

长链非编码RNA-NRON对小鼠心肌梗死后细胞凋亡的作用机制研究

高涵,张春晶,李淑艳,师岩,郭红艳,杨超

(齐齐哈尔医学院医学技术学院生物化学教研室,黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘要 目的 探讨长链非编码RNA(lncRNA)-NRON对小鼠心肌梗死(MI)后细胞凋亡的影响。方法 将C57BL/6小鼠随机分为假手术(Sham)组、MI组、MI合并注入lncRNA-NRON干扰慢病毒(MI+shNRON)组和MI合并注入NC阴性对照慢病毒(MI+NC)组。采用实时PCR检测lncRNA-NRON的表达;用HE染色、TTC染色、TUNEL染色检测心肌组织病理损伤、MI面积、细胞凋亡情况;用RPIseq数据库预测lncRNA-NRON与电压依赖性阴离子通道蛋白(VDAC)的互作概率;用Western blotting检测lncRNA-NRON对VDAC蛋白表达的影响。结果 lncRNA-NRON在MI组表达显著升高,特异性敲减lncRNA-NRON后,可减轻心肌组织病理损伤,减少MI面积,抑制细胞凋亡,lncRNA-NRON与VDAC的互作概率高达0.9,且lncRNA-NRON可调控VDAC的蛋白表达。结论 敲减lncRNA-NRON可抑制MI后心肌损伤的发生,其机制可能是通过lncRNA-NRON与VDAC结合并抑制其表达,从而影响细胞凋亡进程。

关键词 长链非编码RNA-NRON; 心肌梗死; 电压依赖性阴离子通道蛋白; 细胞凋亡

中图分类号 R542.2 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2024)03-0218-06

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20240229.1550.002>

DOI:10.12007/j.issn.0258-4646.2024.03.005

Effects of long noncoding RNA-NRON on apoptosis following myocardial infarction in mice

GAO Han, ZHANG Chunjing, LI Shuyan, SHI Yan, GUO Hongyan, YANG Chao

(Department of Biochemistry, College of Medical Technology, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China)

Abstract Objective To investigate the effects of long noncoding RNA (lncRNA)-NRON on apoptosis following myocardial infarction (MI) in mice. **Methods** The C57BL/6 mice were randomly divided into four groups: sham operation (Sham) group, MI group, MI combined with lncRNA-NRON interference lentivirus (MI+shNRON) group, and MI combined with the negative control (NC) lentivirus (MI+NC) group. The expression of lncRNA-NRON was detected using real-time PCR. In addition, the pathology of the myocardial tissue injury was analyzed using HE staining, the myocardial infarction size was examined using TTC staining, and the extent of apoptosis was assessed using the TUNEL assay, respectively. The RPIseq database was used to predict the probability of interaction between lncRNA-NRON and the voltage-dependent anionic channel protein (VDAC). The effect of lncRNA-NRON on the expression of VDAC protein was detected using Western blotting. **Results** The lncRNA-NRON expression was significantly increased in the MI group, and the targeted knockdown of lncRNA-NRON resulted in alleviation of the pathological myocardial tissue injury, reduction in the myocardial infarction area, and inhibition of apoptosis. The probability of interaction between lncRNA-NRON and VDAC reached 0.9, indicating a high probability of their association. Additionally, lncRNA-NRON could regulate the protein expression of VDAC. **Conclusion** Knockdown of lncRNA-NRON could reduce the occurrence of myocardial injury following myocardial infarction. This effect may be attributable to a specific mechanism wherein lncRNA-NRON affects the process of apoptosis by binding to VDAC, consequently suppressing its expression.

Keywords long noncoding RNA-NRON; myocardial infarction; voltage dependent anion channel; apoptosis

基金项目 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费项目(2023-KYY WF-0860);黑龙江省卫生健康委医药卫生科研课题(2021 0202020361);齐齐哈尔医学科学院项目(QMSI2020B-04);齐齐哈尔医学科学院重点培育项目(2022-ZDPY-011);齐齐哈尔市科技计划联合引导项目(LSFGG-2022057)

作者简介 高涵(1978-),女,副教授,硕士。

通信作者 杨超, E-mail: 84900369@qq.com

收稿日期 2023-04-17

网络出版时间 2024-03-04 16:00:36

心肌梗死(myocardial infarction, MI)是一种高发病率、高致死率的心血管疾病^[1]。大量心肌细胞因缺血缺氧导致凋亡而丢失,是引起MI后心肌重构、心力衰竭及死亡的根本原因^[2-3]。因此,抑制心肌细胞凋亡是治疗MI的重要策略。

电压依赖性阴离子通道蛋白(voltage dependent anion channel, VDAC)是位于线粒体外膜上的通道蛋白,可通过多种机制影响细胞凋亡进程^[4]。VDAC

的表达异常可导致多种疾病的发生,如癌症、阿尔茨海默病等^[5]。长链非编码RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 广泛参与细胞凋亡、信号传导、增殖、分化等重要生物学进程,在心血管疾病的发生发展中具有重要意义^[6-7]。lncRNA-NRON是活化T细胞核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT)的非编码RNA抑制物^[8]。研究表明,lncRNA-NRON可通过抑制由心房肌细胞激活的M1巨噬细胞减轻心房纤维化^[9],在心衰患者血浆中高表达^[10],还可促进小鼠心肌肥厚的发生发展^[11],但其在MI中的作用尚不明确。本研究拟通过构建MI小鼠动物模型,检测lncRNA-NRON对小鼠MI后细胞凋亡的影响及其与VDAC的调控关系,旨在为MI机制的研究和治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

1.1.1 实验动物及MI模型建立: C57BL/6成年雄性小鼠40只,体质量20~25 g,由辽宁长生生物技术股份有限公司提供。小鼠适应性饲养1周,腹腔麻醉(阿弗汀0.2 g/kg)后固定,气管插管连呼吸机。在小鼠头部向下第2和第3肋骨间打开胸腔,暴露心脏,用7-0结扎线结扎左心耳下方1~2 mm处(冠状动脉左前降支位置)心室肌。观察心电图出现ST段抬高,则表明结扎位置正确,MI模型建立成功。本研究获得齐齐哈尔医学院实验动物伦理委员会批准,所有操作均按照相关指南执行。

1.1.2 分组和预处理: 将40只小鼠随机分成假手

术(Sham)组、MI组、MI+注入lncRNA-NRON干扰慢病毒(MI+shNRON)组、MI+注入阴性对照慢病毒(MI+NC)组4组,每组10只。Sham组仅开胸不结扎,MI组仅制备MI模型,MI+shNRON组/MI+NC组先给予小鼠心室壁点注射敲减lncRNA-NRON慢病毒/阴性对照慢病毒后,再制备MI模型。所有小鼠标准饲养7 d后麻醉处死,取出心脏,切取左心室MI边缘区缺血组织,置于-80 °C冻存。

1.2 方法

1.2.1 HE染色: 用生理盐水冲洗心脏,4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,切片(厚5 μm),HE染色。在光学显微镜下观察心肌组织病理损伤变化。

1.2.2 TTC染色: 迅速取出心脏,洗净后于-80 °C冷冻10 min,取出后自心尖向结扎线方向切成5片,浸入2%TTC溶液,37 °C孵育15 min,梗死区染为白色,非梗死区染为深红色。用Image J软件计算梗死百分比(%)=梗死区面积/(梗死区面积+非梗死区面积)×100。

1.2.3 TUNEL染色: 将心肌组织冰冻切片置于4%多聚甲醛中固定,PBS漂洗3次后,用0.1% Triton X-100穿透组织,按照TUNEL试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)说明书染色,用DAPI染细胞核,置于荧光显微镜下观察及拍摄。计算凋亡率(%)=凋亡细胞数/总细胞数×100。

1.2.4 实时PCR检测lncRNA-NRON表达水平: TRIzol法提取心肌组织总RNA,按照试剂盒(日本TOYOBO公司)说明书逆转录cDNA,采用SYBR Green法进行实时定量PCR检测。 β -actin做内参照。引物序列见表1。

表1 实时定量PCR引物序列
Tab.1 Primer sequences for real-time PCR

Gene	Forward	Reverse
NRON	5'-CAAATCCAGTTGCAAGGACC-3'	5'-AGCTCAGTCCTAGGGTAGG-3'
β -actin	5'-CCACTGCCGCATCTCTT-3'	5'-GGTCTTTACGGATGTCAACG-3'

1.2.5 RPIseq数据库预测lncRNA-NRON与VDAC之间的相互作用关系: RPIseq (<http://pridb.gdcb.iastate.edu/RPIseq/>) 数据库^[12-13]是一个根据RNA和蛋白质的序列,采用随机森林和支持向量机2种算法对RNA和蛋白质的相互作用进行预测的软件。计算结果为2种算法得出的互作概率,>0.5为阳性结果,即

二者可能存在相互作用关系。

1.2.6 Western blotting: 取适量心肌组织,用手术剪剪碎,加入RIPA裂解液提取总蛋白,BCA法检测蛋白浓度,SDS-PAGE电泳分离蛋白,转膜,封闭,孵育(caspase-3、Bax、Bcl-2、VDAC、 β -actin)一抗、二抗,ECL显色,应用Image J软件分析蛋白条带灰度值。

1.3 统计学分析

采用GraphPad Prism 7.0软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组比较采用独立样本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 MI小鼠模型建立成功

采用冠状动脉左前降支结扎法构建小鼠MI模型,观察心电图,与Sham组相比,MI组ST段抬高呈弓背向上型,表明MI小鼠模型建立成功。见图1。

2.2 各组lncRNA-NRON表达水平

构建lncRNA-NRON慢病毒干扰载体,采用主动动脉夹闭法将病毒载体注入小鼠左心室腔内,同时

结扎冠状动脉左前降支。1周后,实时PCR检测各组小鼠心肌组织中lncRNA-NRON表达水平。结果显示,与Sham组(1.00 ± 0.10)相比,MI组(2.66 ± 1.06)lncRNA-NRON表达显著升高;与MI组相比,MI+shN-RON组(1.15 ± 0.45)lncRNA-NRON表达下降,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。MI+NC组(2.57 ± 0.31)与MI组比较,差异无统计学意义。

2.3 各组小鼠心肌组织病理损伤情况

HE染色检测各组小鼠心肌组织病理学改变情况,结果显示,Sham组心肌细胞排列整齐,结构清晰,MI组心肌炎症细胞浸润明显,间质充血严重,MI+shN-RON组心肌组织病理损伤较MI组明显减轻,MI+NC组与MI组相比则无明显改善。见图2。

2.4 各组小鼠MI面积比较

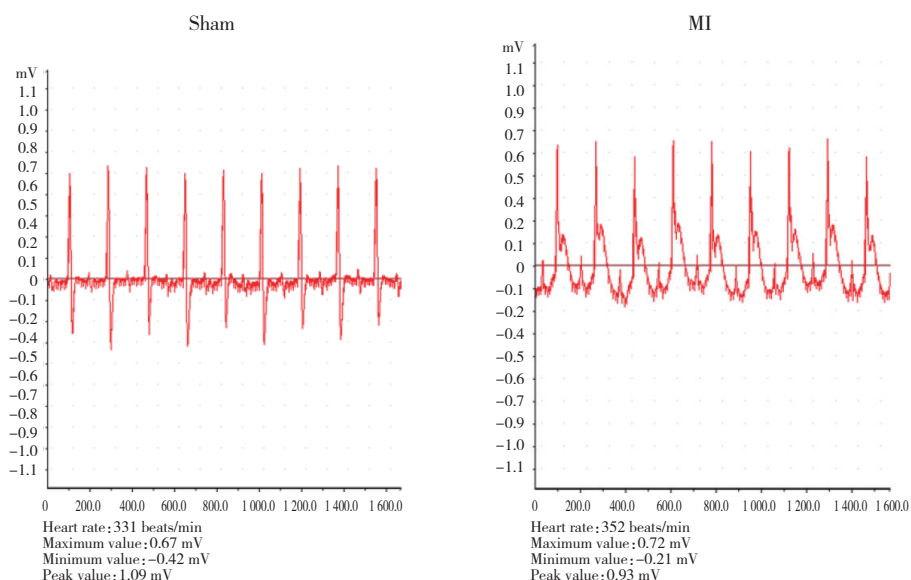


图1 MI小鼠建模后心电图ST段抬高

Fig.1 ECG showed ST segment elevation after myocardial infarction

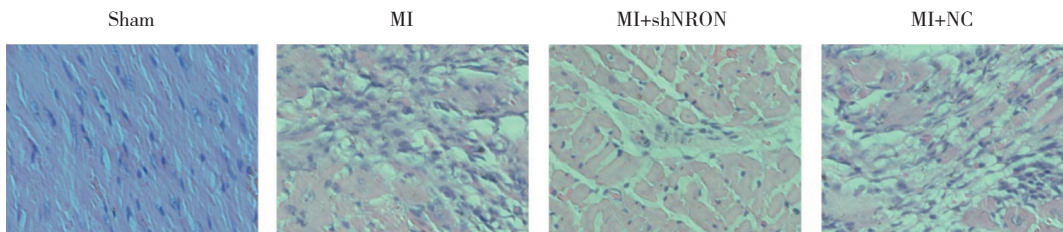


图2 HE染色检测各组心肌组织病理损伤 ×200

Fig.2 HE staining was used to examine pathological changes in myocardial tissue ×200

TTC染色检测各组心肌的梗死百分比,结果显示,MI组梗死百分比[(34.62 ± 1.82)%]较Sham组

[(0 ± 0)%]显著升高,与MI组相比,MI+shN-RON组梗死百分比[(24.50 ± 2.24)%]显著下降,差异均有

统计学意义(均 $P < 0.05$)。MI+NC组[(33.73 ± 2.34)%]与MI组比较无显著差异。

2.5 各组小鼠心肌细胞凋亡情况

TUNEL实验检测各组心肌细胞凋亡情况,结果显示,与Sham组相比,MI组可明显检测到凋亡信号,与MI组相比,MI+shNRON组凋亡信号下降,MI+NC

组则无明显变化(图3)。进一步计算凋亡率显示,MI组凋亡率[(35.12 ± 3.86)%]高于Sham组[(2.12 ± 1.23)%],MI+shNRON组凋亡率[(19.34 ± 3.15)%]低于MI组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),而MI+NC组凋亡率[(31.92 ± 3.44)%]与MI组相比,无统计学差异。

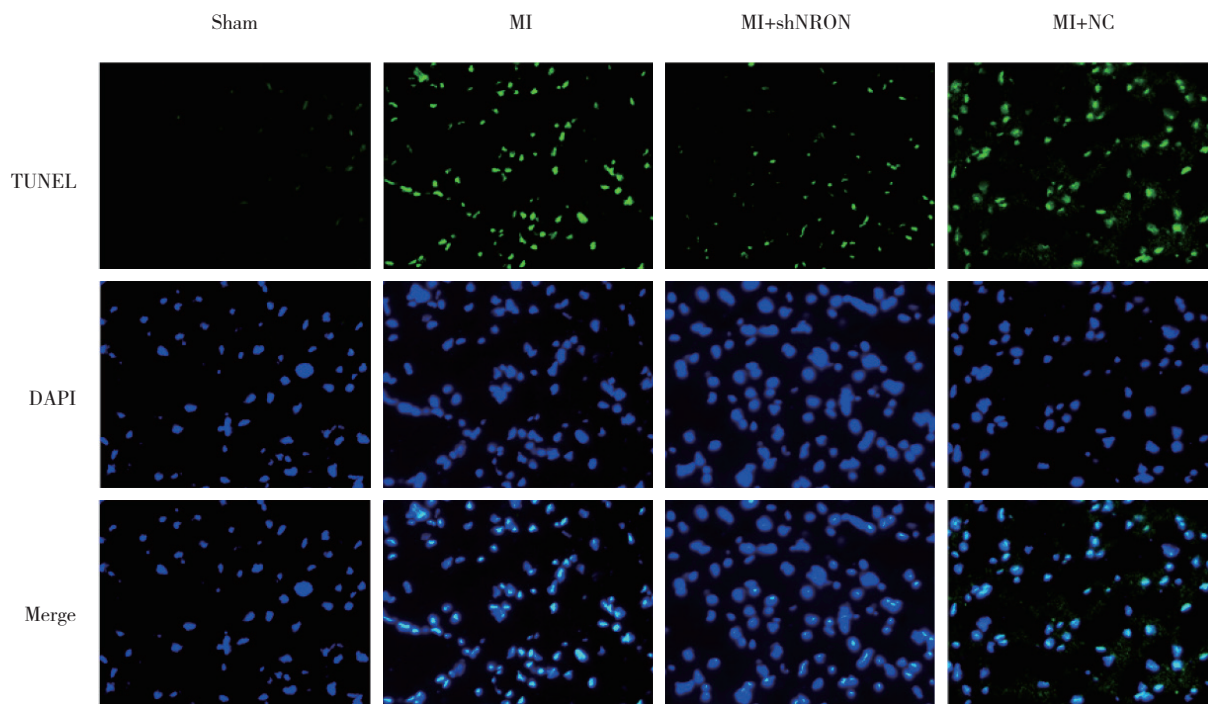


图3 TUNEL染色检测各组心肌细胞凋亡情况 ×200

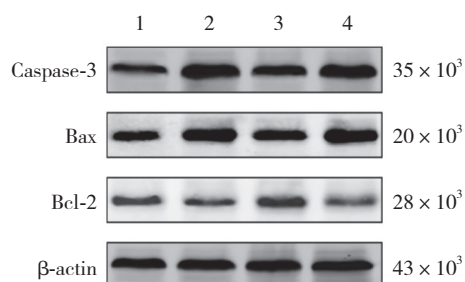
Fig.3 Apoptosis of myocardial cells in each group was detected with TUNEL ×200

2.6 各组小鼠心肌组织凋亡相关蛋白表达情况

Western blotting结果显示,与Sham组相比,MI组促凋亡因子caspase-3(1.69 ± 0.37)、Bax(1.92 ± 0.41)蛋白表达水平升高,抑制凋亡因子Bcl-2(0.61 ± 0.11)蛋白表达水平下降;与MI组相比,MI+shNRON组caspase-3(1.13 ± 0.04)、Bax(1.28 ± 0.12)蛋白表达水平下降,Bcl-2(1.00 ± 0.13)蛋白表达水平升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。MI+NC组caspase-3(1.60 ± 0.16)、Bax(1.95 ± 0.21)及Bcl-2(0.61 ± 0.15)蛋白表达水平与MI组比较无统计学差异。见图4。

2.7 lncRNA-NRON调控VDAC表达水平

用RPIseq数据库预测lncRNA-NRON与VDAC之间的相互作用,结果显示,根据支持向量机算法获得互作概率为0.96,表明lncRNA-NRON与VDAC之



1, Sham group; 2, MI group; 3, MI+shNRON group; 4, MI+NC group.

图4 Western blotting检测各组凋亡相关蛋白表达情况

Fig.4 The expression of apoptosis-related proteins in each group was detected with Western blotting

间有非常大可能性存在互作关系。进一步在MI模型中检测敲减lncRNA-NRON对VDAC表达的影响,结果表明,与Sham组(1.00 ± 0.00)相比,MI组VDAC蛋

白表达(1.67 ± 0.19)显著升高,MI+shNRON组VDAC蛋白表达水平(1.10 ± 0.05)较MI组显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。MI+NC组(1.61 ± 0.11)与MI组比较无统计学差异。提示lncRNA-NRON可调控VDAC蛋白的表达。见图5。

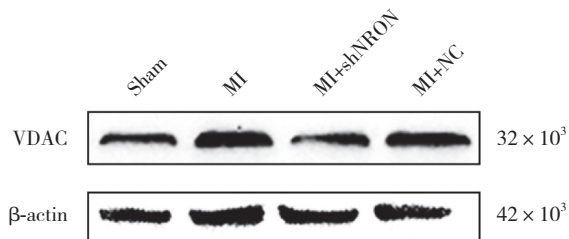


图5 敲减lncRNA-NRON对MI小鼠心肌组织中VDAC蛋白表达的影响

Fig.5 Effects of lncRNA-NRON knockdown on the expression of VDAC in myocardium of MI mice

3 讨论

MI发病急,进展快,致死率高,可并发心律失常、心力衰竭等。研究表明,lncRNA可通过调控细胞凋亡、增殖、自噬等多种进程参与MI发生。如lncRNA-CAIF通过靶向抑制P53,干扰心肌蛋白转录,从而抑制自噬、缓解MI^[14]。NFAT是细胞内重要的转录因子,参与癌症、心血管疾病、糖尿病等多种疾病的发生^[15]。lncRNA-NRON是NFAT的非编码阻遏物,可作为RNA-蛋白复合物的细胞质支架,调节NFAT在T细胞中的定位和活性^[16]。目前关于lncRNA-NRON的研究多集中于癌症,如XIONG等^[17]发现,lncRNA-NRON在膀胱癌组织和细胞中显著高表达,敲低lncRNA-NRON可抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移、侵袭和成瘤能力。GUO等^[18]研究发现,lncRNA-NRON通过增强E3连接酶MDM2对肿瘤抑制底物的活性促进肿瘤发生,且与乳腺癌患者的不良预后显著相关。lncRNA-NRON还可抑制上皮细胞向间质细胞转化过程,从而影响肝癌细胞的生长和转移^[19]。lncRNA-NRON在心脏疾病中的研究相对较少,XUAN等^[10]检测了72例心力衰竭患者和60例非心力衰竭对照者血浆中13个与心血管相关的lncRNA的表达水平,发现lncRNA-NRON在心力衰竭患者的血浆样本中呈显著高表达,可能成为预测心力衰竭的新型生物标志物。HOEPFNER等^[11]最新发现,心肌细胞特异性过表达lncRNA-NRON可促

进主动脉缩窄诱导的心肌肥大,而心肌细胞特异性敲除lncRNA-NRON则显示出抗心肌肥大的作用。

本研究首次探讨了lncRNA-NRON在MI中的作用及其对细胞凋亡的影响。首先成功构建了MI小鼠模型,检测发现lncRNA-NRON在MI小鼠心肌组织中表达显著升高。然后,构建敲减lncRNA-NRON慢病毒,注入小鼠心室肌后再构建MI模型,检测发现lncRNA-NRON的表达与MI组相比显著下降,证实敲减lncRNA-NRON成功。HE染色结果显示,敲减lncRNA-NRON可明显改善心肌组织病理损伤,减少炎症细胞浸润。TTC染色表明,敲减lncRNA-NRON可有效减少MI小鼠梗死面积。以上均提示敲减lncRNA-NRON可改善MI小鼠心肌损伤,发挥心肌保护作用。MI后心肌细胞缺血缺氧发生细胞凋亡,可进一步加剧心肌损伤,因此抑制细胞凋亡是改善MI的重要策略,本研究中,TUNEL及Western blotting结果均证实敲减lncRNA-NRON后可显著降低心肌细胞凋亡率,抑制凋亡相关基因caspase-3及Bax的表达,表明敲减lncRNA-NRON可有效抑制MI后细胞凋亡的发生,减轻心肌损伤。VDAC是线粒体外膜上分子或离子交换的出入通道,VDAC通道开放可促进钙离子内流,线粒体肿胀、通透性增加,启动细胞凋亡进程。研究^[20]显示,VDAC表达上调在缺血性心脏病中发挥重要作用,VDAC过表达可通过激活线粒体凋亡加重心肌损伤,抑制丹参酮对缺氧心肌的保护作用。敲低VDAC可增强miR-7a-5p对缺氧/复氧诱导的细胞损伤的保护作用^[21]。本研究首次探讨了lncRNA-NRON对VDAC的调控作用,通过RPIseq数据库预测出lncRNA-NRON与VDAC之间的互作概率高达0.96,进一步检测发现,VDAC在小鼠MI模型中的表达显著升高,而敲减lncRNA-NRON后可有效逆转这一现象,以上结果表明lncRNA-NRON可能是通过与VDAC结合并下调其表达抑制细胞凋亡的发生,从而发挥心肌保护作用。

综上所述,本研究首次发现lncRNA-NRON在小鼠MI模型心肌中表达显著上调,敲减lncRNA-NRON可减轻心肌组织病理损伤,减小MI面积,抑制MI后细胞凋亡,发挥心肌保护作用。其具体机制可能是lncRNA-NRON通过与VDAC结合并抑制其表达,影响细胞凋亡进程相关。本研究为预防和治疗MI后心力衰竭提供了新的证据。

参考文献:

- [1] REED GW, ROSSI JE, CANNON CP. Acute myocardial infarction [J]. *Lancet*, 2017, 389 (10065): 197-210. DOI: 10.1016/S0140-6736 (16) 30677-8.
- [2] FAROKHIAN A, RAJABI A, SHEIDA A, et al. Apoptosis and myocardial infarction: role of ncRNAs and exosomal ncRNAs [J]. *Epi-genomics*, 2023, 15 (5): 307-334. DOI: 10.2217/epi-2022-0451.
- [3] GABRIEL-COSTA D. The pathophysiology of myocardial infarction-induced heart failure [J]. *Pathophysiology*, 2018, 25 (4): 277-284. DOI: 10.1016/j.pathophys.2018.04.003.
- [4] ROSENCRANS WM, RAJENDRAN M, BEZRUKOV SM, et al. VDAC regulation of mitochondrial calcium flux: from channel biophysics to disease [J]. *Cell Calcium*, 2021, 94: 102356. DOI: 10.1016/j.ceca.2021.102356.
- [5] SHOSHAN-BARMATZ V, SHTEINFER-KUZMINE A, VERMA A. VDAC1 at the intersection of cell metabolism, apoptosis, and diseases [J]. *Biomolecules*, 2020, 10 (11): 1485. DOI: 10.3390/biom10111485.
- [6] BAI XE, YANG C, JIAO L, et al. LncRNA MIAT impairs cardiac contractile function by acting on mitochondrial translocator protein TSPO in a mouse model of myocardial infarction [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 172. DOI: 10.1038/s41392-021-00538-y.
- [7] JIANG YA, YANG Y, ZHANG Y, et al. Cytoplasmic sequestration of p53 by lncRNA-CIRPIL alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Commun Biol*, 2022, 5: 716. DOI: 10.1038/s42003-022-03651-y.
- [8] WILLINGHAM AT, ORTH AP, BATALOV S, et al. A strategy for probing the function of noncoding RNAs finds a repressor of NFAT [J]. *Science*, 2005, 309 (5740): 1570-1573. DOI: 10.1126/science.1115901.
- [9] SUN F, GUO ZX, ZHANG CX, et al. LncRNA NRON alleviates atrial fibrosis through suppression of M1 macrophages activated by atrial myocytes [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39 (11): BSR20192215. DOI: 10.1042/bsr20192215.
- [10] XUAN LN, SUN LH, ZHANG Y, et al. Circulating long non-coding RNAs NRON and MHRT as novel predictive biomarkers of heart failure [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21 (9): 1803-1814. DOI: 10.1111/jcmm.13101.
- [11] HOEPFNER J, LEONARDY J, LU DC, et al. The long non-coding RNA NRON promotes the development of cardiac hypertrophy in the murine heart [J]. *Mol Ther*, 2022, 30 (3): 1265-1274. DOI: 10.1016/j.yimthe.2021.11.018.
- [12] MUPPIRALA UK, HONAVAR VG, DOBBS D. Predicting RNA-protein interactions using only sequence information [J]. *BMC Bioinform*, 2011, 12 (1): 1-11. DOI: 10.1186/1471-2105-12-489.
- [13] MUPPIRALA UK. Computational tools for investigating RNA-protein interaction partners [J]. *J Comput Sci Syst Biol*, 2013, 6 (4): 182-187. DOI: 10.4172/jcsb.1000115.
- [14] LIU CY, ZHANG YH, LI RB, et al. LncRNA CAIF inhibits autophagy and attenuates myocardial infarction by blocking p53-mediated myocardial transcription [J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 29. DOI: 10.1038/s41467-017-02280-y.
- [15] PAN MG, XIONG Y, CHEN F. NFAT gene family in inflammation and cancer [J]. *Curr Mol Med*, 2013, 13 (4): 543-554. DOI: 10.2174/1566524011313040007.
- [16] SHARMA S, FINDLAY GM, BANDUKWALA HS, et al. Dephosphorylation of the nuclear factor of activated T cells (NFAT) transcription factor is regulated by an RNA-protein scaffold complex [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108 (28): 11381-11386. DOI: 10.1073/pnas.1019711108.
- [17] XIONG TF, HUANG CC, LI JF, et al. LncRNA NRON promotes the proliferation, metastasis and EMT process in bladder cancer [J]. *J Cancer*, 2020, 11 (7): 1751-1760. DOI: 10.7150/jca.37958.
- [18] GUO QN, LI YH, ZHANG YM, et al. LncRNA NRON promotes tumorigenesis by enhancing MDM2 activity toward tumor suppressor substrates [J]. *EMBO J*, 2023, 42 (16): e112414. DOI: 10.15252/embj.2022112414.
- [19] YAO ZC, XIONG ZY, LI RX, et al. Long non-coding RNA NRON is downregulated in HCC and suppresses tumour cell proliferation and metastasis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 102-109. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.05.006.
- [20] HU TE, ZOU HX, LE SY, et al. Tanshinone II A confers protection against myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting ferroptosis and apoptosis via VDAC1 [J]. *Int J Mol Med*, 2023, 52 (5): 109. DOI: 10.3892/ijmm.2023.5312.
- [21] LU HL, ZHANG JF, XUAN FF. miR-7a-5p attenuates hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte apoptosis by targeting VDAC1 [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2022, 22 (2): 108-117. DOI: 10.1007/s12012-021-09705-7.

(编辑 王又冬)