

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.08.002

内皮特异性 miR-342-5p 敲除致小鼠内皮损伤和心血管功能紊乱*

李纪君¹ 谭延振¹ 杨红燕¹ 周嘉恒¹ 丁 昕² 李宸涵³张鹏飞¹ 吴方琴¹ 高 峰¹ 李 敏^{1Δ} 张 星^{1Δ}

(1 中国人民解放军空军军医大学航空航天医学系 陕西 西安 710032; 2 中国人民解放军 66284 医院超声科 北京 100039;

3 西北大学生命科学院 陕西 西安 710127)

摘要 目的:我们前期研究发现有氧运动促进内皮细胞分泌 miR-342-5p, miR-342-5p 通过外泌体富集至心肌细胞后发挥心脏保护作用。本研究的主要目的是明确内皮来源的 miR-342-5p 在心血管功能调控中的作用。**方法:**我们构建了内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠,通过心脏超声检测和血管收缩舒张功能检测观察了该小鼠心血管功能的变化;培养血管内皮细胞,通过对细胞存活率检测、相关蛋白的表达检测等方法对 miR-342-5p 发挥心血管保护作用的机制进行探究。**结果:**内皮 miR-342-5p 敲除致小鼠运动能力降低、心脏收缩功能不变,但舒张功能紊乱。且内皮 miR-342-5p 敲除致小鼠血管口径变小、微血管密度降低和血管内皮功能紊乱。内皮 miR-342-5p 敲除致小鼠心血管功能紊乱的机制与其引起的内皮细胞损伤有关。敲低 miR-342-5p 致内皮细胞中 caspase 9 水平增加,引起内皮细胞活性降低和凋亡增加。**结论:**这些结果进一步证实了内皮细胞来源的 miR-342-5p 在心血管功能中的重要作用,提示 miR-342-5p 在防治心血管疾病中的潜在应用。

关键词:miR-342-5p; 内皮细胞; 心血管功能; 凋亡

中图分类号:R-33; R540.47; R541.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)08-1408-05

Endothelium-specific miR-342-5p Knockout Induces Vascular Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Dysfunction in Mice*

LI Ji-jun¹, TAN Yan-zhen¹, YANG Hong-yan¹, ZHOU Jia-heng¹, DING Xin², LI Chen-han³, ZHANG Peng-fei¹,WU Fang-qin¹, GAO Feng¹, LI Min^{1Δ}, ZHANG Xing^{1Δ}

(1 School of Aerospace Medicine, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 2 Department of Ultrasound, PLA 66284 Hospital, Beijing, 100039, China; 3 School of Life Sciences, Northwest University, Xi'an, Shaanxi, 710127, China)

ABSTRACT Objective: We previously found that aerobic exercise protects the heart through secreting miR-342-5p from endothelial cells and others. The aim of the study is to test the role of miR-342-5p in cardiovascular function and its underlying mechanism. **Methods:** An endothelium-specific miR-342-5p knockout mice model was established. The echocardiography and vasodilation in isolated aortas were detected. Cell viability and apoptosis-related protein contents in endothelial cells were tested to explore the underlying mechanism. **Results:** Endothelium-specific miR-342-5p knockout decreased the exercise capacity, and cardiac diastolic function, although the cardiac systolic function was unchanged. In addition, it decreased the capillary density in the heart and induced endothelial dysfunction. The cardiovascular dysfunction induced by miR-342-5p knockout may attribute to the endothelial injury induced by miR-342-5p deficiency in endothelial cells. Knockdown of miR-342-5p increased the content of caspase 9, decreased the cell viability and promoted apoptosis in cultured endothelial cells. **Conclusions:** These results suggested that endothelium-derived miR-342-5p plays an important role in cardiovascular function, and highlights the potential of miR-342-5p in treatment of cardiovascular disease.

Key words: MiR-342-5p; Endothelial cells; Cardiovascular function; Apoptosis

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R540.47; R541.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)08-1408-05

前言

心血管疾病严重危害人类健康^[1],中国心血管病现患病人 3.3 亿,占中国城乡居民总死因首位,且其发病率仍处于持

续上升阶段。动物实验和流行病学统计表明,运动具有直接的心肌保护作用,并且降低心血管疾病的危险因素^[2,3]。运动促进心血管健康的机制非常复杂,新近研究表明运动可促进多个组织和器官分泌运动因子,运动因子可进入循环后靶向作用于其

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31871146;32071169);陕西省自然科学基金项目(2020JQ-442)

作者简介:李纪君(1996-),男,硕士研究生,主要研究方向:特种医学,E-mail: jijunli2111@126.com

Δ 通讯作者:张星(1983-),男,硕士生导师,副教授,主要研究方向:生物学,E-mail: zhangxing@fmmu.edu.cn,电话:029-84711275;

李敏(1995-),女,博士,主要研究方向:生物学,E-mail: limin2022@126.com,电话:029-84711278

(收稿日期:2021-11-10 接受日期:2021-11-30)

它细胞,从而介导运动的健康效应。外泌体是一类直径为40-100 nm的细胞外囊泡,所有的细胞均可释放和摄取外泌体,内含RNA、DNA、多肽和蛋白质等多种生物活性物质,机体几乎所有的组织细胞均可释放和摄取外泌体,后者介导细胞-细胞间的信息传递,并广泛参与机体生理与病理过程^[4]。研究表明外泌体是运动因子的一种重要载体^[5,6]。外泌体内含有大量miRNA,miRNA是一类由约22个核苷酸组成的非编码单链RNA分子,多项研究证实miRNAs在心血管疾病中的重要调控作用^[7,8]。

研究表明,急性运动(尤其是高强度运动)可致循环中的外泌体量显著增加,通常在运动后24小时内外泌体数量恢复正常;有趣的是,研究发现长期运动者在非运动状态时血液中外泌体的"量"虽无明显变化但"质"发生了改变,并具有心血管保护效应^[9,10]。我们新近发现,运动可使循环中外泌体的多种miRNAs含量发生变化,其中运动调控的多种ncRNAs("运动RNA簇")参与代谢调节和心血管保护。特别是,运动引起的血流剪切力增加可促进血管内皮细胞释放富含miR-342-5p的外泌体,后者经血液循环被心肌细胞吞噬,其中的miR-342-5p通过靶向caspase9和Ppm1f,激活抗凋亡和促细胞生存信号(Akt),提高心肌抵抗缺血/再灌注损伤的能力^[9]。然而,内皮来源的miR-342-5p是否在心血管功能维持中扮演重要角色尚不清楚。本研究以内皮特异性miR-342-5p敲除小鼠为研究对象,旨在揭示内皮来源的miR-342-5p在心血管功能中的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本研究所用内皮细胞特异性miR-342-5p^{fllox+}小鼠与Cre小鼠由上海南方模式生物科技股份有限公司定制,利用Cre-LoxP系统工作原理,交配后获得基因敲除miR-342-5p^{-/-}(KO)小鼠以及野生型miR-342-5p^{+/+}(WT)小鼠。小鼠饲养于空军军医大学实验动物中心SPF级动物房,动物实验方案及操作通过空军军医大学动物伦理委员会审查批准。

1.2 主要器材与试剂

实验所用仪器主要有Visual Sonics超高分辨率小动物超声影像系统VEVO2100、DMT血管张力测定系统、Zeiss激光共聚焦显微镜、转棒系统JLBehv-RRTG、Bioseb小鼠抓力测试仪BIO-GS3等。SVAREC细胞购于ATCC细胞库。实时荧光定量PCR试剂盒购于Yeastar生物,miRNA反转录试剂盒购于Takara公司,血小板-内皮细胞粘附分子(CD31)、 α -微管蛋白(α -Tubulin)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶9(Caspase9)、Cleaved-Caspase9、Caspase3、Cleaved-Caspase3等抗体均购于Cell Signaling Technology公司,miR-342-5p inhibitor/NC/Mimic由广州锐博生物科技有限公司定制,CCK8试剂盒购于七海生物。

1.3 实验方法

1.3.1 qPCR 将小鼠主动脉取出后收集内皮,提取内皮细胞RNA后进行反转录,反转录和PCR反应体系及反应条件按照说明书进行,所用引物序列为miR-342-5p:5'-AGGGGTGC-TATCTGTGATTGAG-3',pre-miR-342-5p:5'-TCAGCAGGCCA-AGGTGACG-3'。

1.3.2 运动能力测定^[11]:转棒与抓力 小鼠于转棒系统预适应3天后,将检测体系调至最低转速4 rpm,最高转速40 rpm,加速时间5分钟,记录小鼠从转棒上掉落的时长,每只小鼠检测3次,取平均值。将小鼠放置于抓力测定仪网格中央位置,小鼠四肢均接触网格,水平向后轻拉鼠尾使小鼠脱离网格,记录小鼠四肢抓力,重复5次取平均值。

1.3.3 心脏功能检测 用高分辨率小动物超声影像系统在M模式和B模式下分别进行小鼠心脏超声采集,测量左心室舒张末期直径和收缩末期直径等参数,所有测量数据为5个连续心动周期的平均值。

1.3.4 血管收缩舒张功能检测 取下小鼠主动脉后置于PSS溶液中,将主动脉剪成1 mm的血管环,用钢丝穿过血管环将其固定在张力换能器上,待显示屏所示压力稳定后对血管环逐一进行标准化,加入10-5 mM盐酸苯肾上腺素(PE)使血管收缩,再加入不同浓度梯度的硝普钠(SNP)和乙酰胆碱(ACh)使血管舒张,并记录压力波形,计算血管在不同药物浓度下的收缩和舒张百分比。

1.3.5 细胞活性检测 miR-342-5p敲低步骤均按照锐博生物miR-342-5p inhibitor/NC/Mimic试剂盒说明书进行,分别于转染24小时、48小时、72小时后检测细胞活性,操作步骤按CCK8试剂盒说明书进行。

1.3.6 Western blot 将细胞培养皿中的培养液弃去,用冰冷的PBS洗细胞3次,加入RIPA裂解液(含1% PMSF),用细胞刮将细胞从培养皿上刮下,将细胞裂解液移至1.5 mL EP管中,冰上放置20分钟使细胞充分裂解,4℃,12000×g离心15分钟,弃去沉淀保留上清。采用BCA法进行蛋白质定量后将细胞裂解液与SDS loading buffer混合后100℃煮10分钟。取40 μ g蛋白样品进行SDS-PAGE凝胶电泳,转膜后用5%脱脂奶粉封闭1.5小时,一抗4℃孵育过夜,TBST洗涤后二抗室温孵育2小时,TBST再次洗涤后用ECL发光液显色,并用Image J软件进行灰度分析。

1.3.7 免疫荧光 将冰冻切片在室温解冻后PBS洗涤后擦干,用组化笔在组织边缘画圈,0.25% Triton室温透化5分钟,PBS洗涤后将切片置于湿盒中,10%胎牛血清37℃封闭1小时,一抗4℃孵育过夜,PBS洗涤后荧光二抗孵育2小时,PBS洗涤,用DAPI染核5分钟,洗涤后滴加抗荧光淬灭封片剂并用盖玻片封片,用激光共聚焦显微镜观察拍照。

1.3.8 内皮细胞分离与培养 小鼠主动脉内皮细胞分离方法为将小鼠胸主动脉取出,在显微镜下用显微剪纵向将胸主动脉剪开,再用镊子将内皮刮下,收集至EP管中备用。大鼠主动脉内皮细胞(SVAREC细胞)用含10% FBS的低糖DMEM培养基培养。

1.4 统计方法

用软件GraphPad Prism 8.3.0作图,数据表示为mean $\pm$ SEM,采用t检验和单因素方差分析(one-way ANOVA)进行组间比较, $P < 0.05$ 则认为差异具有统计学显著性。

2 结果

2.1 内皮特异性miR-342-5p敲除小鼠运动能力降低

杂交获得内皮特异性miR-342-5p敲除小鼠(KO),基因型

为 (miR-342-5p^{flax/flax}; Cre⁺), 野生型小鼠 (WT), 基因型为 (miR-342-5p^{flax/flax}; Cre⁻), 以及杂合子 (miR-342-5p^{flax/+}; Cre⁺) (图 1A)。内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠内皮细胞 miR-342-5p 和 pre-miR-342-5p 的水平显著降低 (图 1B), 体重显著上升 (图 1C), 而血糖水平 (图 1D)、心率 (图 1E) 和血压 (图 1F) 与野生

型小鼠无明显差别。对小鼠运动能力的检测结果显示内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠抓力 (图 1G) 和运动协调能力 (图 1H) 显著降低。然而, 内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠循环水平的 miR-342-5p 并无显著下降, 表明内皮来源的 miR-342-5p 并不是循环中 miR-342-5p 的主要来源 (图 1I)。

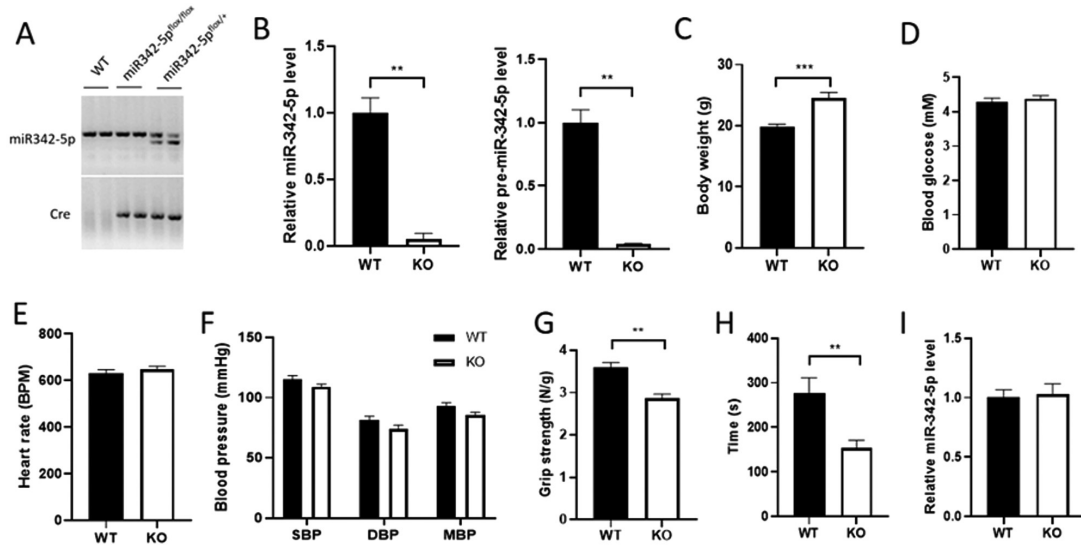


图 1 内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠运动能力降低

Fig.1 Endothelium-specific miR-342-5p knockdown decreased exercise capacity in mice

A. Genotype identification of mouse tail. B. The levels of miR-342-5p and pre-miR-342-5p in endothelial cells in WT and KO mice. B-G. Body weight (C), blood glucose (D), heart rate (E), blood pressure (F), grip strength (G), and motor coordination (H) in WT and KO mice. I. The level of miR-342-5p in circulation in WT and KO mice. n=7, *, $P<0.05$, **, $P<0.01$, ***, $P<0.001$.

2.2 内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠心脏舒张功能紊乱

小鼠心脏功能检测结果显示, 与野生型小鼠相比, 内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠射血分数 (EF, %) 和左心室短轴缩短率 (FS, %) 无明显差异 (图 2A), 而二尖瓣舒张早期 / 晚期血流

速度比值 E/A 降低 (图 2B), 且心脏重量 (图 2C) 和心脏与体重之比 (图 2D) 均无明显差异。以上结果表明内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠心脏舒张功能紊乱。

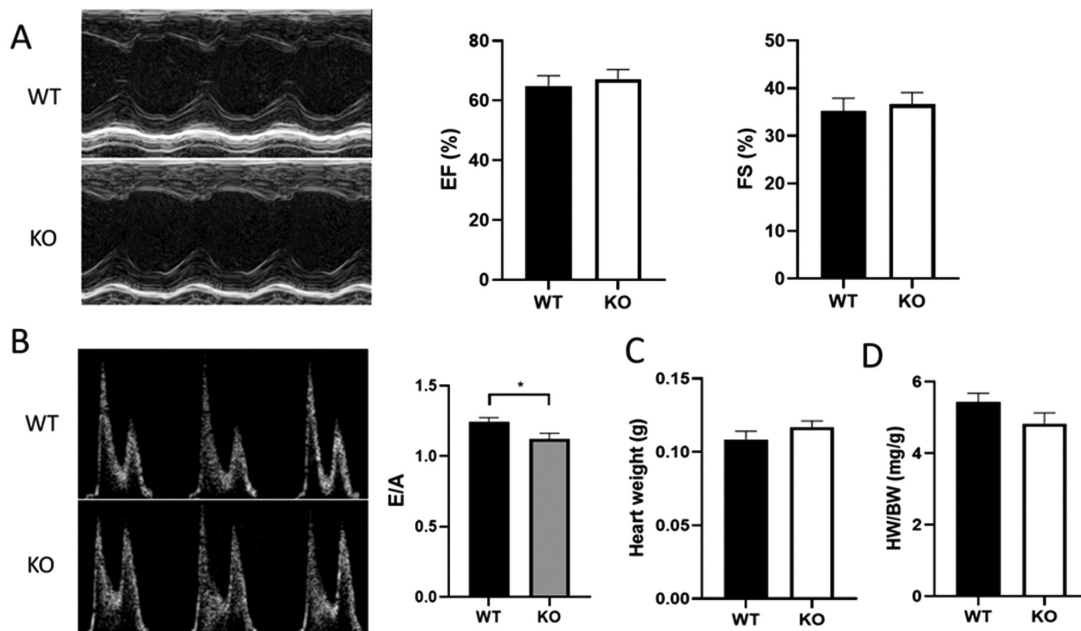


图 2 内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠心脏舒张功能紊乱

Fig.2 Endothelium-specific miR-342-5p knockdown decreased cardiac diastolic function in mice

A. Cardiac systolic function in WT and KO mice. B. Cardiac diastolic function in WT and KO mice. C-D. Heart weight (C) and heart weight to body weight ratio (D) in WT and KO mice. n=6, *, $P<0.05$, **, $P<0.01$, ***, $P<0.001$.

2.3 内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠血管功能紊乱

接下来我们观察了小鼠的血管及其功能, HE 染色结果显示, 内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠血管管壁厚度和血管截面周长明显减小(图 3A-C), 免疫荧光结果显示 miR-342-5p 敲除小鼠心脏中 CD31 表达水平明显降低(图 3D), 提示微血管

密度明显降低, 对小鼠主动脉血管功能的检测结果显示, miR-342-5p 敲除小鼠血管内皮的舒张功能明显降低(图 3E), 而血管平滑肌的舒张功能无明显差别(图 3F)。以上结果表明 miR-342-5p 敲除小鼠血管形态异常、密度下降, 内皮依赖性舒张功能紊乱。

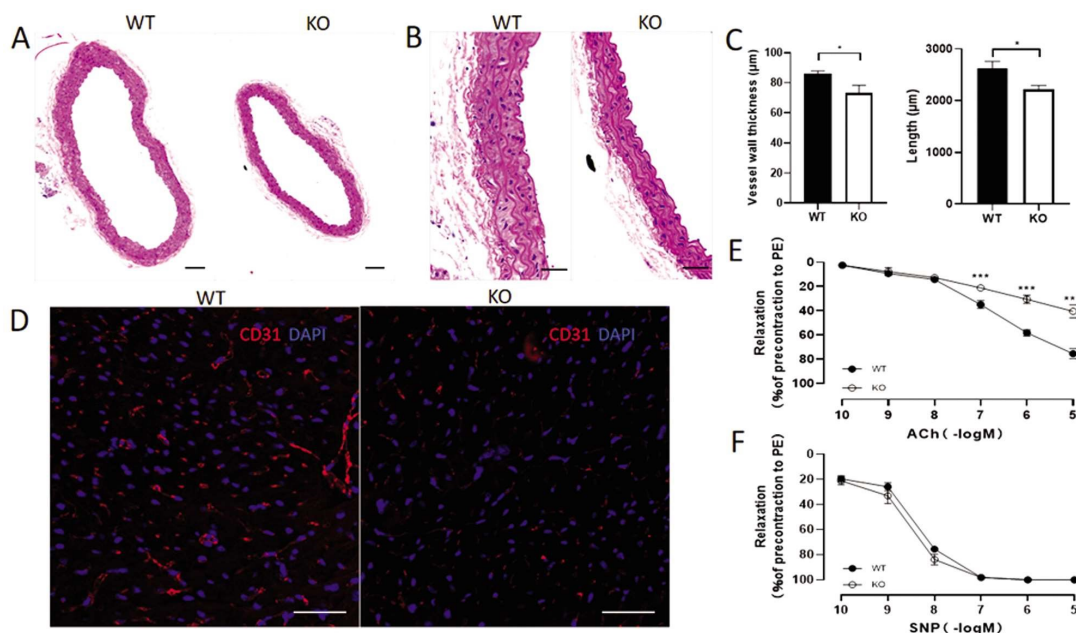


图3 内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠血管功能紊乱

Fig.3 Endothelium-specific miR-342-5p knockdown decreased vascular function in mice

A-B. Typical images of H&E staining in aortas isolated from WT and KO mice. Scale bar, 100 μ m in A and 50 μ m in B. C. Vessel wall thickness and circumference length in aortas isolated from WT and KO mice. D. Typical images of CD31 expression in the heart. E. ACh-induced vasodilation in aortas isolated from WT and KO mice. F. SNP-induced vasodilation in aortas isolated from WT and KO mice. n=6, *, $P<0.05$, **, $P<0.01$, ***, $P<0.001$.

2.4 miR-342-5p 敲低 / 过表达影响内皮细胞凋亡

细胞增殖实验结果显示, 敲低 miR-342-5p 抑制细胞增殖, 过表达 miR-342-5p 促进细胞增殖(图 4A), miR-342-5p 敲低组内皮细胞活力明显低于对照组, miR-342-5p 过表达组明显高于对照组(图 4B), 且 miR-342-5p 敲低后内皮细胞 Caspase9、

Cleaved-caspase9 和 Cleaved-caspase3 水平明显升高, miR-342-5p 过表达后降低(图 4C-F)。以上结果表明 miR-342-5p 敲低诱导凋亡, 导致内皮细胞凋亡增加, miR-342-5p 过表达则抑制内皮细胞凋亡。

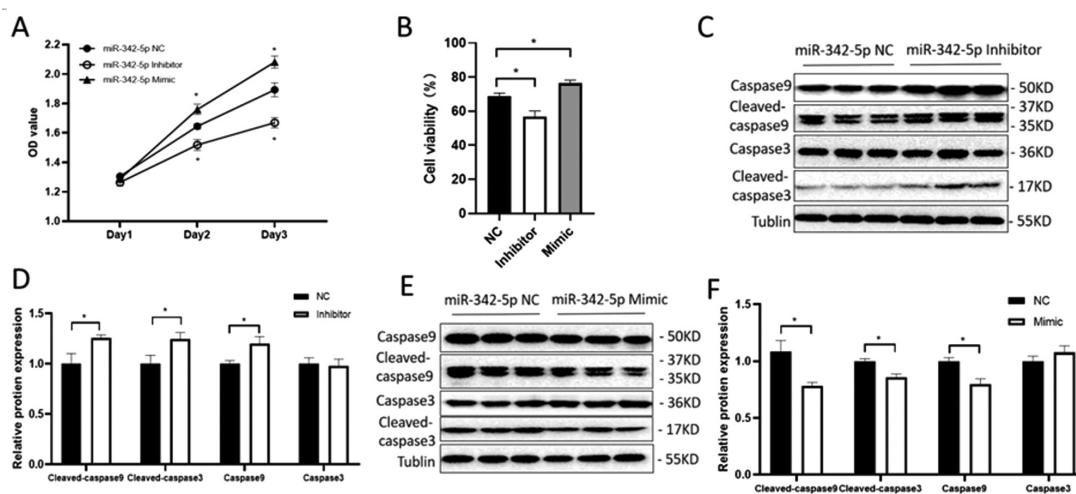


图4 miR-342-5p 敲低 / 过表达影响内皮细胞凋亡

Fig.4 miR-342-5p inhibition/overexpression affected apoptosis in endothelial cells

A. Cell proliferation in endothelial cells with NC or miR-342-5p inhibitor/mimic transfection. B. Cell viability in endothelial cells with NC or miR-342-5p inhibitor/mimic transfection. C-F. Apoptosis-related protein contents in endothelial cells with NC or miR-342-5p inhibitor/mimic transfection. Typical results were shown in C and E, and the quantified results were shown in D and F. n=6, *, $P<0.05$, **, $P<0.01$, ***, $P<0.001$.

3 讨论

我们前期研究发现 miR-342-5p 是长期有氧运动发挥心脏保护作用的关键分子,且内皮细胞是 miR-342-5p 的重要来源^[9]。本研究基于前期研究基础,构建了内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠,探讨内皮来源的 miR-342-5p 在心血管系统发挥的作用及部分机制。主要发现为:内皮来源的 miR-342-5p 敲除引起内皮细胞损伤和凋亡增加,导致小鼠运动能力下降,血管功能紊乱。

心血管疾病是全球范围内影响人类健康的重要因素^[12-14],我国心血管病患病率依旧处于持续上升阶段。大量研究表明,运动具有心血管保护效应^[15-19]。一项基于 55137 名不同年龄段成年人的研究显示,运动使心血管疾病死亡率下降 50%,全因死亡率下降 29%^[20];运动可降低心血管疾病风险,且较高水平的体力活动获益更大^[20]。我们前期研究发现 miR-342-5p 是一种新的具有心血管保护作用的运动因子^[9]。本研究进一步证实了内皮细胞来源的 miR-342-5p 在心血管保护中的重要作用,明确了内皮特异性 miR-342-5p 敲除小鼠运动能力下降,血管功能紊乱等表型,以及 miR-342-5p 敲低对细胞生存率降低和凋亡的促进作用。运动可使机体分泌多种因子,如白介素 -6、鸢尾素等^[22,23],Tarnopolsky 提出了 "运动因子 (exerkine)" 的概念,即运动诱导的、由多组织器官合成后分泌的生物活性物质,包括多肽、miRNA 和代谢产物等^[24,25]。运动能够通过调节运动因子的水平发挥生物学效应,寻找新的运动因子并挖掘其潜在的应用价值已成为国际运动与健康科学研究的重要方向之一^[26,27]。研究表明,miR-342 具有多种生物学功能,如促进破骨细胞前体的细胞存活^[28],通过靶向 ATF3 促进成骨分化^[29],通过调节炎症和细胞死亡来控制结核分枝杆菌的易感性等^[30]。我们研究发现敲低 miR-342-5p 致内皮细胞中 caspase 9、Caspase3 水平增加,引起凋亡增加、内皮细胞活性降低。Caspase9 和 Caspase3 是含半胱氨酸蛋白酶家族成员,是 Caspase 家族中促凋亡关键的成分^[31]。我们前期研究发现 caspase 9 是 miR-342-5p 的靶分子,miR-342-5p 增加能够通过抑制 caspase 的水平发挥抗凋亡的作用,而 miR-342-5p 的敲除或敲低导致 caspase 9 的水平增加,从而促进内皮细胞凋亡和功能紊乱。这些研究进一步证实了 miR-342-5p 在心血管功能调控中具有重要作用。

综上所述,内皮特异性 miR-342-5p 敲除致小鼠心血管功能紊乱,其机制与内皮细胞损伤相关,提示了内皮细胞中 miR-342-5p 的重要心血管保护作用,为运动因子裨益心血管健康以及心血管保护性药物的开发提供了实验基础。但由于机体的复杂性和生物活性物质之间作用的未知性,miR-342-5p 对心血管保护作用的机制仍需进一步探索。

参考文献(References)

- [1] Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association[J]. Circulation, 2021, 143(8): e254-e743
- [2] Calvert JW, Condit ME, Aragón JP, et al. Exercise protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via stimulation of $\beta(3)$ -adren-ergic receptors and increased nitric oxide signaling: role of nitrite and nitrosothiols[J]. Circulation research, 2011, 108(12): 1448-1458
- [3] Koay YC, Stanton K, Kienle V, et al. Effect of chronic exercise in healthy young male adults: a metabolomic analysis[J]. Cardiovascular research, 2021, 117(2): 613-622
- [4] Bei Y, Das S, Rodosthenous R S, et al. Extracellular Vesicles in Cardiovascular Theranostics [J]. THERANOSTICS, 2017, 7 (17): 4168-4182
- [5] Whitham M, Parker BL, Friedrichsen M, et al. Extracellular Vesicles Provide a Means for Tissue Crosstalk during Exercise [J]. Cell metabolism, 2018, 27(1): 237-251
- [6] Pankaj C, Anuradha K, Ilza M, et al. Cardiosome mediated regulation of MMP9 in diabetic heart: role of mir29b and mir455 in exercise[J]. Journal of cellular and molecular medicine, 2015, 19(9): 2153-2161
- [7] Escate R, Padró T, Suades R, et al. High miR-133a levels in the circulation anticipates presentation of clinical events in familial hypercholesterolaemia patients [J]. Cardiovascular research, 2021, 117(1): 109-122
- [8] Batkai S, Genschel C, Viereck J, et al. CDR132L improves systolic and diastolic function in a large animal model of chronic heart failure [J].European heart journal, 2021, 42(2): 192-201
- [9] Hou Z, Qin X, Hu Y, et al. Longterm Exercise-Derived Exosomal miR-342-5p[J]. Circulation Research, 2019, 124(9): 1386-1400
- [10] Whitham M, Parker B L, Friedrichsen M, et al. Extracellular Vesicles Provide a Means for Tissue Crosstalk during Exercise [J]. CELL METABOLISM, 2018, 27(1): 237
- [11] Bellantuono I, de Cabo R, Ehninger D, et al. A toolbox for the longitudinal assessment of healthspan in aging mice [J]. Nature Protocols, 2020, 15(2): 540-574
- [12] Pagidipati N J, Gaziano T A. Estimating Deaths From Cardiovascular Disease: A Review of Global Methodologies of Mortality Measurement[J]. Circulation, 2013, 127(6): 749-756
- [13] Antonio P, Sanjay S, Sabiha G, et al. 2020 ESC Guidelines on Sports Cardiology and Exercise in Patients with Cardiovascular Disease[J]. Revista espanola de cardiologia (English ed.), 2021, 74(6): 545
- [14] 靳淑静, 王同敏, 任玲, 等. 铜在心血管系统中的有益作用[J].现代生物医学进展, 2018, 18(16): 3196-3200
- [15] Fletcher GF, Ades PA, Kligfield P, et al. Exercise standards for testing and training: a scientific statement from the American Heart Association[J]. Circulation, 2013, 128(8): 873-934
- [16] Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine - evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases [J]. Scandinavian journal of medicine & science in sports, 2015, suppl 3: 1-72
- [17] Fiuza LC, Santos LA, Joyner M, et al. Exercise benefits in cardiovascular disease: beyond attenuation of traditional risk factors[J]. Nature reviews. Cardiology, 2018, 15(12): 731-743
- [18] Lavie, Carl J, Ozemek C, et al. Sedentary Behavior, Exercise, and Cardiovascular Health[J]. Circulation research, 2019, 124(5): 799-815
- [19] 米琼瑶, 曹阳, 杨坚, 等. 生物标志物对心血管疾病患者运动训练的评估价值[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(35): 6997-7000
- [20] Lee DC, Pate RR, Lavie CJ, et al. Leisure-time running reduces all-cause and cardiovascular mortality risk [J]. Journal of the American College of Cardiology, 2014, 64(5): 472-481 (下转第 1449 页)

Suppl 2(Suppl 2): 84-105

- [21] Borecka A, Bielawska-Dr zd A, Skotarczak B, et al. Acanthamoeba - pathogen and vector of highly pathogenic bacteria strains to healthy and immunocompromised individuals[J]. Cent Eur J Immunol, 2020, 45(2): 228-232
- [22] Fleiszig S M J, Kroken A R, Nieto V, et al. Contact lens-related corneal infection: Intrinsic resistance and its compromise [J]. Prog Retin Eye Res, 2020, 76(9): 100804
- [23] Yan C, Luo Z, Li W, et al. Disturbed Yin-Yang balance: stress increases the susceptibility to primary and recurrent infections of herpes simplex virus type 1[J]. Acta Pharm Sin B, 2020, 10(3): 383-398
- [24] Hamilton M, Stock R A, Lazzari S L T, et al. Surgical debridement of corneal shield ulcers in pediatric patients: two case reports and a review of the literature [J]. BMJ Open Diabetes Res Care, 2020, 14(1): 70-78
- [25] Jonas R A, Ung L, Rajaiya J, et al. Mystery eye: Human adenovirus and the enigma of epidemic keratoconjunctivitis[J]. Microorganisms, 2020, 76(12): 100826-100833
- [26] Moshirfar M, Somani S N, Shmunes K M, et al. A Narrative Review of Microsporidial Infections of the Cornea [J]. Ophthalmol Ther, 2020, 9(2): 265-278
- [27] Nominato L F, Dias L C, Fantucci M Z, et al. Pathophysiological roles and therapeutic potential of voltage-gated ion channels (VGICs) in pain associated with herpesvirus infection [J]. Arq Bras Oftalmol, 2020, 10(9): 70-77
- [28] Jurkov M, Olze H, Klauschen F, et al. IgG4-Related Orbitopathy as an Important Differential Diagnosis of Advanced Silent Sinus Syndrome[J]. German version Hno, 2020, 68(11): 864-868
- [29] Mead O G, Tighe S, Tseng S C G. Amniotic membrane transplantation for managing dry eye and neurotrophic keratitis [J]. Taiwan J Ophthalmol, 2020, 10(1): 13-21
- [30] Nowik K E, Wylegała A, Nowik K, et al. A single-centre retrospective observational study of fungal keratitis in Poland with a review of findings in Europe[J]. J Ophthalmol, 2020, 27(3): 343-347
- [31] Ouyang X, Yang J, Hong Z, et al. Mechanisms of blue light-induced eye hazard and protective measures: a review [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 130(12): 110577
- [32] Pandey M. Advancement on Sustained Antiviral Ocular Drug Delivery for Herpes Simplex Virus Keratitis: Recent Update on Potential Investigation[J]. Cells, 2020, 13(1): 114-118
- [33] Rodriguez-Garcia A, Alfaro-Rangel R, Bustamante-Arias A, et al. In Vivo Corneal Microstructural Changes in Herpetic Stromal Keratitis: A Spectral Domain Optical Coherence Tomography Analysis [J]. J Ophthalmic Vis Res, 2020, 15(3): 279-288
- [34] Pellegrini F, Interlandi E, Cuna A, et al. Corneal Involvement in Wallenberg Syndrome: Case Report and Literature Review[J]. Neuroophthalmology, 2020, 44(1): 54-58

(上接第 1412 页)

- [21] Ramakrishnan R, Doherty A, Smith-Byrne K, et al. Accelerometer measured physical activity and the incidence of cardiovascular disease: Evidence from the UK Biobank cohort study[J]. PLoS medicine, 2021, 18(1): e1003487
- [22] Fiuza-Luces C, Garatachea N, Berger N A, et al. Exercise is the Real Polypill[J]. Physiology, 2013, 28(5): 330-358
- [23] Hawley J, Hargreaves M, Joyner M, et al. Integrative Biology of Exercise[J]. Cell, 2014, 159(4): 738-749
- [24] Adeel, Safdar, Mark, et al. Exosomes as Mediators of the Systemic Adaptations to Endurance Exercise [J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 2017, 8(3): a029827
- [25] Safdar A, Saleem A, Tarnopolsky M A. The potential of endurance exercise-derived exosomes to treat metabolic diseases [J]. Nature Reviews Endocrinology, 2016, 12(9): 504-517
- [26] Son JS, Zhao L, Chen Y, et al. Maternal exercise via exerkine apelin enhances brown adipogenesis and prevents metabolic dysfunction in offspring mice[J]. Science advances, 2020, 6(16): z359
- [27] Claire V, Laura L, Aurelie B, et al. The exerkine apelin reverses age-associated sarcopenia [J]. Nature medicine, 2018, 24 (9): 1360-1371
- [28] Lozano C, Estibals V, Duroux-Richard I, et al. P066 miR-342-3p promotes cell survival and motility of osteoclast precursors [C]. France: Annals of the Rheumatic Diseases, 2019, 78(Suppl 1): A27.3-A28
- [29] Han Y, Zhang K, Hong Y, et al. miR-342-3p promotes osteogenic differentiation via targeting ATF3 [J]. FEBS letters, 2018, 592(24): 4051-4065
- [30] Fu B, Lin X, Tan S, et al. MiR-342 controls Mycobacterium tuberculosis susceptibility by modulating inflammation and cell death [J]. EMBO reports, 2021, 22(9): e52252
- [31] Kuida K. Caspase-9 [J]. International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2000, 32(2): 121-124