养基上培养作为对照组(Con 组)。培养 6 h 后,采用 RT-qPCR 分析 H9C2 细胞中 SOX21-AS1 和 miR-7-5p 相对表达量。通用总 RNA 提取试剂

盒分离 Con 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞总 RNA,使用逆转录酶对 RNA 进行逆转录,并采用 SYBR<sup>®</sup> Premix Ex TaqTM II 进行 RT-qPCR。采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 方法计算 SOX21-AS1(以 GAPDH 作为内参)与 miR-7-5p(以 U6 作为内参)的相对表达量。SOX21-AS1 上游引物 5'-AGCTACGGAGGAAGAGGGTT-3',下游引物 5'-TCAG-CAGCGCATGTAAGTGA-3';GAPDH 上游引物:5'-AGC-CACATCGCTCAGACAC-3';下游引物:5'-GCCCAAT-ACGACCAAATCC-3'。miR-7-5p 上游引物 5'-ACACTC-CAGCTGGGTGGAAGACTAGTGATTTT-3',下游引物 5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTTCGCAATTCAGTTGAGACAACAAA-3';U6 上游引物:5'-CTTAGTTGCATGCAG-3',下游引物:5'-AATCGTGATAAGTC-3'。

1.2.2 细胞转染和实验分组:将 H9C2 细胞接种到 6 孔板,密度为 2 × 10<sup>5</sup> 个/孔,分别转染 si-NC、si-SOX21-AS1、miR-NC、miR-7-5p mimics、si-SOX21-AS1 + anti-miR-NC、si-SOX21-AS1 + anti-miR-7-5p 至融合为 50% 的 H9C2 细胞。收集转染 48 h 细胞,加入含 100 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 培养液孵育细胞 6 h 记为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-NC 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + miR-NC 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + miR-7-5p 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-NC 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-7-5p 组。按照上述 RT-qPCR 步骤检测 SOX21-AS1 和 miR-7-5p 表达。

1.2.3 CCK-8 检测细胞活力:将各实验组 H9C2 细胞在 96 孔板进行接种。48 h 后,每孔加入 10 μl 的 CCK-8 溶液,孵育 2 h。酶标仪测定每个孔在 450 nm 处的光密度(OD)值。

1.2.4 流式细胞术分析细胞凋亡:收集 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 孵育 6 h 各组细胞,参照凋亡试剂盒说明书检测细胞凋亡率。

1.2.5 Western blot 检测 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达:采用 RIPA 技术,从各组 H9C2 细胞中提取蛋白质,用 SDS-PAGE 分离蛋白样品 40 μg,转膜后浸泡在含有 5% 的 BSA 溶液中,室温孵育 2 h,在 4℃ 下孵育过夜。Bcl-2 抗体 1:1 000 稀释,Bax、GAPDH 抗体 1:500 稀释。在二抗的条件下室温下孵育 1 h。采用化学发光法对蛋白条带进行观察,利用 Image J 软件对目标条带进行灰度值分析。

1.2.6 试剂盒检测 MDA 与 SOD 活力:在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 孵育 6 h 后,将 1 ml 提取液加入细胞沉淀中,超声粉碎后,在 4℃ 下,10 000 r/min 离心 10 min,使用商品试剂盒检测收集到的上清液,测定其 MDA 水平和 SOD 活性。

1.2.7 双荧光素酶报告系统鉴定:把 SOX21-AS1 与 miR-7-5p 结合位点序列突变,同时,构建 MUT-SOX21-AS1 突变体。采用 Lipofectamine 2000 说明书,将 miR-7-5p mimics、miR-NC 分别与 WT-SOX21-AS1 和 MUT-

SOX21-AS1 共同转染 H9C2 细胞,经过 48 h,检测不同细胞中的荧光素酶活性。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件分析实验数据。正态分布计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,2 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。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 沉默 SOX21-AS1 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起 H9C2 细胞损伤

的影响 与 Con 组比较,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞中 SOX21-AS1 的表达水平、细胞凋亡率、Bax 蛋白水平升高( $P < 0.01$ ),而 miR-7-5p 的表达、细胞活力、Bcl-2 蛋白水平则明显下降( $P < 0.05$ );H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 组 H9C2 细胞中 SOX21-AS1 的表达水平、凋亡率、Bax 蛋白水平与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-NC 组比较明显下降( $P < 0.01$ ),而 miR-7-5p 的表达水平、细胞活力、Bcl-2 蛋白水平增加( $P < 0.05$ ),见图 1、表 1。

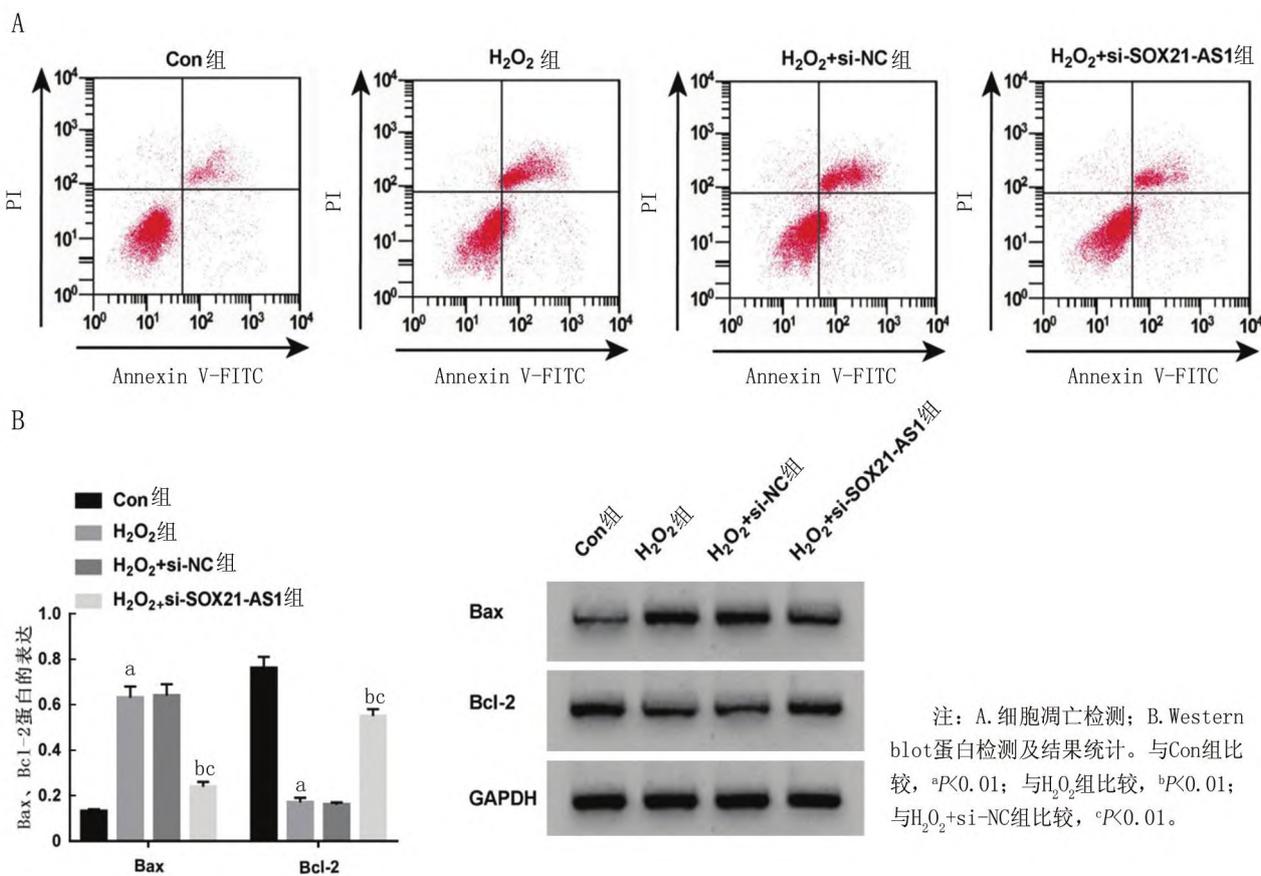


图 1 沉默 SOX21-AS1 对 H9C2 细胞凋亡和 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响  
Fig. 1 The effect of silencing SOX21-AS1 on H9C2 apoptosis and protein expression

表 1 沉默 SOX21-AS1 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 H9C2 细胞损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 The effect of silencing SOX21-AS1 on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced H9C2 damage

组别	<i>n</i>	SOX21-AS1	miR-7-5p	细胞活力(OD 值)	凋亡率(%)
Con 组	3	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.34 ± 0.07	6.82 ± 0.33
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	3	3.44 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.56 ± 0.03 <sup>a</sup>	22.27 ± 0.87 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + si-NC 组	3	3.45 ± 0.07	0.24 ± 0.02	0.57 ± 0.03	22.35 ± 0.90
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 组	3	1.29 ± 0.06 <sup>bc</sup>	0.88 ± 0.06 <sup>bc</sup>	1.15 ± 0.06 <sup>bc</sup>	11.19 ± 0.59 <sup>bc</sup>
<i>F</i> 值		1 938.946	452.000	186.602	368.743
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Con 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-NC 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

2.2 沉默 SOX21-AS1 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 导致的 H9C2 细胞氧化损伤的影响 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞 SOD 活力明显低于 Con 组 ( $P < 0.05$ ), 而 MDA 水平则明显高于 Con 组 ( $P < 0.01$ ); H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 组 H9C2 细胞 SOD 活力明显高于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-NC 组, 而 MDA 水平明显低于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-NC 组 ( $P < 0.01$ ), 见表 2。

表 2 沉默 SOX21-AS1 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 H9C2 细胞氧化损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 The effect of silencing SOX21-AS1 on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced H9C2 oxidative damage

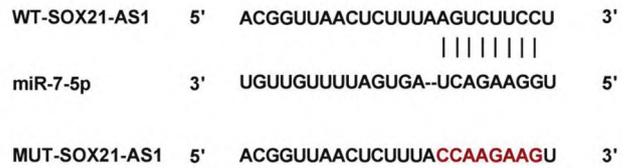
组别	n	MDA (mmol/L)	SOD (U/L)
Con 组	3	211.21 ± 11.47	185.13 ± 12.08
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	3	589.32 ± 17.76 <sup>a</sup>	60.22 ± 3.45 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + si-NC 组	3	595.39 ± 21.46	61.12 ± 3.30
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 组	3	285.01 ± 11.51 <sup>bc</sup>	164.05 ± 9.26 <sup>bc</sup>
F 值		466.336	207.499
P 值		<0.001	<0.001

注: 与 Con 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-NC 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ 。

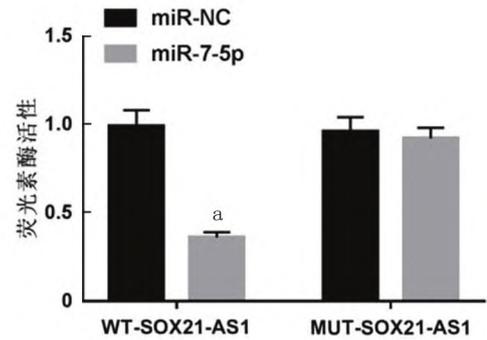
2.3 SOX21-AS1 与 miR-7-5p 的靶向关系 StarBase 数据库分析发现, miR-7-5p 和 SOX21-AS1 存在特异性结合位点, 见图 2A。miR-7-5p mimics 转染后, 与转染 miR-NC 比较, H9C2 细胞中 WT-SOX21-AS1 的相对荧光素酶活性显著降低 ( $P < 0.05$ ), 见图 2B。

2.4 miR-7-5p 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 导致的 H9C2 细胞损伤的影响 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + miR-NC 组比较, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + miR-7-5p 组 H9C2 细胞 miR-7-5p 的表达水平、细胞活力、SOD 活性、Bcl-2 表达升高 ( $P < 0.01$ ), 而凋亡率、MDA 含量及 Bax 表达降低 ( $P < 0.01$ ), 见图 3、表 3。

A



B



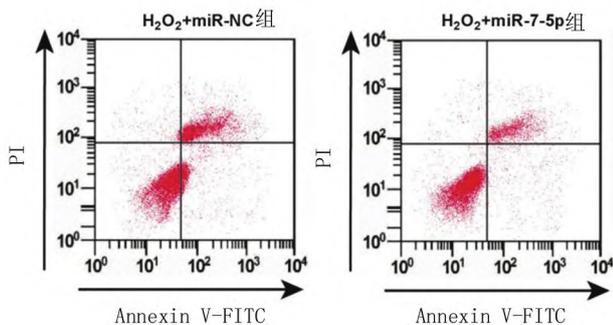
注: A. miR-7-5p 和 SOX21-AS1 之间存在互补的结合位点; B. 双荧光素酶实验验证 miR-7-5p 与 WT-SOX21-AS1 的靶向关系; 与转染 miR-NC 比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

图 2 SOX21-AS1 和 miR-7-5p 的互补序列及荧光素酶活性检测

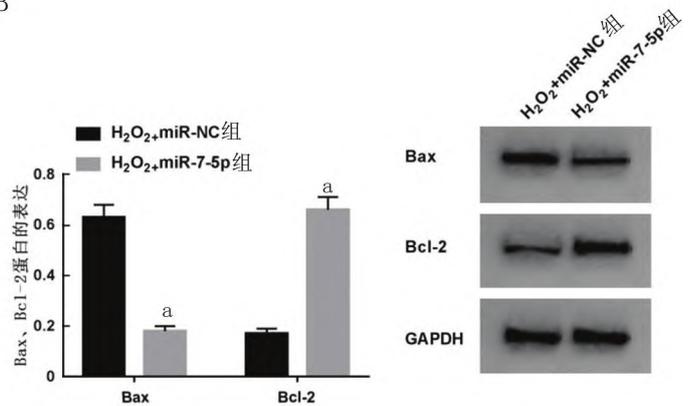
Fig. 2 Complementary sequences and luciferase activity detection of SOX21-AS1 and miR-7-5p

2.5 下调 miR-7-5p 可逆转 SOX21-AS1 在 H9C2 损伤上的作用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-7-5p 组 H9C2 细胞 miR-7-5p 的表达水平、细胞活力、Bcl-2 蛋白水平与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-NC 组比较, 显著下降 ( $P < 0.01$ ), 而 SOX21-AS1 的表达水平、凋亡率、Bax 蛋白表达显著上升 ( $P < 0.01$ ), 见图 4、表 4。

A



B



注: A. 细胞凋亡检测; B. Western blot 蛋白检测及结果统计; 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + miR-NC 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ 。

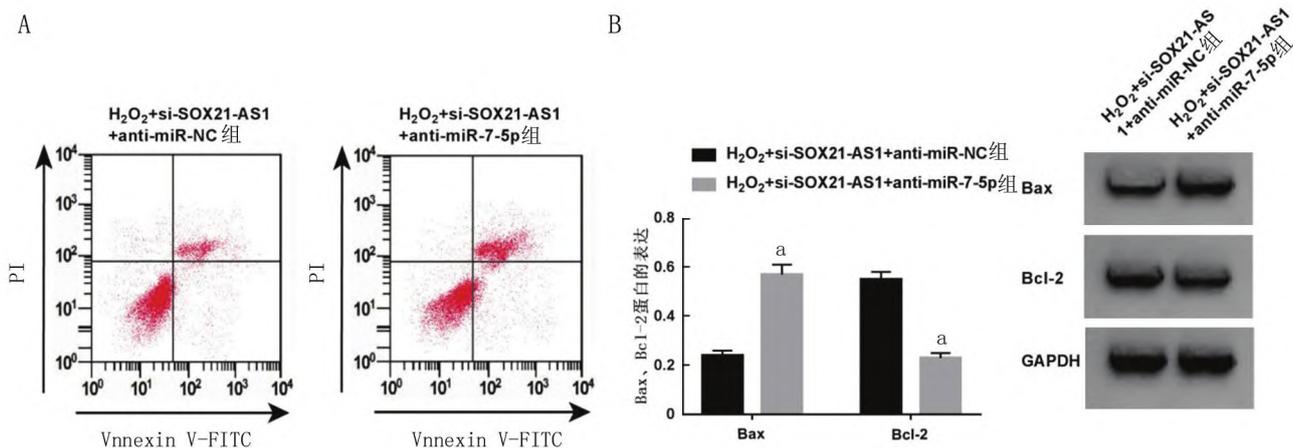
图 3 miR-7-5p 对 H9C2 细胞凋亡和 Bax, Bcl-2 蛋白表达的作用

Fig. 3 The effect of miR-7-5p on H9C2 apoptosis and expression of Bax and Bcl-2 proteins

表 3 miR-7-5p 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 H9C2 细胞损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 The effect of miR-7-5p on H9C2 damage induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

组别	n	MDA (mmol/L)	SOD (U/L)	miR-7-5p	细胞活力 (OD 值)	凋亡率 (%)
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + miR-NC 组	3	595.70 ± 23.92	61.36 ± 3.63	0.23 ± 0.02	0.57 ± 0.04	22.33 ± 0.89
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + miR-7-5p 组	3	249.89 ± 12.31	170.55 ± 10.77	0.90 ± 0.06	1.23 ± 0.06	8.71 ± 0.40
t 值		22.265	16.640	18.349	15.853	24.177
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001



注: A. 细胞凋亡检测; B. Western blot 蛋白表达情况; 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-NC 组比较, <sup>a</sup>P < 0.05。

图 4 下调 miR-7-5p 可逆转沉默 SOX21-AS1 对 H9C2 细胞凋亡和 Bax、Bcl-2 表达的影响

Fig. 4 Downregulation of miR-7-5p can reverse the effect of silencing SOX21-AS1 on H9C2 apoptosis and Bax, Bcl-2 expression

表 4 抑制 miR-7-5p 可逆转沉默 SOX21-AS1 对 H9C2 细胞损伤的作用 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 4 Inhibition of miR-7-5p can reverse the effect of silencing SOX21-AS1 on H9C2 damage

组别	n	miR-7-5p	SOX21-AS1	细胞活力 (OD 值)	凋亡率 (%)
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-NC 组	3	0.90 ± 0.05	1.29 ± 0.06	1.15 ± 0.07	11.24 ± 0.60
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-7-5p 组	3	0.36 ± 0.03	2.76 ± 0.08	0.67 ± 0.03	19.53 ± 0.91
t 值		16.040	25.461	10.917	13.173
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.6 下调 miR-7-5p 可逆转沉默 SOX21-AS1 在 H9C2 细胞氧化损伤中的影响 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-7-5p 组 H9C2 细胞 SOD 活力与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-NC 组比较, 明显下降 (P < 0.01), MDA 含量上升 (P < 0.01), 见表 5。

表 5 抑制 miR-7-5p 可逆转沉默 SOX21-AS1 对 H9C2 氧化损伤的作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Tab. 5 Inhibition of miR-7-5p can reverse the effect of silencing SOX21-AS1 on H9C2 oxidative damage

组别	MDA (mmol/L)	SOD (U/L)
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-NC 组	286.68 ± 12.98	171.94 ± 8.80
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + si-SOX21-AS1 + anti-miR-7-5p 组	533.17 ± 17.23	78.94 ± 4.84
t 值	19.791	16.039
P 值	<0.001	<0.001

### 3 讨论

目前研究认为 lncRNA 对心血管疾病的发展至关重要, 具有成为心血管疾病治疗靶点的巨大潜力。大量 lncRNA 已被证实与 AMI 后心肌细胞损伤有关。Liu 等<sup>[8]</sup> 研究表明下调 lncRNA 肺腺癌转移相关转录本 1 (MALAT1) 可减轻 AMI 模型大鼠心脏损伤, 抑制缺氧/再灌注诱导的心肌细胞凋亡。Li 等<sup>[9]</sup> 指出在氧化应激条件下, HOX 转录反义 RNA (HOTAIR) 低表达可进一步抑制心肌细胞增殖, 加速心肌细胞凋亡, 而 HOTAIR 过表达可保护心肌细胞免受氧化应激诱导的损伤。本研究结果表明, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激抑制了 H9C2 细胞活力, 降低抗氧化酶 SOD 活性, 增加细胞凋亡率, 提高 H9C2 细胞中脂质过氧化终产物 MDA 水平, 说明 AMI 细胞损伤模型构建成功。同时, 本研究发现 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺

激的 H9C2 细胞中 SOX21-AS1 表达上调,说明 SOX21-AS1 表达改变可能与 AMI 后心肌损伤相关。验证 SOX21-AS1 功能显示,干扰 SOX21-AS1 表达能够抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的心肌细胞凋亡、氧化损伤,并增强心肌细胞活力,提示干扰 SOX21-AS1 可能是缓解 AMI 进展的重要途径。Xu 等<sup>[10]</sup>证实沉默 SOX21-AS1 可减弱 β 淀粉样蛋白(Aβ<sub>1-42</sub>)介导的人神经母细胞瘤细胞微管相关蛋白磷酸化水平、细胞活力和凋亡,减轻 Aβ<sub>1-42</sub> 诱导的神经元损伤,与本研究结果类似。此外,本研究发现干扰 SOX21-AS1 表达还可逆转 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 Bax 上调、Bcl-2 下调,进一步证实干扰 SOX21-AS1 具有抗凋亡作用。这些结果表明,干扰 SOX21-AS1 表达可减轻 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的心肌细胞凋亡和氧化损伤。

miRNA 是关键的转录调节因子,参与 AMI、心脏缺血、心律失常、心力衰竭等多个临床过程<sup>[11]</sup>。此外,miRNA 表达的上调或下调能够促进或减轻心血管疾病的病理改变<sup>[12-13]</sup>。miR-7-5p 表达改变与心肌、脑 I/R 损伤有关,如姜黄素可能通过上调 miR-7-5p 减轻脑 I/R 后细胞坏死和凋亡、炎症反应和氧化应激从而发挥脑保护作用<sup>[14]</sup>;淫羊藿次苷 II 通过上调 miR-7-5p 激活 PI3K/Akt 信号通路保护心肌细胞免受缺氧损伤<sup>[15]</sup>。此外,下调 lncRNA 母系表达基因 3(MEG3)对 I/R 诱导的心肌细胞凋亡的保护作用与上调 miR-7-5p 表达有关<sup>[16]</sup>。本研究显示,miR-7-5p 是 SOX21-AS1 的直接靶点,提示干扰 SOX21-AS1 表达在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导心肌损伤中的功能可能与 miR-7-5p 介导的保护作用相关,SOX21-AS1 通过靶向调控 miR-7-5p 表达参与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 H9C2 细胞损伤。

综上,本研究证实干扰 SOX21-AS1 可通过上调 miR-7-5p 表达减少 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的心肌细胞凋亡,从而减轻 AMI 后的心肌损伤。因此,SOX21-AS1/miR-7-5p 分子轴可能是促进 AMI 后心肌修复的有效靶点。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

#### 作者贡献声明

王花:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;辛兴昌:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;刘田田:提出研究思路,分析实验数据,论文审核

#### 参考文献

- González-Montero J, Brito R, Gajardo AI, et al. Myocardial reperfusion injury and oxidative stress: Therapeutic opportunities[J]. World J Cardiol, 2018, 10(9):74-86. DOI:cnki. sun;wjz. 0. 2018-09-001.
- Hu H, Wu J, Li D, et al. Knockdown of lncRNA MALAT1 attenuates acute myocardial infarction through miR-320-Pten axis[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106(1):738-746. DOI:10. 1016/j. biopha. 2018. 06. 122.
- Kong F, Jin J, Lv X, et al. Long noncoding RNA RMRP upregulation aggravates myocardial ischemia-reperfusion injury by sponging miR-206 to target ATG3 expression[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109(1):716-725. DOI:10. 1016/j. biopha. 2018. 10. 079.
- Zou X, Wang J, Tang L, et al. LncRNA TUG1 contributes to cardiac hypertrophy via regulating miR-29b-3p[J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2019, 55(7):482-490. DOI:10. 1007/s11626-019-00368-x.
- Zhang L, Fang Y, Cheng X, et al. Silencing of long noncoding RNA SOX21-AS1 relieves neuronal oxidative stress injury in mice with alzheimer's disease by upregulating FZD3/5 via the Wnt Signaling Pathway[J]. Mol Neurobiol, 2019, 56(5):3522-3537. DOI:10. 1007/s12035-018-1299-y.
- Li B, Li R, Zhang C, et al. MicroRNA-7a/b protects against cardiac myocyte injury in ischemia/reperfusion by targeting poly(ADP-ribose) polymerase[J]. PLoS One, 2014, 9(3):e90096-e90106. DOI:10. 1371/journal. pone. 0090096.
- 丁婉雪,葛瑞瑞,黄金玲,等. 苓桂术甘汤含药血清对过氧化氢诱导的乳鼠原代心肌细胞氧化应激损伤及细胞凋亡的影响[J]. 安徽中医药大学学报, 2019, 38(2):61-66. DOI:10. 3969/j. issn. 2095-7246. 2019. 02. 015.
- Liu Z, Liu J, Wei Y, et al. LncRNA MALAT1 prevents the protective effects of miR-125b-5p against acute myocardial infarction through positive regulation of NLRC5[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(2):990-998. DOI:10. 3892/etm. 2019. 8309.
- Li L, Zhang M, Chen W, et al. LncRNA-HOTAIR inhibition aggravates oxidative stress-induced H9c2 cells injury through suppression of MMP2 by miR-125[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2018, 50(10):996-1006. DOI:10. 1093/abbs/gmy102.
- Xu W, Li K, Fan Q, et al. Knockdown of long non-coding RNA SOX21-AS1 attenuates amyloid-β-induced neuronal damage by sponging miR-107[J]. Biosci Rep, 2020, 40(3):BSR20194295. DOI:10. 1042/BSR20194295.
- Wojciechowska A, Braniewska A, Kozar-Kamińska K. MicroRNA in cardiovascular biology and disease[J]. Adv Clin Exp Med, 2017, 26(5):865-874. DOI:10. 17219/acem/62915.
- Teng YL, Ren F, Xu H, et al. Overexpression of miRNA-410-3p protects hypoxia-induced cardiomyocyte injury via targeting TRAF5[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(20):9050-9057. DOI:10. 26355/eurev\_201910\_19307.
- Hu Y, Jin G, Li B, et al. Suppression of miRNA let-7i-5p promotes cardiomyocyte proliferation and repairs heart function post injury by targeting CCND2 and E2F2[J]. Clin Sci (Lond), 2019, 133(3):425-441. DOI:10. 1042/CS20181002.
- Xu H, Nie B, Liu L, et al. Curcumin prevents brain damage and cognitive dysfunction during ischemic-reperfusion through the regulation of miR-7-5p[J]. Curr Neurovasc Res, 2019, 16(5):441-454. DOI:10. 2174/1567202616666191029113633.
- Hu D, Gu Y, Wu D, et al. Icariside II protects cardiomyocytes from hypoxia-induced injury by upregulating the miR-7-5p/BTG2 axis and activating the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Int J Mol Med, 2020, 46(4):1453-1465. DOI:10. 3892/ijmm. 2020. 4677.
- Zou L, Ma X, Lin S, et al. Long noncoding RNA-MEG3 contributes to myocardial ischemia-reperfusion injury through suppression of miR-7-5p expression[J]. Biosci Rep, 2019, 39(8):BSR20190210. DOI:10. 1042/BSR20190210.

(收稿日期:2024-06-11)