

miR-16-5p 靶向 PTEN/PI3K/AKT 信号通路 对非小细胞肺癌细胞活性和迁移能力的影响*

陈民彪 蔡仁中 黄明芳 黄修明 廖绪强

(海南省人民医院·海南医学院附属海南医院胸外科, 海口 570311)

【摘要】 目的 探讨 AS-miR-16-5p 对非小细胞肺癌(NSCLC) A549 细胞活性和迁移能力的影响及潜在的作用机制。方法 将 NSCLC A549 细胞分为 3 组, 分别为 Black 组、miR-NC 组和 AS-miR-16-5p 组。miR-NC 组和 AS-miR-16-5p 组分别转染阴性对照 miRNA(miR-NC) 及 AS-miR-16-5p, Black 组不进行任何干预。通过实时定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测 A549 细胞中 miR-16-5p 的表达; 应用 MTT 检测 A549 细胞活性; 划痕实验和 Transwell 实验检测 A549 细胞迁移能力; Western blotting 法检测 A549 细胞中 PTEN/PI3K/AKT 信号通路关键蛋白表达水平。结果 与 miR-NC 组和 Black 组相比, AS-miR-16-5p 组 miR-16-5p 表达水平下调($P < 0.05$); AS-miR-16-5p 显著抑制 A549 细胞活性, 显著减少 A549 细胞迁移率(均 $P < 0.05$); AS-miR-16-5p 显著上调 A549 细胞中 PTEN 蛋白表达水平, 而显著下调 PI3K 和 AKT 蛋白表达水平($P < 0.05$)。结论 AS-miR-16-5p 能抑制 NSCLC A549 细胞活性和迁移能力, 此外, AS-miR-16-5p 通过负调控 PTEN/PI3K/AKT 信号通路有可能成为 NSCLC 治疗新靶点。

【关键词】 miR-16-5p; 非小细胞肺癌; PTEN/PI3K/AKT 信号通路; 细胞活性; 迁移

【中图分类号】 R734.2 **【文献标志码】** A **DOI:** 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 01. 004

Effects of miR-16-5p targeting PTEN/PI3K/AKT signaling pathway on cell viability and migration of non-small cell lung cancer cells

CHEN Minbiao, CAI Renzhong, HUANG Mingfang, HUANG Xiuming, LIAO Xuqiang

(Hainan Hospital Affiliated to Hainan Medical College, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of AS-miR-16-5p on the cell viability and migration of non-small cell lung cancer (NSCLC) A549 cells and its potential mechanism. **Methods** NSCLC A549 cells were divided into black group, Mir NC group and AS Mir 16 5p group. Mir NC group and AS Mir 16 5p group were transfected with negative control miRNA (MIR NC) and AS Mir 16 5p respectively. Black group did not intervene. The expression of Mir 16 5p in A549 cells was detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT qPCR). MTT assay was used to detect the activity of A549 cells. The migration ability of A549 cells was detected by scratch test and Transwell test. The expression of key proteins of PTEN / PI3K / Akt signaling pathway in A549 cells was detected by Western blotting. **Results** Compared with the miR-NC group and the Black group, the expression level of miR-16-5p in the AS-miR-16-5p group was down-regulated ($P < 0.05$). AS-miR-16-5p significantly inhibited the viability of A549 cells ($P < 0.05$), significantly reduce the migration rate ($P < 0.05$) of A549 cells. AS-miR-16-5p significantly increased the expression level of PTEN protein in A549 cells ($P < 0.05$), and significantly down-regulated the expression of PI3K and AKT protein ($P < 0.05$). **Conclusion** AS-miR-16-5p can inhibit the cell viability and migration of NSCLC A549 cells. In addition, AS-miR-16-5p negatively regulates the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway and may become a new target for NSCLC therapy.

【Key words】 miR-16-5p; Non-small cell lung cancer; PTEN/PI3K/AKT signaling pathway (NSCLC); Cell viability; Migration

基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目(18A200050)

引用本文: 陈民彪, 蔡仁中, 黄明芳, 等. miR-16-5p 靶向 PTEN/PI3K/AKT 信号通路对非小细胞肺癌细胞活性和迁移能力的影响[J]. 西部医学, 2022, 34(1): 16-20. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 01. 004

肺癌是常见的恶性肿瘤之一,以非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)发病率最高,占肺癌发病率的 80% 以上^[1-3]。目前,NSCLC 的临床治疗主要以手术切除、化疗、放疗为主,但预后不理想^[4-6]。MicroRNA(miRNA)是一类内源性表达的非编码小分子 RNA,长度约为 22 个核苷酸,能通过靶基因相互作用调节基因表达,其失调涉及癌细胞的各个方面,包括细胞的生长、凋亡、增殖、迁移和侵袭等过程^[7-8]。蛋白酪氨酸磷酸酶基因(*PTEN*)是近年被发现的包括 NSCLC 在内的各种癌症类型中众所周知的肿瘤抑制因子,通过介导磷脂酰肌醇-3-激酶(Phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/丝氨酸-苏氨酸激酶(Protein kinase B, AKT)信号通路的活化,与癌症进展密切相关^[9]。*miR-16-5p* 在 NSCLC 中低表达,其被认为是 NSCLC 的抑癌基因。因此,本研究旨在探讨 NSCLC 中低表达的 *miR-16-5p* 对 A549 细胞活性、迁移和 *PTEN/PI3K/AKT* 信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞株和主要材料 人源性 NSCLC A549 细胞株购自中科院上海细胞库;TRIzol 和 Lipofectamine™2000 转染试剂购自 Invitrogen 公司(美国);AS-*miR-16-5p* 及 *miR-NC* 序列的设计合成委托上海康成生物工程有限公司(中国);含双抗的 RPMI 1640 培养基购自 Invitrogen 公司(美国);胎牛血清购自 Hyclone 公司(美国);MTT 试剂购自 Sigma 公司(美国);Transwell 小室购自 Millipore 公司(美国);*PTEN* 抗体、p-AKT 抗体、PI3K 抗体购自 Invitrogen 公司(美国)。

1.2 细胞培养 A549 细胞培养于含 10% 胎牛血清 RPMI 1640 培养基中,置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱内培养并进行传代。取传代后对数期细胞用于后续实验。

1.3 细胞转染 收集 A549 细胞接种于 6 孔板中,分为 Blank 组、*miR-NC* 组和 AS-*miR-16-5p* 组。根据 Lipofectamine™2000 说明书,在无血清 RPMI 1640 培养基中转染 *miR-NC* 和 AS-*miR-16-5p* 质粒。在转染 6 h 后,培养基替换为含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养 48 h。收获细胞用于 qRT-PCR 分析。

1.4 qRT-PCR 检测 TRIzol 试剂提取细胞 mRNA,根据反转录试剂盒步骤合成 cDNA,然后扩增目的基因,检测 *miR-16-5p* 表达水平。

1.5 MTT 检测 将每组 A549 细胞以每孔 2×10^4 个细胞接种在 96 孔板,置于 37 °C 培养箱中分别培养至 24、48、72、96 h,然后小心弃掉上清液。每孔中加入 20 μ L MTT 溶液,并在培养箱中孵育 4~6 h,然后

小心弃掉上清液。每孔中加入 150 μ L DMSO 溶液,避光震荡 10 min,通过酶标仪测定 A549 细胞在 570 nm 波长时的吸光度(OD 值)。

1.6 细胞划痕实验 将每组 A549 细胞接种于 6 孔板,待细胞融合度达到 90% 时,使用无菌移液器在细胞上进行垂直刮擦,然后将培养板用 PBS 洗涤 2 次,然后加入含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养 24 h 后拍照。

1.7 Transwell 实验 将每组 A549 细胞接种于 24 孔板中 Transwell 上室中,将 500 μ L 含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基加入下室中,37 °C 培养箱中培养细胞 24 h。4% 多聚甲醛固定后去除上室细胞,用 0.1% 结晶紫染色,通过酶标仪测定 A549 细胞在 570 nm 波长时的吸光度(OD 值)。

1.8 蛋白质印迹法 收集每组 A549 细胞并用 PBS 洗涤 3 次。RIPA 裂解缓冲液提取细胞的总蛋白,并通过 BCA 法进行蛋白定量。对总蛋白(25 μ g 蛋白/泳道)进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,然后将蛋白转移到 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶封闭 2 h。将膜与一抗在 4 °C 孵育过夜,然后与二抗在室温孵育 1 h。使用 ECL 发光剂显影并通过软件进行定量。

1.9 统计学分析 数据采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计学分析,用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析多个样本均数比较,两组间比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AS-*miR-16-5p* 对 NSCLC A549 细胞 *miR-16-5p* 表达水平的影响 与 Blank 组、*miR-NC* 组相比,AS-*miR-16-5p* 组 *miR-16-5p* 表达水平下降($P < 0.05$);Blank 组与 *miR-NC* 组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);表明 AS-*miR-16-5p* 抑制 *miR-16-5p* 在 NSCLC A549 细胞的表达,见图 1。

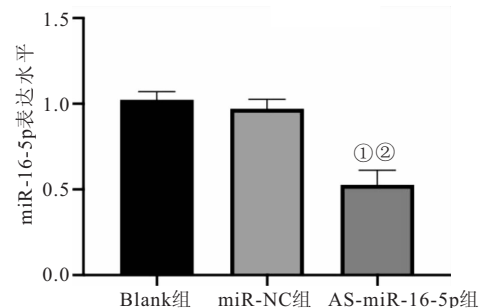


图 1 AS-*miR-16-5p* 对 NSCLC A549 细胞 *miR-16-5p* 表达水平的影响
Figure 1 The effect of AS-*miR-16-5p* on the expression level of *miR-16-5p* in NSCLC A549 cells

注:与 Blank 组比较,① $P < 0.05$;与 *miR-NC* 组比较,② $P < 0.05$

2.2 AS-miR-16-5p 对 NSCLC A549 细胞活性的影响 与 Blank 组、miR-NC 组比较, AS-miR-16-5p 组细胞活性降低 ($P < 0.05$); Blank 组与 miR-NC 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 表明 AS-miR-16-5p 显著抑制 NSCLC A549 细胞的活性, 见图 2。

2.3 AS-miR-16-5p 对 NSCLC A549 细胞迁移能力的影响 细胞划痕实验结果显示, 经处理 24 h 后, AS-miR-16-5p 组较同期 Blank 组和 miR-NC 组细胞愈合率降低 ($P < 0.05$), 见图 3。此外, Transwell 实验结果显示, AS-miR-16-5p 组较同期 Blank 组和 miR-NC 组细胞迁移能力降低 ($P < 0.05$), 表明 AS-miR-16-5p 对 NSCLC A549 细胞的迁移能力具有明显的抑制作用, 见图 4。

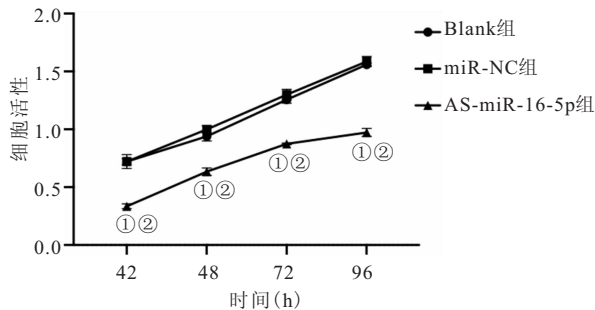


图 2 AS-miR-16-5p 对 NSCLC A549 细胞活性的影响

Figure 2 The effect of AS-miR-16-5p on the cell viability of NSCLC A549 cells

注: 与 Blank 组比较, ① $P < 0.05$; 与 miR-NC 组比较, ② $P < 0.05$

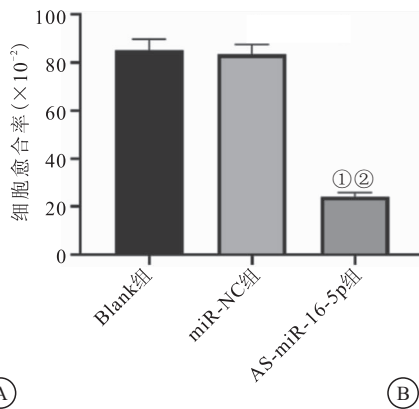
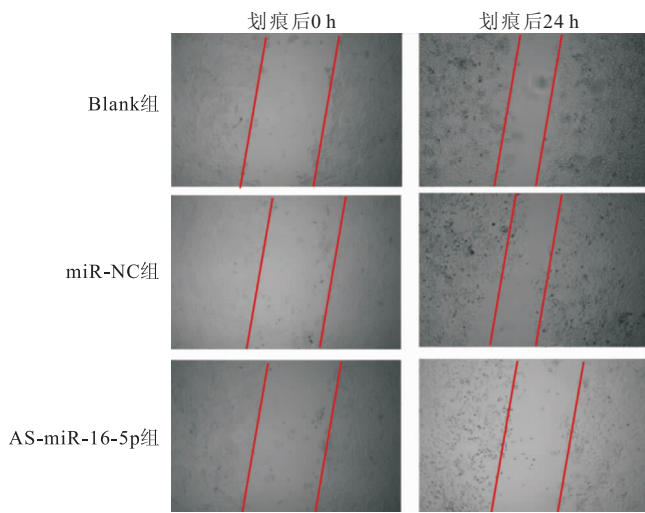


图 3 AS-miR-16-5p 对 NSCLC A549 细胞愈合率的影响

Figure 3 The effect of AS-miR-16-5p on the healing rate of NSCLC A549 cells

注: A. AS-miR-16-5p 影响 NSCLC A549 细胞愈合率的代表性图片 (200 \times); B. AS-miR-16-5p 影响 NSCLC A549 细胞愈合率的定量分析。与 Blank 组比较, ① $P < 0.05$; 与 miR-NC 组比较, ② $P < 0.05$

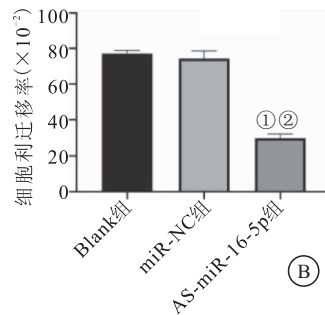
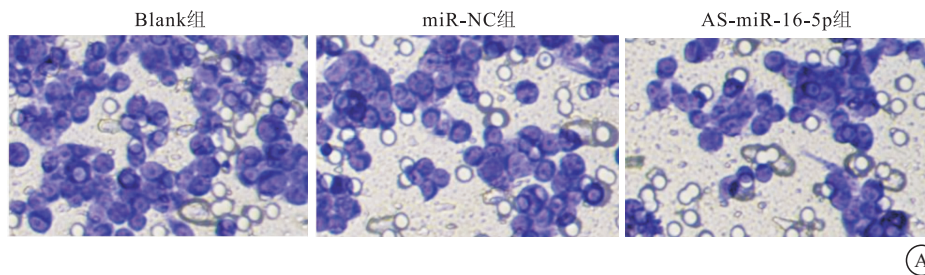


图 4 AS-miR-16-5p 对 NSCLC A549 细胞迁移能力的影响 (200 \times)

Figure 4 The effect of AS-miR-16-5p on the migration ability of NSCLC A549 cells

注: A. 各组 AS-miR-16-5p 影响 NSCLC A549 细胞迁移能力的代表性图片 (200 \times); B. AS-miR-16-5p 影响 NSCLC A549 细胞迁移能力的定量分析。与 Blank 组比较, ① $P < 0.05$; 与 miR-NC 组比较, ② $P < 0.05$

2.4 AS-miR-16-5p 对 PTEN/PI3K/AKT 通路蛋白表达的影响 与 miR-NC 组和 Blank 组相比, AS-miR-16-5p 组 PTEN 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$);

相反, PI3K 和 p-AKT 蛋白表达显著下降 ($P < 0.05$); 表明 AS-miR-16-5p 调节 PTEN/PI3K/AKT 通路蛋白表达, 见图 5。

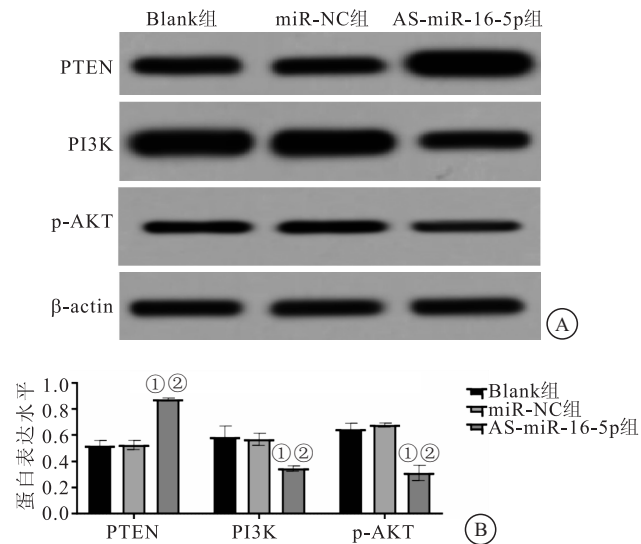


图 5 AS-miR-16-5p 对 PTEN/PI3K/AKT 通路蛋白表达的影响

Figure 5 The effect of AS-miR-16-5p on PTEN/PI3K/AKT pathway protein expression

注: A. AS-miR-16-5p 影响 PTEN/PI3K/AKT 通路表达的代表性图片; B. AS-miR-16-5p 影响 PTEN/PI3K/AKT 通路蛋白表达的定量分析。与 Blank 组比较, ① $P < 0.05$; 与 miR-NC 组比较, ② $P < 0.05$

3 讨论

NSCLC 是一种常见的呼吸系统恶性肿瘤, 其发病率和死亡率逐年增加, 占肺癌的总发病率 80% 左右^[10-11]。miRNA 是由 19-24 个核苷酸组成的内源性非编码 RNA, 与靶标 mRNA 的 5'-UTR 或 3'-UTR 互补位点结合以调节靶标基因的表达, 并进一步抑制翻译和降解靶标基因。目前发现的 miRNAs 达 1000 余种, 在癌症的疾病进程中呈现高表达或低表达, 发挥癌基因或抑癌基因的作用。miR-16-5p 是 miRNA-16 家族中的一个亚型, 现已明确 miR-16-5p 是一种抑癌基因, 在肿瘤的发生、发展过程中具有调节细胞增殖、迁移和侵袭的能力^[12-14]。在这项研究中, 发现转染细胞中 AS-miR-16-5p 表达降低。靶向 PTEN/PI3K/AKT 信号通路的 AS-miR-16-5p 通过调节细胞活性和迁移对 NSCLC 具有抗癌作用, 这可能为 NSCLC 的精确治疗提供理论参考。

PTEN/PI3K/AKT 通路参与细胞增殖、凋亡等多种生命活动^[15-18]。PTEN 为人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因, 是 NSCLC 中已知的预后标志物和肿瘤抑制因子, 同时具有脂质磷酸酶和蛋白磷酸酶活性^[19]。PTEN 的低表达或者失活能够增强 PI3K/AKT 信号通路活化。PI3Ks 家族包含在 PI3K/AKT 信号通路中, 通过调节抗肿瘤药物研究中的各种细胞过程, 成为重要的肿瘤靶标^[20-21]。有研究证实, 在许多肿瘤中减少或不存在的抑癌基因

PTEN 具有双重特异性磷酸酶活性, 其脂质磷酸酶活性通过灭活 PI3K/AKT 信号通路来阻止生物过程, 从而抑制肿瘤的发展^[22]。也有文献记载, PTEN 的失活通过激活 PI3K/AKT 信号通路增强了 NSCLC 细胞的侵袭能力, PTEN 表达的上调可以抑制 NSCLC 细胞增殖并促进细胞凋亡, 说明在 NSCLC 细胞中 PTEN 通过负调节 PI3K / Akt 通路来发挥其抑癌作用, 而 PI3K/Akt 通路在生长发育、增殖、凋亡、迁移、浸润过程中发挥重要作用^[23-25]。miR-16-5p 已经被证实参与肿瘤细胞的迁移、侵袭和血管生成^[26-28]。随后也被证实通过靶向 PTEN 靶标来调节细胞周期蛋白和 PI3K/AKT 信号通路来促进恶性黑色素瘤进展。本研究通过转染 AS-miR-16-5p 48 h 后 A549 细胞内 miR-16-5p 表达下调, 又分别通过 MTT 实验、划痕实验和 Transwell 实验, 证实 AS-miR-16-5p 能明显抑制 A549 细胞的活性和迁移。并且发现, 应用 AS-miR-16-5p 抑制 miR-16-5p 后, PTEN 蛋白表达增高, 证明 miR-16-5p 调控 PTEN 表达, 进而影响其下游 PI3K 和 AKT 蛋白表达。

4 结论

AS-miR-16-5p 能够抑制 NSCLC A549 细胞活性和迁移。此外, AS-miR-16-5p 通过负调控 PTEN/PI3K/AKT 信号通路有可能成为 NSCLC 新靶点之一。本研究为 NSCLC 的生物靶向治疗提供了新的思路和依据。

【参考文献】

- [1] 林安琪, 陈雨晴, 张小利, 等. 非小细胞肺癌免疫治疗“超进展”[J]. 肿瘤, 2019, 39(8): 680-690.
- [2] 董岩, 阿米娜·曲海, 蒋小君, 等. TRIP13 通过 Wnt/ β -catenin 信号通路促进非小细胞肺癌细胞的增殖与侵袭[J]. 西部医学, 2020, 32(12): 1728-1733.
- [3] JONNA S, SUBRAMANIAM DS. Molecular diagnostics and targeted therapies in non-small cell lung cancer (NSCLC): an update[J]. Discov Med, 2019, 27(148): 167-170.
- [4] 邢晓清, 赵婷, 刘洪涛, 等. 非小细胞肺癌基因变异与靶向治疗药物的选择[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(24): 2879-2883.
- [5] 刘玲玲, 高宏, 李夏平. 小细胞肺癌预后因素研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2021(3): 1-7.
- [6] 刘禹杉, 何馨彤, 杜芙蓉, 等. 非小细胞肺癌靶向治疗药物的临床研究进展[J]. 药物评价研究, 2021, 44(2): 432-439.
- [7] MINGARDI J, MUSAZZI L, DE PETRO G, et al. miRNA Editing: New Insights into the Fast Control of Gene Expression in Health and Disease[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(10): 7717-7727.
- [8] 何长征, 宋建霖, 胡时栋, 等. miRNAs 用于肿瘤诊治研究的临床试验进展[J]. 解放军医学院学报, 2020, 12: 1265-1269.

- [9] 杨军峰, 赵璞, 张全, 务森. PTEN 蛋白缺失与 PI3K 抑制剂对非小细胞肺癌的作用[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(23): 5783-5786.
- [10] HERBST RS, MORGENZTERN D, BOSHOFF C. The biology and management of non-small cell lung cancer[J]. *Nature*, 2018, 553(7689): 446-454.
- [11] 黄景慧, 夏晓阳, 陈爱民, 等. 吉非替尼联合 GP 化疗对非小细胞肺癌的疗效[J]. 西部医学, 2021, 33(9): 1348-1353.
- [12] REIS PP, DRIGO SA, CARVALHO RF, *et al.* Circulating miR-16-5p, miR-92a-3p, and miR-451a in Plasma from Lung Cancer Patients; Potential Application in Early Detection and a Regulatory Role in Tumorigenesis Pathways[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(8): 2071.
- [13] 赵天增, 黄国胜, 杨金华, 等. LncRNA MCM3AP-AS1 靶向调控 miR-16-5p 表达对肺癌细胞增殖、迁移侵袭的影响及机制[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(20): 4420-4424.
- [14] 常利普. 长链非编码 RNA SNHG16 靶向 miR-16-5p 调控胃癌细胞增殖、凋亡的机制[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(18): 3979-3983.
- [15] LIU MM, MA RH, NI ZJ, THAKUR K, *et al.* Apigenin 7-O-glucoside promotes cell apoptosis through the PTEN/PI3K/AKT pathway and inhibits cell migration in cervical cancer HeLa cells[J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 146: 111843.
- [16] QIU L, MA Z, LI X, *et al.* DJ-1 is involved in the multidrug resistance of SGC7901 gastric cancer cells through PTEN/PI3K/Akt/Nrf2 pathway[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 11: 1012-1214.
- [17] CAO HL, GU MQ, SUN Z, *et al.* miR-144-3p Contributes to the Development of Thyroid Tumors Through the PTEN/PI3K/AKT Pathway[J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 9845-9855.
- [18] ZHANG R, ZHU H, YUAN Y, *et al.* SPAG6 promotes cell proliferation and inhibits apoptosis through the PTEN/PI3K/AKT pathway in Burkitt lymphoma[J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(5): 2021-2030.
- [19] DAI K, RADIN DP, LEONARDI D. Deciphering the dual role and prognostic potential of PINK1 across cancer types[J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(4): 659-665.
- [20] XU F, GAO X, PAN H. Pectolarigenin inhibits nonsmall cell lung cancer progression by regulating the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(6): 3458-3468.
- [21] LU C, WANG H, CHEN S, *et al.* Baicalein inhibits cell growth and increases cisplatin sensitivity of A549 and H460 cells via miR-424-3p and targeting PTEN/PI3K/Akt pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(4): 2478-2487.
- [22] PEREZ-RAMIREZ C, CANADAS-GARRE M, MOLINA MA, *et al.* PTEN and PI3K/AKT in non-small-cell lung cancer[J]. *Pharmacogenomics*, 2015, 16(16): 1843-1862.
- [23] 杨军峰, 赵璞, 张全, 等. PTEN 蛋白缺失与 PI3K 抑制剂对非小细胞肺癌的作用[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(23): 5783-5786.
- [24] 胡爱妮, 王豫萍, 路毅斌, 等. miR-92a 靶向 PTEN/PI3K/Akt 通路抑制非小细胞肺癌细胞的自噬[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(13): 1301-1307.
- [25] 杨国良, 胡丹丹, 徐一凯, 等. 益气活血汤通过 miR-21/PTEN 信号通路抑制肺癌细胞恶性生物学行为[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2020, 25(5): 512-518.
- [26] GALVAN-ROMAN JM, LANCHO-SANCHEZ A, LUQUERO-BUENO S, *et al.* Usefulness of circulating microRNAs miR-146a and miR-16-5p as prognostic biomarkers in community-acquired pneumonia[J]. *Plos One*, 2020, 15(10): e240926.
- [27] WANG F, WANG W, LU L, *et al.* MicroRNA165p regulates cell survival, cell cycle and apoptosis by targeting AKT3 in prostate cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(3): 1282-1292.
- [28] ZHAO Z, JI M, WANG Q, *et al.* miR-16-5p/PDK4-Mediated Metabolic Reprogramming Is Involved in Chemoresistance of Cervical Cancer[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 17: 509-517.

(收稿日期: 2021-01-26; 修回日期: 2021-10-18; 编辑: 郭翠)

(上接第 15 页)

- [18] 杨伟才, 吴丹丹, 莫海龙. 地佐辛超前镇痛对腹腔镜手术患者血清炎症因子和自由基因子的影响[J]. 中国医学创新, 2019, 16(16): 54-57.
- [19] 毕紫鹏, 董河, 王立翠, 等. 地佐辛预处理对全脑缺血再灌注大鼠神经元凋亡作用[J]. 青岛大学学报(医学版), 2018, 54(3): 351-358.
- [20] INGO E, WANG J, THOMAS S, *et al.* Impact of Morphine Treatment on Infarct Size and Reperfusion Injury in Acute Reperfused ST-Elevation Myocardial Infarction[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(3): 735.
- [21] CAO L, CHAI SJ. miR-320-3p is involved in morphine pre-conditioning to protect rat cardiomyocytes from ischemia/reperfusion injury through targeting Akt3[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(2): 1480-1488.
- [22] 赵侠勇, 李彦平, 乔晓如, 等. 人参总皂苷和异氟醚预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠的保护作用[J]. 西部医学, 2020, 32(2): 189-193.
- [23] ZHONG ZW, ZHOU WC, SUN XF, *et al.* Dezocine regulates the malignant potential and aerobic glycolysis of liver cancer targeting Akt1/GSK-3 β pathway[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(7): 480-480.
- [24] ANDREAS K, MARTIN S, TORSTEN K, *et al.* Sympathetic nervous system controls resolution of inflammation via regulation of repulsive guidance molecule A[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 633-633.
- [25] SHOTA T, ATSUKI I, KOTARO M, *et al.* β 2-adrenergic stimulation induces interleukin-6 by increasing Arid5a, a stabilizer of mRNA, through cAMP/PKA/CREB pathway in cardiac fibroblasts[J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2020, 8(2): e00590.
- [26] WEN YH, HE J, XUE XF, *et al.* β -arrestin2 Inhibits Apoptosis and Liver Inflammation Induced by Ischemia-reperfusion in Mice via AKT and TLR4 Pathway[J]. *Arch Med Res*, 2019, 50(7): 413-422.

(收稿日期: 2021-01-25; 修回日期: 2021-04-12; 编辑: 郭翠)