

## 综 述

# DNA 甲基化在心肌缺血再灌注损伤中的研究进展

向 岑综述,王海英,魏义勇审校

**【摘要】** 心肌缺血再灌注损伤(MIRI)的分子机制错综复杂,迄今尚未发现减轻 MIRI 的有效药物。高通量甲基化技术的快速发展,使表观遗传学研究、生物分子学研究以及临床研究有了新进展。研究证实,DNA 甲基化参与多种疾病的生理过程。线粒体基因组(mtDNA)是细胞能量生成的场所,通过多种修饰途径调节心肌能量代谢。分析 mtDNA 的修饰与相关代谢物的改变,识别缺血再灌注相关靶基因的 DNA 甲基化,有益于了解表观遗传学在 MIRI 中的作用机制,对开发具有特异性抗 MIRI 的药物意义重大。文章主要就 DNA 甲基化的生物功能、DNA 甲基化相关调控靶点与 MIRI 之间的关联行综述。

**【关键词】** 心肌缺血再灌注损伤;表观遗传学;DNA 甲基化;线粒体 DNA

**【中图分类号】** R541 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2020)06-0638-05

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1672-271X.2020.06.017

## Trend in research of DNA methylation in myocardial ischemia/reperfusion injury

XIANG Cen<sup>1</sup>reviewing, WANG Hai-ying<sup>1</sup>, WEI Yi-yong<sup>2</sup>checking

(1. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Zunyi University of Medicine, Zunyi 563000, Guizhou, China; 2. Guizhou Provincial Key Laboratory of Anesthesia and Organ Protection, Zunyi 563000, Guizhou, China)

**【Abstract】** The molecular mechanism of myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) is complicated. The effective drugs treating MIRI are still lost. The rapid development of high-throughput methylation technology has made new progress in epigenetics research, biomolecular research and clinical research. Certain studies have confirmed that DNA methylation is involved in the physiological processes of various diseases. The mitochondrial genome (Mitochondrial DNA, mtDNA) is the site of cell energy production, which regulates myocardial energy metabolism through various modification pathways. Analyzing the modification of mtDNA and the changes of related metabolites and identifying the DNA methylation of target genes related to ischemia/reperfusion (I/R) are helpful for us to understand the mechanism of epigenetics in MIRI. It is of great significance for the development of specific anti-MIRI drugs. This review mainly summarizes the biological function of DNA methylation, the correlation between the target of DNA methylation and MIRI.

**【Key words】** myocardial ischemia-reperfusion injury; epigenetics; DNA-methylation; mitochondrial DNA

## 0 引 言

随着人口老龄化日渐加重,心血管疾病的发病率逐年增加。缺血性心肌病成为全世界人类死亡和致残的主要原因。当前,治疗心肌缺血的有效方法是尽早恢复心脏灌注,保护剩余存活心肌。近年来,血管成形术、体外循环下心内直视手术及溶栓术等得到普及,使缺血心肌得到了早期复灌,但是

快速再灌注引起心肌细胞代谢障碍和结构破坏<sup>[1]</sup>,最终导致心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI)。缺血、缺氧、炎症、自噬、氧化应激、线粒体功能障碍等均参与 MIRI 的病理过程<sup>[2]</sup>。长时间的心肌组织缺血使得 ATP 生成减少、细胞内 pH 降低,导致无氧代谢增强和乳酸蓄积。ATP 酶依赖性离子转运功能受损,细胞离子调节机制被破坏,导致细胞内和线粒体钙超载,细胞肿胀、裂解,细胞凋亡、坏死和自噬,引起细胞死亡<sup>[3]</sup>。再灌注时,产生大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS),促炎性免疫细胞、炎症介质、细胞因子和趋化因子释放增加,引发炎症级联反应,加重缺血组织损伤。此外,MIRI 还会引起缺血

基金项目:贵州省自然科学基金(gzwnk j2019-1-093)

作者单位:563000 遵义,遵义医科大学附属医院麻醉科(向 岑、王海英);563000 遵义,贵州省麻醉与器官保护基础研究重点实验室(魏义勇)

通信作者:王海英,E-mail:wanghaiting-8901@163.com

心肌表观遗传改变<sup>[4]</sup>。了解 MIRI 诱导的心肌表观遗传变化并研究具体机制将有助于研发新的治疗药物。

表观遗传学是指在 DNA 序列不改变的情况下,研究基因表达的可遗传变化。表观遗传修饰使细胞表型发生改变而基因型不变,从而调节基因表达。3 种常见的表观遗传修饰类型是组蛋白乙酰化、组蛋白甲基化以及 DNA 甲基化<sup>[5-6]</sup>。DNA 甲基化是表观遗传学中研究的最广泛,最重要的表观遗传类型。DNA 甲基化与许多疾病的发生发展有关,如癌症、神经系统疾病、心血管系统疾病等。识别与疾病相关的 DNA 甲基化标志物有益于我们了解表观遗传学在疾病病理生理学中的作用。本文就 DNA 甲基化在 MIRI 中的作用和研究前景作一综述。

## 1 DNA 甲基化

**1.1 DNA 甲基化的概述及其生物功能** DNA 甲基化是指在 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferase, DNMTs) 催化下,将胞嘧啶转变为 5-甲基胞嘧啶 (5-methylcytosine, 5-mC) 的一种生化反应<sup>[7]</sup>。胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤 (cytosine-phosphate-guanosine-, CpG) 是 DNA 甲基化发生的主要位点,哺乳动物的基因组序列约 60%~90% 的 CpG 均呈现甲基化状态<sup>[8]</sup>。在许多疾病中,DNA 甲基化发生在 CpG 岛及其周围,并且这种甲基化的改变可调控基因表达。研究证实,靶基因启动子的高甲基化抑制基因表达,而低甲基化激活基因表达。5-mC 在个体发育、细胞程序性增殖分化、衰老等生理过程中均能影响蛋白质和 DNA 的相互作用,从而调控基因表达<sup>[9]</sup>。

**1.2 DNA 甲基化与 MIRI** 氧化应激和缺氧是缺血再灌注 (ischemia reperfusion, I/R) 过程中常见的病理反应,两者均可能影响 DNA 甲基化。氧化应激可通过碱基修饰或缺失、染色体重排和其他表观遗传修饰改变 DNA 结构。DNA 损伤可能影响 DNMTs 活性,从而改变 DNA 甲基化水平并调控基因转录<sup>[10]</sup>。十-十一易位甲基胞嘧啶双加氧酶 (Ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase, TET) 可以将 5-mC 氧化为 5-羟甲基胞嘧啶 (5-hydroxymethylcytosine, 5-hmC), 5-hmC 进一步氧化,实现低甲基化。该过程需要氧气供应,缺氧则抑制该反应<sup>[11-12]</sup>。因此,I/R 时发生心肌组织缺氧可诱导 TET 活性降低,从而激活靶基因启动子片段高甲基

化,抑制相关基因转录,干扰与机体应激反应、炎症反应、细胞自噬和凋亡等相关的信号转导通路。

## 2 DNA 甲基化调控靶点与 MIRI

**2.1 磷酸酶和张力蛋白同源诱导的激酶 1 (phosphatase and tensin homolog-induced putative kinase 1, Pink1)** 自噬是指将细胞内成分和细胞器传递至溶酶体进行降解的生理过程。细胞自噬参与调节体内多种代谢途径和信号转导通路,在维持细胞生长、发育、分化、衰老、凋亡,以及细胞内环境稳态等方面发挥重要作用<sup>[13]</sup>。细胞内自噬选择性作用于线粒体即为线粒体自噬。线粒体自噬通过选择性清除受损线粒体维持细胞能量代谢和线粒体功能。适度自噬可清除受损细胞器,挽救濒死细胞。过度激活自噬,却会引起细胞自噬性死亡<sup>[14]</sup>。Pink1 是一种具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性的线粒体外膜蛋白,可作为线粒体损伤的感受器和 Pink/Parkin 线粒体自噬通路的引发剂<sup>[15]</sup>,广泛表达于心肌、骨骼肌以及神经系统等高耗能组织。应激状态下,ROS 引起线粒体损伤,导致 Pink1 蓄积在线粒体外膜,通过自身磷酸化与细胞内分子进行信号转导<sup>[16]</sup>。Pink1 参与线粒体自噬相关的多个信号转导通路,在维护细胞结构、线粒体功能以及机体内环境稳态中发挥关键作用<sup>[17]</sup>。然而,近年来,越来越多证据表明 Pink1 因外界刺激不同或细胞内环境的改变对线粒体自噬产生不同影响。Zhou 等<sup>[18]</sup>建立心肌细胞缺氧/复氧模型分析 Pink1/FAM65B 通路抑制自噬抗 MIRI 的作用机制,研究发现自噬相关 circRNA (autophagy related circRNA, ACR) 与 DNMT3B 结合,竞争抑制 DNMT3B 介导的 Pink1 启动子 DNA 甲基化,从而增加 Pink1 表达,激活 Pink1/FAM65B 通路,抑制过度自噬,从而减轻 MIRI。因此,深入研究 Pink1 以及相关通路的 DNA 甲基化机制有利于发现治疗和预防 MIRI 的新靶点。

**2.2 MicroRNA (miRNA)** miRNA 是一类内源性非编码小核糖核酸,包含 21~24 个核苷酸<sup>[19]</sup>。miRNA 参与多个生物学过程,如自噬<sup>[20]</sup>、增殖、分化和凋亡<sup>[21]</sup>,通过靶基因与 3'UTR 的结合而负向调节基因表达<sup>[22]</sup>。miRNA 对自噬的调控是由自噬相关基因如 BECN1, LC3B 和 p62 介导的<sup>[23]</sup>。有研究证实,心脏重塑和心力衰竭等病理生理过程会影响 miRNA 丰度<sup>[24-25]</sup>。如在大鼠心肌 I/R 模型的心脏组织中发现 miRNA30a 异常表达<sup>[26]</sup>。miRNA 异常

表达可能与表观遗传调控有关,如 DNA 甲基化和组蛋白修饰<sup>[27]</sup>。miRNA 启动子 DNA 甲基化水平的改变可直接导致其表达水平改变<sup>[28]</sup>。Vera 等<sup>[29]</sup>报道,miR-7 甲基化水平升高可能是潜在的临床表观遗传靶点,可用于识别对铂衍生疗法反应不良的卵巢癌患者。Wang 等<sup>[30]</sup>利用 UCSC 基因组学技术分析发现 miR-30a 全基因组存在 2 个 CpG 岛,其中 miR-30a(-761/-216)片段是核心调控区,为甲基化提供了结构基础。同时用 DNMTs 抑制剂处理心肌细胞,发现 DNMT3B 抑制剂显著增强 miR-30a 的表达,而使用 DNMT1 和 DNMT3A 抑制剂未观察到明显作用。基因敲除 DNMT3B 可抑制 miR-30a 甲基化,同时心肌细胞 miR-30a 表达水平升高。此外,细胞活力染色发现,在缺氧/复氧条件下, DNMT3B 抑制剂可增强心肌细胞活力。这些结果均提示,在缺氧后处理下, DNMT3B 介导的 miR-30a 启动子 DNA 甲基化水平降低,从而上调 miR-30a 表达, miR-30a 通过抑制 BECN1 介导的自噬发挥心肌保护作用。该发现支持 DNA 低甲基化会导致基因不稳定和转录激活,而 DNA 高甲基化会导致基因沉默这一观点。这为进一步探究 miRNA 抗 MIRI 的心肌保护作用机制提供了新方向,而且为减轻 I/R 引起的心肌损伤提供了潜在的治疗靶点。

### 2.3 促肾上腺皮质激素释放激素受体 2 (corticotropin releasing hormone receptor 2, CRHR2)

CRHR2 是蛋白质编码基因。该基因编码的蛋白质属于 G 蛋白偶联受体 2 家族,是促肾上腺皮质激素释放激素受体的亚家族。该受体对促肾上腺皮质激素释放激素 (corticotropin releasing hormone, CRH) 具有很高的亲和力,并与 CRH 相关肽 (如尿皮质激素) 结合<sup>[31]</sup>。CRHR2 主要分布于心脏,该受体可能参与介导心血管稳态<sup>[32]</sup>。Urocortin (UCN) 是 CRH 家族中的一种肽,已经证实具有抗 I/R 损伤的心肌保护作用<sup>[33]</sup>。大量研究表明,雌激素通过调节内源性因子发挥心脏保护作用。如雌激素可增加热休克蛋白的表达,减少活性氧的产生,抑制促炎基因表达,从而保护心肌细胞免受缺血性损伤<sup>[34]</sup>。研究证实,雌激素维持心肌 CRHR2 表达,增强 UCN 诱导的抗 I/R 损伤的心脏保护作用。维持 CRHR2 表达水平对内源性 UCN 发挥心脏保护作用至关重要<sup>[35]</sup>。CRHR2 近端启动子包含 53 个 CpG 位点,这提示甲基化可能会调节 CRHR2 表达。Cong 等<sup>[35]</sup>进一步研究卵巢切除术和雌激素替代疗法是否影响甲基化。结果表明,在假手术组、卵巢切除组、

卵巢切除联合雌激素替代疗法组之间 CRHR2 CpG 岛中的每个 CpG 位点甲基化频率差异明显。与假手术组相比,卵巢切除组中 7 个 CpG 位点 DNA 甲基化频率显著增加。提出雌激素可能通过表观遗传机制调控基因表达从而发挥心肌保护作用。该团队在 2014 年证明在心肌细胞中雌激素通过 DNA 甲基化调节 CRHR2 表达<sup>[36]</sup>,这为了解雌激素的心脏保护作用机制提供了新的见解。

### 2.4 蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)

PKC 是磷脂依赖性  $\text{Ca}^{2+}$  激活的蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶。蛋白激酶 C 是信号转导途径的主要介质,也是细胞增殖、分化、凋亡等生理过程的关键调节因子<sup>[37]</sup>。PKC 激活会触发许多细胞内事件,这些事件会影响心脏的多个生理过程,包括心率、收缩和舒张功能。最近研究表明 PKC 的激活与多种心血管疾病的病理生理有关。心肌缺血预处理释放的内源性介质 (如腺苷) 通过作用于 G 蛋白偶联受体启动细胞内信号转导途径,从而通过二酰基甘油激活 PKC,随后,活化的 PKC 磷酸化第二个效应蛋白发挥心脏保护作用。PKC 有 11 个亚型,其中 PKC- $\alpha$ , PKC- $\beta$ , PKC- $\epsilon$ , PKC- $\zeta$  在胎儿心脏中高度表达。研究证实 PKC- $\epsilon$  在缺血性心肌病中发挥重要作用<sup>[37]</sup>。然而, PKC- $\epsilon$  如何参与心肌保护作用的生理机制仍不清楚。有研究表明,母体缺氧会导致胎儿心脏 PKC- $\epsilon$  启动子甲基化以及基因表达模式发生表观遗传抑制,从而雄性子代心脏对缺血再灌注损伤的敏感性增加<sup>[38-39]</sup>。为进一步研究缺氧诱导因子 1 或 ROS 介导缺氧诱导的 PKC- $\epsilon$  基因抑制的分子机制,该团队利用妊娠期大鼠缺氧模型以及离体胎鼠心脏组织和大鼠胚胎心肌细胞缺氧模型进行验证。结果表明,缺氧导致 H9C2 心肌细胞和胎鼠心脏 ROS 生成增加,使用 ROS 清除剂 N-乙酰基-L-半胱氨酸可抑制缺氧诱导的 SP1 结合位点的甲基化,并且恢复 PKC- $\epsilon$  启动子与 SP1 结合,提示缺氧产生的 ROS 在胎鼠心脏 PKC- $\epsilon$  启动子 DNA 甲基化中发挥重要作用。此外,使用甲基化抑制剂 5-氮杂-2-脱氧胞苷抑制缺氧对 PKC- $\epsilon$  基因表达下调的影响,从而使 PKC- $\epsilon$  和 mRNA 恢复可控水平,证明了 DNA 甲基化在缺氧诱导的 PKC- $\epsilon$  基因抑制中的表观遗传作用。研究证实 ROS 介导 PKC- $\epsilon$  启动子特定序列转录因子结合位点的 CpG 甲基化,从而调节 PKC- $\epsilon$  基因在胎鼠心脏的表达,导致子代心脏对 I/R 损伤的敏感性增强。

### 2.5 冷诱导 RNA 结合蛋白 (cold-inducible RNA



**binding protein, CIRBP)** CIRBP 是细胞核 RNA 结合蛋白家族成员,在冷刺激下,CIRBP 从细胞核转移到细胞质调节靶 mRNA,抑制细胞凋亡<sup>[40]</sup>。Liu 等<sup>[41]</sup>通过建立大鼠体外循环模型,发现体外循环期间低温可诱导心脏 CIRBP 的表达,而抑制此蛋白表达则会导致心脏功能显著受损。该团队进一步通过转基因大鼠、心肌细胞培养等一系列研究发现,长期慢性低氧会诱导心肌细胞发生甲基化的表观遗传学改变,导致 CIRBP 表达下降,并且丧失对低温的反应性。低温抑制 CIRBP 表达,可导致体外循环期间心肌组织的泛酰合成障碍、辅酶 Q10 的合成锐减,最终削弱低温的心肌保护效应。通过在心脏停搏液中补充额外的辅酶 Q10 可弥补冷刺激后 CIRBP 下降带来的负面效应。

### 3 线粒体基因组(mitochondrial DNA, mtDNA)

mtDNA 位于线粒体内膜和电子传输链,易受到氧化应激损伤。mtDNA 由 16.5kb 双链 DNA 组成,无内含子,并且在电子传输链中编码复合物 I、III、IV、V 以及 tRNA 和 rRNA。因此,若 mtDNA 发生任何损伤均可能导致线粒体转录功能异常以及氧化磷酸化功能障碍<sup>[42]</sup>。Yue 等<sup>[43]</sup>研究发现在大鼠心脏 I/R 过程中,mtDNA 转录水平降低以及 mtDNA 复制减少,进而导致呼吸链复合物合成减少,抑制线粒体生物发生,最终诱导线粒体功能障碍,而且线粒体功能障碍又诱导 ROS 生产增加,加重 mtDNA 损伤,诱发心肌细胞损伤。线粒体是将环境刺激转化为表观遗传调控的重要场所。尽管表观遗传学变化主要与核 DNA 有关,但研究表明,mtDNA 的表观遗传调控影响线粒体功能<sup>[44]</sup>。线粒体表观遗传学相关研究尚处于起步阶段,需进一步深入分析以揭示 mtDNA 甲基化对心血管疾病的影响。

### 4 结 语

尽管目前对 MIRI 的病理生理和分子机制有大量研究,但是将这些发现应用于临床实践仍然受限。靶基因 DNA 甲基化影响基因转录,从而参与调节 I/R 引起的炎症反应、氧化应激、自噬、免疫、细胞凋亡等病理过程。进一步研究表观遗传调控在 MIRI 中的最新进展有助于我们探索相关靶点,如 Pink1,miRNA,CRHR2,PKC,mtDNA 等在减轻 MIRI 中的分子机制。

#### 【参考文献】

[1] Cinzia P, Albert-Laszló B, Gianluigi C, *et al.* Epigenomic and

transcriptomic approaches in the post-genomic era: path to novel targets for diagnosis and therapy of the ischaemic heart? Position Paper of the European Society of Cardiology Working Group on Cellular Biology of the Heart[J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113(7):725-736.

[2] Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, *et al.* Ischemia/Reperfusion[J]. *Compr Physiol*, 2016,7(1):113-170.

[3] Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, *et al.* Cell biology of ischemia/reperfusion injury[J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2012, 298:229-317.

[4] Tang J, Zhuang S. Histone acetylation and DNA methylation in ischemia/reperfusion injury[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(4):597-609.

[5] Prachayasittikul V, Prathipati P, Pratiwi R, *et al.* Exploring the epigenetic drug discovery landscape[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2017,12(4):345-362.

[6] 邸婷婷,卞涛. DNA 甲基化在 COPD 发病机制中的研究进展[J]. *东南国防医药*, 2018,20(6):614-617.

[7] 王震凯,汪芳裕. DNA 甲基化与肿瘤[J]. *医学研究生学报*, 2011,24(6):641-645.

[8] Blaschke K, Ebata KT, Karimi MM, *et al.* Vitamin C induces Tet-dependent DNA demethylation and a blastocyst-like state in ES cells[J]. *Nature*, 2013,500(7461):222-226.

[9] Lou S, Lee HM, Qin H, *et al.* Whole-genome bisulfite sequencing of multiple individuals reveals complementary roles of promoter and gene body methylation in transcriptional regulation[J]. *Genome Biol*, 2014,15(7):408.

[10] Franco R, Schoneveld O, Georgakilas AG, *et al.* Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis[J]. *Cancer Lett*, 2006,266(1):6-11.

[11] Thienpont B, Steinbacher J, Zhao H, *et al.* Tumour hypoxia causes DNA hypermethylation by reducing TET activity[J]. *Nature*, 2016,537(7618):63-68.

[12] Heylen L, Thienpont B, Naesens M, *et al.* The Emerging Role of DNA Methylation in Kidney Transplantation: A Perspective[J]. *Am J Transplant*, 2016,16(4):1070-1078.

[13] Abdellatif M, Sedej S, Carmona-Gutierrez D, Madeo F, *et al.* Autophagy in Cardiovascular Aging[J]. *Circ Res*, 2018, 123(7):803-824.

[14] Livingston MJ, Wang J, Zhou J, *et al.* Clearance of damaged mitochondria via mitophagy is important to the protective effect of ischemic preconditioning in kidneys[J]. *Autophagy*, 2019, 15(12):2142-2162.

[15] 梁丹阳,戴汉川. PINK1/Parkin 通路在线粒体自噬氧化损伤中的作用[J]. *中国细胞生物学学报*, 2018,40(1):116-123.

[16] Rasool S, Trempe JF. New insights into the structure of PINK1 and the mechanism of ubiquitin phosphorylation[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2018,53(5):515-534.

[17] Sekine S, Youle RJ. PINK1 import regulation; a fine system to convey mitochondrial stress to the cytosol[J]. *BMC Biol*, 2018, 16(1):2.

[18] Zhou LY, Zhai M, Huang Y, *et al.* The circular RNA ACR at-

- tenuates myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing autophagy via modulation of the Pink1/FAM65B pathway [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(7):1299-1315.
- [19] 封冰, 陈龙邦. 微小 RNA 与表观遗传调控: 肿瘤治疗新策略 [J]. *医学研究生学报*, 2011, 24(1):92-95.
- [20] Wu H, Liu C, Yang Q, *et al*. MIR145-3p promotes autophagy and enhances bortezomib sensitivity in multiple myeloma by targeting HDAC4 [J]. *Autophagy*, 2020, 16(4):683-697.
- [21] Huang J, Zhao L, Fan Y, *et al*. The microRNAs miR-204 and miR-211 maintain joint homeostasis and protect against osteoarthritis progression [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):2876.
- [22] Palma CA, Al Sheikha D, Lim TK, *et al*. MicroRNA-155 as an inducer of apoptosis and cell differentiation in Acute Myeloid Leukaemia [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13:79.
- [23] Ju S, Liang Z, Li C, *et al*. The effect and mechanism of miR-210 in down-regulating the autophagy of lung cancer cells [J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(3):453-458.
- [24] Zhang X, Fernández-Hernando C. miR-33 Regulation of Adaptive Fibrotic Response in Cardiac Remodeling [J]. *Circ Res*, 2017, 120(5):753-755.
- [25] Panico C, Condorelli G. microRNA-132: a new biomarker of heart failure at last? [J]. *Eur J Heart Fail*, 2018, 20(1):86-88.
- [26] Zhang C, Liao P, Liang R, *et al*. Epigallocatechin gallate prevents mitochondrial impairment and cell apoptosis by regulating miR-30a/p53 axis [J]. *Phytomedicine*, 2019, 61:152845.
- [27] Roman-Gomez J, Agirre X, Jiménez-Velasco A, *et al*. Epigenetic regulation of microRNAs in acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(8):1316-1322.
- [28] Ortiz IMDP, Barros-Filho MC, Dos Reis MB, *et al*. Loss of DNA methylation is related to increased expression of miR-21 and miR-146b in papillary thyroid carcinoma [J]. *Clin Epigenetics*, 2018, 10(1):144.
- [29] Vera O, Jimenez J, Pernia O, *et al*. DNA Methylation of miR-7 is a Mechanism Involved in Platinum Response through MAFK Overexpression in Cancer Cells [J]. *Theranostics*, 2017, 7(17):4118-4134.
- [30] YanHua W, YinJu H, Hui Z, *et al*. DNA Hypomethylation of miR-30a Mediated the Protection of Hypoxia Postconditioning Against Aged Cardiomyocytes Hypoxia/Reoxygenation Injury Through Inhibiting Autophagy [J]. *Circ J*, 2020, 84(4):616-625.
- [31] Wang LA, Nguyen DH, Mifflin SW, *et al*. CRHR2 (Corticotropin-Releasing Hormone Receptor 2) in the Nucleus of the Solitary Tract Contributes to Intermittent Hypoxia-Induced Hypertension [J]. *Hypertension*, 2018, 72(4):994-1001.
- [32] Crunkhorn S. Cardiovascular disease: CRHR2 blockade prevents heart failure [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(8):530.
- [33] Basman C, Agrawal P, Knight R, *et al*. Cardioprotective Utility of Urocortin in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury: Where do We Stand? [J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2018, 11(1):32-38.
- [34] Lagranha CJ, Deschamps A, Aponte A, *et al*. Sex differences in the phosphorylation of mitochondrial proteins result in reduced production of reactive oxygen species and cardioprotection in females [J]. *Circ Res*, 2010, 106(11):1681-1691.
- [35] Cong B, Zhu X, Cao B, *et al*. Estrogens protect myocardium against ischemia/reperfusion insult by up-regulation of CRH receptor type 2 in female rats [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(5):4755-4760.
- [36] Cong B, Xu Y, Sheng H, *et al*. Cardioprotection of 17 $\beta$ -estradiol against hypoxia/reoxygenation in cardiomyocytes is partly through up-regulation of CRH receptor type 2 [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 382(1):17-25.
- [37] Singh RM, Emanuel C, Constantinos P, *et al*. Protein kinase C and cardiac dysfunction: a review [J]. *Heart Fail Rev*, 2017, 22(6):843-859.
- [38] Patterson AJ, Daliao X, Fuxia X, *et al*. Hypoxia-derived oxidative stress mediates epigenetic repression of PKC $\epsilon$  gene in foetal rat hearts [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93(2):843-859.
- [39] Patterson AJ, Chen M, Xue Q, *et al*. Chronic prenatal hypoxia induces epigenetic programming of PKC {epsilon} gene repression in rat hearts [J]. *Circ Res*, 2010, 107(3):365-373.
- [40] Zhang HT, Xue JH, Zhang ZW, *et al*. Cold-inducible RNA-binding protein inhibits neuron apoptosis through the suppression of mitochondrial apoptosis [J]. *Brain Res*, 2015, 1622:474-483.
- [41] Liu Y, Xing J, Zhang H, *et al*. Chronic hypoxia-induced Ctrp hypermethylation attenuates hypothermic cardioprotection via down-regulation of ubiquinone biosynthesis [J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(489):eaat8406.
- [42] Bliksoen M, Baysa A, Eide L, *et al*. Mitochondrial DNA damage and repair during ischemia-reperfusion injury of the heart [J]. *Mol Cell Cardiol*, 2015, 78:9-22.
- [43] Yue RC, Xia XW, Jiang JH, *et al*. Mitochondrial DNA oxidative damage contributes to cardiomyocyte ischemia/reperfusion-injury in rats: cardioprotective role of lycopene [J]. *Cell Physiol*, 2015, 230(9):2128-2141.
- [44] Di Salvo TG, Haldar SM. Epigenetic mechanisms in heart failure pathogenesis. *Circ Heart Fail* [J]. United States, 2014, 7(5):850-863.

(收稿日期:2020-07-31; 修回日期:2020-08-21)

(责任编辑:刘玉巧; 英文编辑:朱一超)