YTHDF1 对缺氧复氧损伤后 H9c2 心肌细胞凋亡及氧化应激的影响*

涅鲁排尔·热依木江　金　颖　罗　荔　张雅玲　刘　刚　李　雪　罗　梅**
新疆医科大学第五附属医院，乌鲁木齐　830000

［摘　要］　**目的**　探讨含 YTH 域家族蛋白 1（YTHDF1）对缺氧复氧（H/R）条件下 H9c2 细胞凋亡和氧化应激的影响。**方法**　用 H9c2 细胞构建 H/R 模型，并用 YTHDF1 小干扰 RNA（siRNA）和过表达质粒转染细胞，采用 MTT 比色法测定细胞活力，并用赫斯特染色及流式细胞术测定细胞凋亡及细胞中超氧化物歧化酶（SOD）活性、丙二醛（MDA）含量和细胞培养基上清中乳酸脱氢酶（LDH）活性，Western blot 法测定细胞中 YTHDF1、cleaved caspase - 3、Bax 和 FasL 的蛋白水平，比较对照组（control 组）、H/R 组、YTHDF1 基因干扰和过表达组 H9c2 细胞凋亡和氧化损伤情况。**结果**　H/R 损伤后 LDH 活性和 MDA 含量明显升高（$P<0.05$），SOD 活性和细胞活力显著降低（$P<0.05$），H/R 处理后 H9c2 细胞中 YTHDF1 的蛋白水平均显著升高（$P<0.05$）；YTHDF1 干扰减轻了 H/R 损伤引起的形态学变化，YTHDF1 过表达增加了 H/R 损伤引起的细胞形态变化；H/R 损伤处理后 cleaved caspase - 3、Bax 和 FasL 蛋白表达显著高于 control 组（$P<0.05$）；H/R + YTHDF1 - siRNA 组 cleaved caspase - 3、Bax 和 FasL 的蛋白水平显著低于 H/R 组（$P<0.05$），H/R + pcDNA3. 1 - YTHDF1 组 cleaved caspase - 3、Bax 和 FasL 蛋白水平显著高于 H/R 组（$P<0.05$）。**结论**　下调 YTHDF1 可以抑制 H/R 处理的 H9c2 细胞 cleaved caspase - 3、Bax 和 FasL 蛋白水平的上调并降低 H/R 处理的心肌细胞氧化损伤。

［关键词］　YTH 域家族蛋白 1；缺氧复氧；H9c2 细胞；凋亡；氧化应激
doi：10. 3969/j. issn. 1674 - 7593. 2024. 01. 009

Effect of YTHDF1 on Apoptosis and Oxidative Stress in Myocardial H9c2 Cells with Anoxia /Reoxygenation Injury

Nielupaier Reyimujiang, Jin Ying, Luo Li, Zhang Yaling, Liu Gang, Li Xue, Luo Mei**
The Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi　830000
**Corresponding author: Luo Mei, email: lm_ mary_ 2006@126. com

［**Abstract**］　**Objective**　To investigate the effect of YTH domain family protein 1 (YTHDF1) on apoptosis and oxidative damage in H9c2 cells under hypoxic reoxygenation (H/R) conditions. **Methods**　The H/R model was constructed with H9c2 cells. Cells were transfected with YTHDF1 small interfering RNA (siRNA) and overexpression plasmid, and cell viability was measured by MTT colorimetric assay. Apoptosis, superoxide dismutase (SOD) activity, malondialdehyde (MDA) content in cells and lactate dehydrogenase (LDH) activity in cell culture medium supernatant were measured by Hirst staining and flow cytometry. The protein levels of YTHDF1, cleaved caspase - 3, Bax and FasL in the cells were determined by Western blot, and the apoptosis and oxidative damage of H9c2 cells in the control, H/R, YTHDF1 gene interference and overexpression groups were compared. **Results**　LDH activity and MDA content were significantly increased, SOD activity and cell viability were significantly decreased after H/R injury ($P<0.05$), and the protein levels of YTHDF1 in H9c2 cells were significantly increased after H/R treatment ($P<0.05$), YTHDF1 interference alleviated the morphological changes caused by H/R injury, and YTHDF1 overexpression increased the morphological changes caused by H/R injury; cleaved caspase - 3, Bax and FasL protein expression was significantly higher after H/R injury treatment than in the control group ($P<0.05$), cleaved caspase - 3, Bax and FasL protein levels were significantly lower in the H/R + pcDNA3. 1 - YTHDF1 group than in the H/R group ($P<0.05$) and cleaved caspase - 3, Bax and FasL protein levels were significantly higher in the H/R + pcDNA3. 1 - YTHDF1 group than in the H/R group ($P<0.05$). **Conclusion**　Downregulation of YTH-

*新疆维吾尔自治区自然科学基金项目（2022D01C323）
**通讯作者：罗　梅，电子邮箱 lm_ mary_ 2006@126. com

DF1 inhibited the up – regulation of cleaved caspase – 3, Bax and FasL protein levels and decreased oxidative damage in H/R – treated H9c2 cells.

[**Key words**] YTH domain family protein 1; Hypoxia – reoxygenation; H9c2 cells; Apoptosis; Oxidative stress

心肌梗死是一种常见的心血管系统疾病，在临床上的研究已经有近百年的历史。重建缺血区域的血流称为再灌注，冠状动脉再灌注能迅速恢复血流和氧供应，是阻止心肌缺血损伤进展的重要途径[1]。然而，再灌注也可能会导致心肌细胞的不可逆损伤[2]。心肌缺氧复氧（Hypoxia/Reoxygenation，H/R）损伤的机制复杂，包括钙超载、活性氧（Reactive oxygen species，ROS）、内质网应激、三磷酸腺苷（Adenosine triphosphate，ATP）耗竭以及自噬和凋亡的激活等[3-5]。因此，寻找一种有效的方法来保护心肌免受 H/R 损伤至关重要。

近年来，越来越多的研究者将目光聚焦于 N6 甲基腺嘌呤（N6 methyladenine，m6A）修饰在疾病中的作用，同时也证实 m6A 可调控心血管疾病的发生发展[6-7]。在以往的研究中发现 m6A 修饰差异基因含 YTH 域家族蛋白 1（YTH domain containing family protein 1，YTHDF1）的诊断效果最佳，可作为预测冠心病的分子标志物。YTHDF1 蛋白主要通过与 mRNA 的 m6A 位点结合，在脑神经发育、多巴胺分泌和突触形成等过程中起重要作用[8]。暂时还未有研究证实 YTHDF1 在心肌梗死中的作用，还需要进一步通过机制和通路研究探讨其潜在功能。

本研究拟通过体外构建 H9c2 心肌细胞 H/R 损伤模型，抑制和过表达心肌细胞中 YTHDF1 的水平，探讨 YTHDF1 在 H/R 心肌细胞凋亡和氧化损伤中的作用，为研究心肌缺血再灌注发生机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验细胞及其培养方法

大鼠心肌细胞株（H9c2）购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。细胞在含有 10% 胎牛血清和青链霉素（100 U/mL）的 DMEM 改良培养液（生产批号 21068028，Invitrogen 公司，美国）中培养。细胞密度达到 80% 以上时进行消化传代。实验选择生长至对数期的细胞进行。

1.2 H/R 细胞模型构建

将 H9c2 细胞置于 37 ℃，含 5% CO_2 的培养箱中传代培养 48 h，观察细胞，密度达到 80% 以上后，换为等量不含血清的 DMEM 培养基，置于 37 ℃，含 5% CO_2、95% N_2 的缺氧培养箱中孵育 4 h。4 h 后弃去原有的培养液，重新加入含有 10% 血清的 DMEM 培养基，置于 37 ℃，含 5% CO_2、21% O_2 的培养箱中培养 3、6、9、12 h，即完成模型构建[9]。

1.3 分组及 YTHDF1 siRNA 或 YTHDF1 过表达质粒转染 H9c2 细胞

在 H/R 不同时间对细胞活力影响实验中，将 H9c2 细胞分为 5 组：分别为对照组（control 组）、H/R 3 h 组、H/R 6 h 组、H/R 9 h 组、H/R 12 h 组。H9c2 细胞经缺氧及 H/R 后分为 3 组：control 组，缺氧组（H 组），单纯 H/R 组（H/R 组）；YTHDF1 小干扰 RNA（Small interference RNA，siRNA）或 YTHDF1 过表达质粒转染 H9c2 细胞实验分为 5 组：control 组、小 RNA 干扰对照组（siRNA 组）、小 RNA 干扰组（YTHDF1 – siRNA 组）、空白质粒组（pcDNA3.1 组）和 YTHDF1 过表达组（pcDNA3.1 – YTHDF1 组）。H9c2 细胞经 H/R 处理后细胞分别为 4 组：control 组、H/R 组、H/R 小 RNA 干扰组（H/R + YTHDF1 – siRNA 组）和 H/R YTHDF1 过表达组（H/R + pcDNA3.1 – YTHDF1 组）。转染前 1 d 将正常和 H/R 损伤的 H9c2 细胞接种于 6 孔板，细胞生长至融合度为 80% 时，通过 Lipofectamine 2000（生产批号 11668019，Thermo Fisher 公司，美国）瞬时转染，用 pcDNA3.1 – YTHDF1 过表达质粒、空白质粒、YTHDF1 – siRNA 和 YTHDF1 – siRNA 阴性对照。

1.4 MTT 比色法测定 H9c2 细胞活力

经台盼蓝染色细胞计数后，向 96 孔板中每孔添加约 5.0×10^3 个细胞（100 μL），置于 37 ℃ 含 5% CO_2 培养箱中孵育至细胞贴壁。将 10 μL 的 5 mg/mL MTT 储备液（生产批号 E606334 – 0250，Sigma 公司，美国）添加到每个孔中，并将细胞在 37 ℃ 下孵育 4 h。后除去培养基，并向每个孔中加入 100 μL 二甲基亚砜。混合 15 min 后，使用自动微孔板分光光度计检测细胞溶液在 490 nm 处的光密度，并根据其各自对照值的百分比计算细胞活力和相对细胞数，实验重复 3 次。

1.5 流式细胞术检测细胞凋亡

使用 Annexin V – FITC/PI 双染法凋亡试剂盒（生产批号 40303ES60，Invitrogen 公司，美国）通过流式细胞术检测细胞凋亡和坏死。收集经胰酶消化处理后的细胞，并用冰冷的磷酸盐缓冲液（Phosphate buffer saline，PBS）（生产批号 BL302A，Biosharp 公司，中国）洗涤两次，后在室温下与 5 L FITC 膜联蛋白和 1 L PI 工作溶液（100 g/mL）充分混匀后，在室温黑暗环境中培养 15 min。通过流式细胞仪（型号 FACS CaliburTM，BD 公司，美国）分析测量细胞荧光，观察各组细胞的凋亡百

分比，实验重复 3 次。

1.6　实时荧光定量 PCR（Real - time quantitative PCR，RT - PCR）

使用 TRIzol 试剂（生产批号 A33254，Ambion/Life Technologies 公司，美国）从细胞样品中分离总 RNA。将总 RNA 溶解在无 RNase 水中并逆转录为 cDNA。然后使用 FastStart Universal SYBR Green Master 进行定量 RT - PCR，每个样品重复 4 次。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析目的基因在对照组和各实验组之间的表达差异。

1.7　Western blot 分析蛋白表达

收集 H9c2 细胞并裂解，将样品在 10% SDS - PAGE 凝胶上以 80 V 分离 45 min。根据预先染色的双色蛋白质分子量标记切割凝胶。将所得的蛋白条带转移至聚偏二氟乙烯膜（生产批号 88520，Bio - Rad 公司，美国）后。用 5% 脱脂牛奶（PBS 稀释）封闭 1 h。按 1∶1 000 比例稀释抗 β - actin 抗体（生产批号 A2228，Sigma 公司，美国），按 1∶600 稀释 YTHDF1（生产批号 ab86671，Abcam 公司，英国）、Cleaved caspase - 3（生产批号 AF1150，碧云天生物科技公司，中国）、Bax（生产批号 AF0054，碧云天生物科技公司，中国）和 FasL（生产批号 ab270894，Abcam 公司，英国）抗体，4 ℃孵育过夜后，用 PBS 洗涤 3 次，并与二抗一起孵育 1 h。后使用适量的 ECL 试剂（生产批号 11668 - 027，Millipore 公司，德国）通过化学发光系统检测蛋白条带。使用 Quantity One 软件（型号 BR32047，Bio - Rad 公司，美国）进行光密度分析，以定量蛋白表达，并将结果标准化为 β - actin 的表达水平，实验重复 3 次。

1.8　乳酸脱氢酶（Lactate dehydrogenase，LDH）活性测定

通过测定 H / R 处理 3、6、9、12 h 后 H9c2 细胞和 control 组细胞释放到培养基中的 LDH 的水平来评估细胞毒性。在 H/R 处理后收集细胞培养物上清液，并使用二硝基苯肼法（生产批号 D2248，Invitrogen 公司，美国）在 490 nm 的波长下测定 LDH 水平并进行定量。

1.9　总超氧化物歧化酶（Superoxide dismutase，SOD）和丙二醛（Malondialdehyde，MDA）测定

H/R 处理 3、6、9、12 h 后，离心收集细胞。将样品在冷盐水中超声处理产生 5% 匀浆，通过连续离心制备上清液的等分试样，并用于后续的实验。使用黄嘌呤氧化法进行组织匀浆中总 SOD 活性的测量，硫代巴比妥酸法测定 MDA 活性，实验重复 3 次。

1.10　赫斯特（Hoechst）染色

将 H9c2 细胞接种在 24 孔培养板中。YTHDF1 干扰或过表达处理后，将细胞用 Hoechst 33342 试剂盒（生产批号 62249，Invitrogen 公司，美国）染色观察细胞凋亡。在 37 ℃黑暗中孵育 20 min，用 PBS 洗涤细胞，并使用荧光倒置显微镜（型号Ⅸ73，Olympus 公司，日本）进行观察，任选 3 个细胞分布均匀区域内的细胞数量进行计数并取平均值。

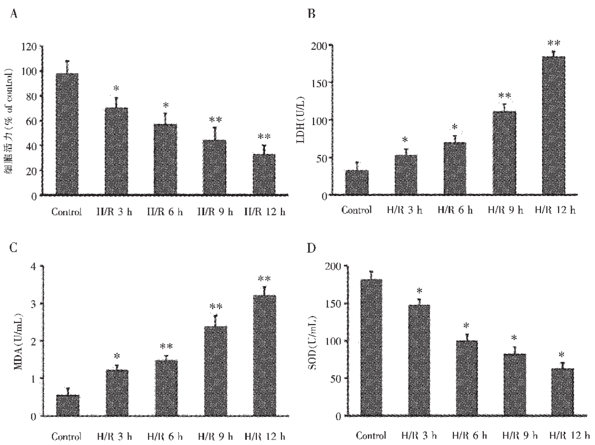
1.11　统计学方法

采用 SPSS21.0 统计学软件进行数据分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组差异比较采用单因素方差分析，组间比较采用 SNK - q 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　H/R 不同时间细胞活力、LDH、SOD 和 MDA 水平

H/R 导致 H9c2 细胞的细胞毒性机制结果表明，H/R 以时间依赖性方式引起细胞活力显著下降（$P < 0.05$）。H/R 处理会诱导细胞中 LDH 流出到培养液上清中，这是细胞损伤的另一个指标，随着 H/R 时间的延长显著升高（$P < 0.05$）。MDA 水平也呈时间依赖性方式增加（$P < 0.05$）。与 control 组相比，缺氧 3 h 后随着复氧时间的延长，SOD 的活性显著降低（$P < 0.05$），见图 1。因此，选择 H/R 6 h 作为后续实验的最佳条件。



注：与 control 组比较 * $P < 0.05$，** $P < 0.01$

图 1　H/R 不同时间 H9c2 细胞活力、LDH、SOD 和 MDA 水平

Fig. 1　H9c2 cell viability, LDH, SOD and MDA levels at different times of H/R treatment

2.2　转染正常细胞后 YTHDF1 的蛋白表达

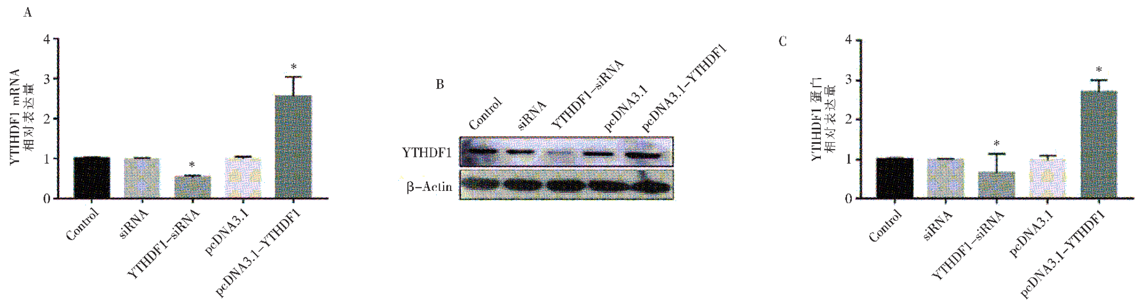
YTHDF1 siRNA 或过表达质粒转染 H9c2 细胞 48 h，YTHDF1 - siRNA 组 YTHDF1 的 mRNA 和蛋白表达显著低于 control 组（$P < 0.05$），转染 pcDNA3.1 - YTHDF1 组 YTHDF1 的 mRNA 和蛋白表达显著高于 control 组（$P < 0.05$），见图 2。

2.3 缺氧及 H/R 后 H9c2 细胞中 YTHDF1 的表达水平

H9c2 细胞经缺氧及 H/R 处理后细胞中 YTHDF1 的 mRNA 和蛋白水平明显高于正常培养的 H9c2 细胞（$P < 0.05$），见图 3。这提示 YTHDF1 在 H/R 处理后的 H9c2 细胞中表达上调。

2.4 YTHDF1 对 H/R 处理的 H9c2 细胞凋亡影响

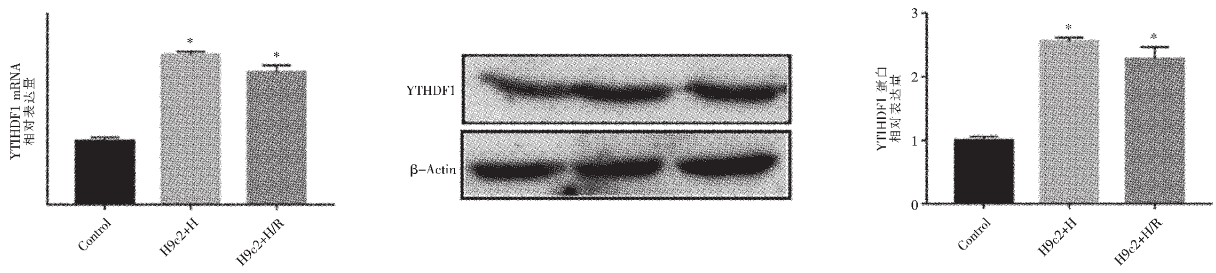
H9c2 细胞正常呈杆状，外观完整，见图 4A。H/R 损伤导致细胞形态的改变，包括细胞收缩、不饱满和坏死，见图 4B。YTHDF1 干扰减轻了 H/R引起的细胞损伤，见图 4C，而 YTHDF1 过表达增强了 H/R 引起的细胞损伤，见图 4D。流式细胞术结果显示 H/R 处理诱导了细胞凋亡，见图 4E～4F，YTHDF1 干扰部分阻断了该作用，而 YTHDF1 过表达则促进了细胞的凋亡，见图 4G～4H。



注：与 control 组比较 * $P < 0.05$

图 2 转染正常细胞后 YTHDF1 的蛋白表达

Fig. 2 Protein expression of YTHDF1 after transfection into normal cells



注：与 control 组比较 * $P < 0.05$

图 3 H/R 处理后 H9c2 细胞中 YTHDF1 的表达

Fig. 3 Expression of YTHDF1 in H9c2 cells after H/R treatment

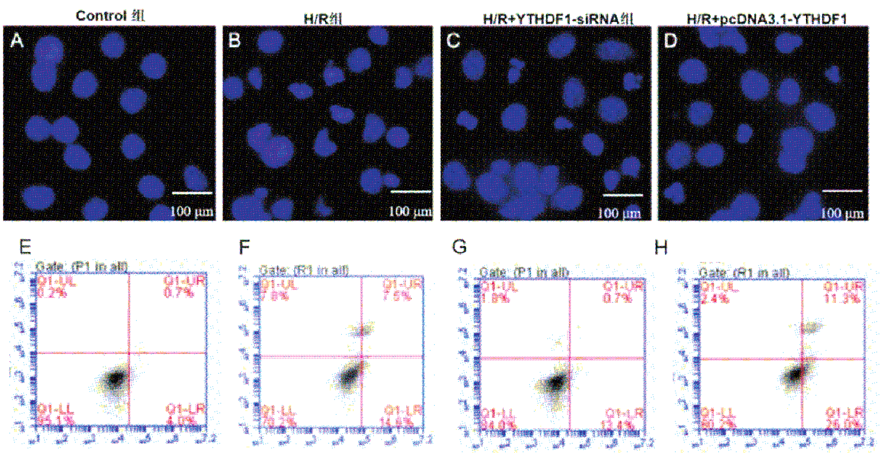
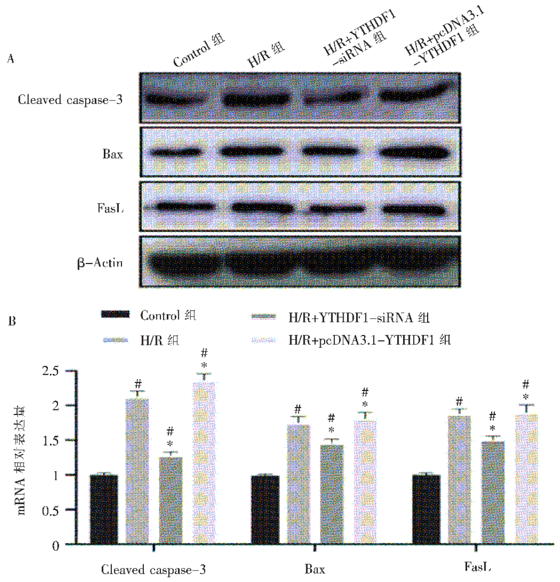


图 4 YTHDF1 对 H/R 处理的 H9c2 细胞凋亡的影响

Fig. 4 Effect of YTHDF1 on H/R－treated H9c2 cell apoptosis

2.5　YTHDF1 基因对 H/R 处理的 H9c2 细胞凋亡通路蛋白 cleaved caspase－3、Bax 和 FasL 影响

H/R 组 H9c2 细胞中 cleaved caspase－3、Bax 和 FasL 的蛋白水平显著高于 control 组（$P<0.05$）；H/R＋YTHDF1－siRNA 组细胞中 cleaved caspase－3、Bax 和 FasL 的蛋白水平显著低于 H/R 组（$P<0.05$）；H/R＋pcDNA3.1－YTHDF1 组以上 3 种蛋白水平均明显高于 H/R 组（$P<0.05$）。这提示 H/R 处理诱导了 H9c2 细胞中 cleaved caspase－3、Bax 和 FasL 蛋白水平升高，而下调 YTHDF1 可以抑制 H/R 处理诱导的 H9c2 细胞 cleaved caspase－3、Bax 和 FasL 蛋白水平的上调（$P<0.05$），见图 5。



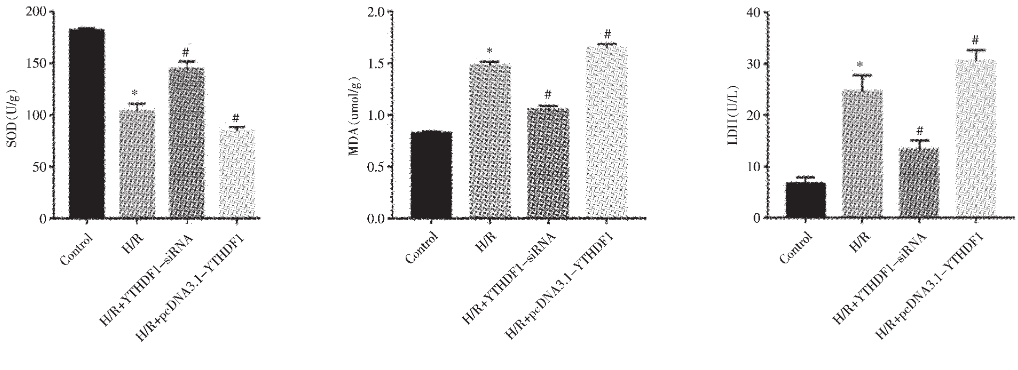
注：与 control 组比较 * $P<0.05$；与 H/R 组比较 # $P<0.05$

图 5　YTHDF1 基因对 H/R 处理后 H9c2 细胞凋亡通路蛋白 cleaved caspase－3、Bax 和 FasL 影响

Fig.5　Effect of YTHDF1 on apoptosis pathway proteins cleaved caspase－3, Bax and FasL in H9c2 cells after H/R treatment

2.6　YTHDF1 对 H/R 处理的 H9c2 细胞 MDA、SOD 和 LDH 水平的影响

H/R＋YTHDF1－siRNA 组 H9c2 细胞中 MDA 含量和培养液上清中 LDH 水平明显低于 H/R 组（$P<0.05$），而 H9c2 细胞中 SOD 活性显著高于 H/R 组（$P<0.05$）；H/R＋pcDNA3.1－YTHDF1 组 MDA 含量和培养液上清中 LDH 水平显著高于 H/R 组（$P<0.05$），而细胞中 SOD 活性明显低于 H/R 组（$P<0.05$）。这提示 H/R 处理会诱导 H9c2 细胞氧化损伤，而下调 YTHDF1 可以降低 H/R诱导的 H9c2 细胞氧化损伤，见图 6。



注：与 control 组比较 * $P<0.05$；与 H/R 组比较 # $P<0.05$

图 6　YTHDF1 对 H/R 处理 H9c2 细胞 MDA、SOD 和 LDH 水平的影响

Fig.6　Effect of YTHDF1 on MDA, SOD and LDH levels in H/R－treated H9c2 cells

3　讨论

心肌再灌注后会出现长时间的继发性心肌损伤，包括氧化应激、炎症、坏死和凋亡[10－12]。其中，细胞凋亡是影响继发性损伤恢复的主要因素[13]。既往的研究表明，心肌 H/R 损伤可导致广泛程度的细胞凋亡[14－15]。在细胞中，ROS 损伤不饱和脂肪酸并引发脂质过氧化，从而导致 MDA 的形成[16]。本研究首先分析了 H/R 损伤对细胞活力、LDH、SOD 和 MDA 的影响，证实了心肌 H/R 损伤对心肌细胞氧化应激过程的影响。进一步研究表明，H/R 后心肌细胞 SOD 水平下降，MDA 水平升高，细胞培养液中 LDH 水平也升高，心肌细胞发生氧化损伤，而下调 YTDHF1 后可以部分缓解上述作用，减少氧化损伤，发挥保护心肌细胞的作用。

哺乳动物的 YTHDF1 和 hnRNP 作为 m6A 的识别蛋白来识别和调节相应的下游分子机制。YTHDF1 是包含 YT521－B 同源结构域的蛋白质家族的成员。该蛋白可通过其在 YTH 结构域上的保守芳香基识别 m6A，从而介导转录后的基因调控[17]。已有研究证实 m6A 在 H/R 心肌细胞自噬中的作用及其参与缺血性心肌病的机制。但还没有证实 m6A 识别蛋白 YTHDF1 在心脏稳态、重塑和再生

过程中的作用。本研究首先证实了 YTHDF1 在 H/R 处理后的心肌细胞中表达上调，进一步分析表明，下调 YTHDF1 可以抑制 H/R 处理的心肌细胞 cleaved caspase－3、Bax 和 FasL 蛋白水平的上调。其他研究也证实，YTHDF1 蛋白主要通过与 mRNA 的 m6A 位点结合，在脑神经发育、多巴胺分泌和突触形成等过程中起重要作用[18]。Zhang 等[19]首次指出 m6A 修饰对小鼠学习及记忆能力的影响，YTDHF1 敲除的小鼠对空间的记忆能力和外界刺激的敏感度差。同时 YTHDF1 还能调节卵巢癌细胞中 EIF3C 的表达和整体蛋白合成[20]。

心肌细胞凋亡是缺血再灌注损伤发生的重要病理学变化，受到多种凋亡蛋白的调控。目前以凋亡为靶点的治疗能改善缺血性心脏病或心力衰竭的预后仍有待证实，但一些研究已经阐明了干预这一过程的潜在方法。Cleaved caspase－3 是 caspase 蛋白家族的成员，是细胞凋亡的执行因子，在受到细胞内相关因子刺激后可以活化促进细胞凋亡发生[21]。Fas－FasL 复合物是脱落细胞（如淋巴细胞和上皮细胞）中细胞死亡的重要影响因子，有助于在细菌和病毒感染期间清除病原体[22]。Bax 是 Bcl－2 蛋白家族的成员，其表达上调后发挥促凋亡作用[23]。本研究构建了 H9c2 细胞 H/R 模型，发现 YTDHF1 在 H/R 处理后的 H9c2 细胞中表达上调，并且 H9c2 细胞增殖活性降低，细胞凋亡率升高，细胞中 caspase－3 活化水平升高，Bax 和 FasL 表达水平升高。通过 RNA 干扰技术下调 YTDHF1 后发现，抑制 YTDHF1 可以降低 H/R 处理的 H9c2 细胞凋亡水平。综上所述，H9c2 细胞 H/R 模型中抑制 YTDHF1 基因可通过降低细胞凋亡水平从而保护心肌细胞，这为 YTDHF1 在心肌防治作用提供了参考依据。

参考文献

[1] Nikseresht S, Khodagholi F, Ahmadiani A. Protective effects of ex－527 on cerebral ischemia－reperfusion injury through necroptosis signaling pathway attenuation [J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (2): 1816－1826.

[2] Chen Q, Liu Y, Ding X, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell－secreted exosomes carrying microRNA－125b protect against myocardial ischemia reperfusion injury via targeting SIRT7 [J]. Mol Cell Biochem, 2020, 465 (1－2): 103－114.

[3] Yu X, Ruan Y, Shen T, et al. Dexrazoxane protects cardiomyocyte from doxorubicin－induced apoptosis by modulating miR－17－5p [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 5107193.

[4] Yu P, Zhang J, Yu S, et al. Protective effect of sevoflurane postconditioning against cardiac ischemia/reperfusion injury via ameliorating mitochondrial impairment, oxidative stress and rescuing autophagic clearance [J]. PLoS One, 2015, 10 (8): e0134666.

[5] Aygun H, Gul SS. Cardioprotective effect of melatonin and agomelatine on doxorubicin－induced cardiotoxicity in a rat model: an electrocardiographic, scintigraphic and biochemical study [J]. Bratisl Lek Listy, 2019, 120 (4): 249－255.

[6] Dorn LE, Lasman L, Chen J, et al. The N (6)－Methyladenosine mRNA Methylase METTL3 controls cardiac homeostasis and hypertrophy [J]. Circulation, 2019, 139 (4): 533－545.

[7] Tzelepis AK. The N 6－methyladenosine RNA modification in acute myeloid leukemia [J]. Biomark Res, 2021, 9 (1): 30－36.

[8] Zhao X, Chen Y, Mao Q, et al. Overexpression of YTHDF1 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Biomark, 2018, 21 (4): 859－868.

[9] Rocca C, De Bartolo A, Granieri MC, et al. The antioxidant selenoprotein T mimetic, PSELT, induces preconditioning－like myocardial protection by relieving endoplasmic－reticulum stress [J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11 (3): 571－577.

[10] Nkadimeng SM, Steinmann C, Botha CJ, et al. Cardioprotective potential of the water extracts of pscilocybe cubensis magic mushrooms on angiotensin Ⅱ－induced hypertrophy in rat cardiomyoblast cells [J]. European Journal of Preventive Cardiology, 2020, 27 (1_ suppl): S119.

[11] Wang F, Han JC, Defang LI, et al. Cardioprotective effects of total flavonoids extracted from Apocynum venetum L. on ischemia/reperfusion－induced myocardial injury and its mechanism [J]. Pharmaceutical Care Res, 2018, 18 (1): 16－20.

[12] Jinpiao Z, Zongze Z, Qiuyue Y, et al. Metformin attenuates sevoflurane－induced neurocognitive impairment through AMPK－ULK1－dependent autophagy in aged mice [J]. Brain Res Bull, 2020, 157: 18－25.

[13] Zhao C, Yang Y, An Y, et al. Cardioprotective role of phyllanthin against myocardial ischemia－reperfusion injury by alleviating oxidative stress and inflammation with increasd adenosine triphosphate levels in the mice model [J]. Environ Toxicol, 2021, 36 (14): 8－15.

[14] Hu X, Ma R, Cao J, et al. CircSAMD4A aggravates H/R－induced cardiomyocyte apoptosis and inflammatory response by sponging miR－138－5p [J]. J Cell Mol Med, 2022, 26 (6): 1776－1784.

[15] Wang Z, Sun R, Wang G, et al. SIRT3－mediated deacetylation of PRDX3 alleviates mitochondrial oxidative damage and apoptosis induced by intestinal ischemia/reperfusion injury [J]. Redox Biol, 2020, 28:

101343.

[16] 张景怡，鲍翠玉，李晶. 白藜芦醇对高脂所致心肌细胞氧化应激损伤的保护作用及其与AMPK/mTORC1/p70S6K信号通路的相关性［J］. 中国药理学通报，2019，35（7）：995－1000.
Zhang J Y, Bao C Y, Li J. Protective effect of resveratrol on oxidative stress injury of cardiomyocytes induced by high fat and its correlation with AMPK/mTORC1/p70S6K signaling pathway［J］. Chin Pharmacol Bull, 2019, 35（7）: 995－1000.

[17] Kim DJ, Iwasaki A. YTHDF1 control of dendritic cell cross－priming as a possible target of cancer immunotherapy［J］. Biochemistry, 2019, 58（15）: 1945－1946.

[18] Roberts JT, Porman AM, Johnson AM. Identification of m（6）A residues at single－nucleotide resolution using eCLIP and an accessible custom analysis pipeline［J］. RNA, 2021, 27（4）: 527－541.

[19] Zhang Z, Luo K, He C. Genetic analyses support the contribution of mRNA N6－methyladenosine（m6A）modification to human disease heritability［J］. Nat Genet, 2020, 52（9）: 939－949.

[20] Castellanos－Rubio A, Santin I, Olazagoitia－Garmendia A, et al. A novel RT－QPCR－based assay for the relative quantification of residue specific m6A RNA methylation［J］. Sci Rep, 2019, 9（1）: 4220.

[21] Meng Y, Xu X, Niu D, et al. Organophosphate flame retardants induce oxidative stress and Chop/Caspase 3－related apoptosis via Sod1/p53/Map3k6/Fkbp5 in NCI－1975 cells［J］. Sci Total Environ, 2022, 819: 153160.

[22] Annuar AA, Ankathil R, Mohd Yunus N, et al. Impact of Fas/Fasl gene polymorphisms on susceptibility risk and imatinib mesylate treatment response in chronic myeloid leukaemia patients［J］. Asian Pac J Cancer Prev, 2021, 22（2）: 565－571.

[23] Hetz C, Bernasconi P, Fisher J, et al. Proapoptotic BAX and BAK modulate the unfolded protein response by a direct interaction with IRE1 alpha［J］. SCIENCE, 2006, 312（5773）: 572－576.

（2022－12－20收稿）

片语健康

健康的袭扰

在进化的长途中，为了能够在地球上生存、繁衍，人必须不断面对食物匮乏、猎食者、感染、高温/低温、低氧/氧过多、缺水、毒物、病毒、细菌、寄生虫和社会冲突等的威胁，这些威胁袭扰人的健康[1]。

能袭扰人健康的因素可被统称为袭扰子（Insults）[2]。袭扰子可以是物理的，如核辐射；袭扰子可以是化学的，如环境中的有毒化合物；袭扰子可以是微生物的，如包括细菌、病毒在内的致病微生物。

外伤是袭扰子。妨害健康的变化是袭扰子。这些变化可以是代谢、体质量、饮食、激素、居住环境、行为和情绪等方面的。

人生是一个过程，衰老是此过程必经的一个阶段。衰老的基本特征是各种生理功能的进行性下降。这种下降是引发各种衰老相关性疾病（Aging associated diseases）的袭扰子[2]。

袭扰精神的袭扰子也可被界定为应激子（Stressor）[2]。

参考文献

[1] Yuval Noah Harari. Sapiens: a brief history of humankind［M］. New York: Harper Perennial, 2014.

[2] 王放. 健康要素与管控［M］. 北京：清华大学出版社. 2020.
Wang F. Elements and management of health［M］. Beijing: Tsinghua University Press. 2020

（作者：于永利）