

MiR-181a 和 MiR-216b 在冠心病患者 外周血单个核细胞中表达及意义

李强 陆士娟 黄康 张伟 钟赞蕊

(中南大学湘雅医学院附属海口医院心血管内科,海南 海口 570206)

【摘要】目的 探究 miR-181a 和 miR-216b 在冠心病(CHD)患者外周血单个核细胞(PBMC)中的表达及意义。**方法** 实时定量 PCR 检测 125 例 CHD 患者(观察组)和 50 例体检健康者(对照组)PBMC 中 miR-181a 和 miR-216b 的表达水平。向 CHD 患者 PBMC 中分别转染 miR-181a(miR-181a 组)、miR-216b(miR-216b 组)和对照质粒(NC 组)。利用实时定量 PCR 检测各组细胞 miR-181a 和 miR-216b 的表达水平,采用 MTT 法检测各组细胞增殖、流式细胞术检测细胞凋亡、划痕实验检测细胞迁移。**结果** 观察组患者 PBMC 中 miR-181a 和 miR-216b 的表达水平明显低于对照组($P < 0.05$)。转染后,miR-181a 组 PBMC 中 miR-181a 表达水平和 miR-216b 组 miR-216b 表达水平均分别高于 NC 组($P < 0.05$)。随着孵育时间延长,miR-181a 组和 miR-216b 组细胞增殖率无明显变化,凋亡率明显增加($P < 0.05$);NC 组细胞增殖率明显增加($P < 0.05$),凋亡率无明显变化。孵育相同时间时,miR-181a 组和 miR-216b 组细胞增殖率和划痕愈合率明显低于 NC 组($P < 0.05$),细胞凋亡率明显高于 NC 组($P < 0.05$)。**结论** miR-181a 和 miR-216b 在 CHD 患者 PBMC 中低表达,提升 miR-181a 和 miR-216b 的表达量可明显抑制 PBMC 增殖和迁移,诱导其发生凋亡。

【关键词】 miR-181a;miR-216b;冠心病;外周血单个核细胞

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2019.08.029

Expression and Significance of MiR-181a and MiR-216b in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Patients with Coronary Heart Disease

LI Qiang, LU Shijuan, HUANG Kang, ZHANG Wei, ZHONG Zanrui

(Department of Vasculocardiology, Haikou Hospital Affiliated to Xiangya Medicine School, Central South University, Haikou 570206, Hainan, China)

【Abstract】Objective To explore expression and significance of miR-181a and miR-216b in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of patients with coronary heart disease (CHD). **Methods** Real-time quantitative PCR was performed to detect expression levels of miR-181a and miR-216b in PBMC of 125 CHD patients (observation group) and 50 healthy people who underwent physical examination (control group). MiR-181a(miR-181a group), miR-216b (miR-216b group) and control plasmid (NC group) were transfected into PBMC of CHD patient respectively. Real-time quantitative PCR was performed to detect expression levels of miR-181a and miR-216b in each group. Cell proliferation was detected by MTT assay, apoptosis was detected by flow cytometry, and cell migration was detected by scratch assay. **Results** The expression levels of miR-181a and miR-216b in PBMC of observation group were significantly lower than those of control group ($P < 0.05$). After transfection, expression levels of miR-181a in miR-181a group and miR-216b in miR-216b group were higher than those in NC group respectively ($P < 0.05$). With prolongation of incubation time, there was no significant change in cell proliferation rate in miR-181a group and miR-216b group, while apoptosis rates were significantly increased ($P < 0.05$). The cell proliferation rate in NC group was significantly increased ($P < 0.05$), and there was no significant change in apoptosis rate. When incubation time was the same, cell proliferation rate and scratch healing rate in miR-181a group and miR-216b group were significantly lower than those in NC group ($P < 0.05$), while apoptosis rate was significantly higher than that in NC group ($P < 0.05$). **Conclusion** MiR-181a and miR-216b are lowly expressed in PBMC of CHD patients. Increasing expression quantities of miR-181a and miR-216b can

significantly inhibit proliferation and migration of PBMC, and induce apoptosis.

【Key words】MiR-181a; MiR-216b; Coronary heart disease; Peripheral blood mononuclear cell

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类由内源性基因编码的非编码单链 RNA 分子, 参与调控机体多种生物学功能, 在细胞的分化、增殖、凋亡、迁移以及多种生物组织的发育调节过程中发挥至关重要的作用, 介导各类疾病的发生和发展过程^[1]。冠心病 (coronary heart disease, CHD) 是冠状动脉粥样硬化性心脏病的简称, 是中老年人群常见的心血管疾病^[2]。研究显示, 近年来随着生活方式的改变和老龄化社会的到来, 中国 CHD 的发病率正逐年增加, 已成为导致老年人死亡的主要疾病之一^[3]。随着对 CHD 研究的进一步深入, 将其定义为慢性炎症性疾病, 而 miR-181a 和 miR-216b 为炎症相关性 miRNA^[4]。既往研究显示, miR-181a 可在一些炎症因子诱导后产生, 进而使炎症反应中的单个核细胞减少^[5]。miR-216b 则可通过上调核因子 κ B 促进淋巴细胞的增殖和分化来参与炎症反应的形成过程^[6]。但 miR-181a 和 miR-216b 在 CHD 的发生和发展过程中究竟发挥怎样的作用尚不得而知。现通过检测 CHD 患者外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) 中 miR-181a 和 miR-216b 的表达水平, 分析其对 PBMC 生物学行为的影响, 探究其在 CHD 患者 PBMC 中的表达情况及意义, 为临床治疗 CHD 提供理论参考。

1 资料与方法

1.1 主要试剂及仪器

主要试剂: DEME 细胞培养基 (美国 Life Technology 公司)、胰蛋白酶 (美国 ScienCell 公司)、胎牛血清 (美国 ScienCell 公司)、miR-181a 和 miR-216b 类似物及阴性对照质粒 (上海吉玛生物公司)、RNA 提取试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司)、MTT 试剂 (上海江林生物科技有限公司)、流式细胞分析试剂盒 (美国 Thermo 公司)。主要仪器: 恒温细胞培养箱 (美国 Thermo 公司)、酶标仪 (上海赛默飞世尔公司)、离心机 (美国贝克曼公司) 和流式细胞仪 (美国 FCMXBD 公司)、PCR 扩增仪 (上海赛默飞世尔公司)、倒置荧光显微镜 (日本奥林巴斯公司)。

1.2 方法

1.2.1 研究对象

选取 2016 年 9 月—2018 年 9 月在本院接受治疗的 CHD 患者 125 例为研究对象, 设为观察组。纳入标准: (1) 所有患者均符合 CHD 的诊断标准^[7], 且经冠状动脉造影确诊; (2) 患者知情本研究并签署知情同意书。排除标准: (1) 妊娠及哺乳期妇女; (2) 合并其

他类型慢性疾病者; (3) 合并恶性肿瘤疾病者; (4) 合并急慢性肝功能和肾功能衰竭者。其中, 男性 74 例, 女性 51 例; 年龄 43 ~ 75 岁, 平均年龄 (58.25 ± 5.89) 岁; 单支血管病变者 39 例, 双支血管病变者 48 例, 三支及以上血管病变者 38 例; 疾病类型: 稳定型心绞痛 44 例, 不稳定型心绞痛 42 例, 急性心肌梗死 39 例。同期选择 50 例体检健康者为本研究健康对照组, 其中男性 29 例, 女性 21 例; 年龄 42 ~ 74 岁, 平均 (57.69 ± 6.03) 岁。观察组与对照组患者性别及年龄比较无明显差异 ($P > 0.05$), 本研究经本院伦理委员会批准实施。

1.2.2 PBMC 收集

两组患者入院后 24 h 内采集外周静脉血 10 mL, 置于肝素抗凝管中, 经离心后去上清, 使用磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 稀释并转移到含淋巴细胞分离液上, 采用密度梯度离心法收集各组患者 PBMC。

1.2.3 细胞转染

将收集的 CHD 患者 PBMC 分散于细胞培养基, 接种于 6 孔板, 调整细胞密度为 2×10^6 个/孔, 置于恒温细胞培养箱中孵育。将细胞分为 miR-181a 组、miR-216b 组和阴性对照组 (NC 组)。转染前 24 h 接种细胞, 将 miR-181a 和 miR-216b 分别转染于 miR-181a 组和 miR-216b 组细胞中, 将对照质粒转染至 NC 组细胞, 按照转染试剂操作步骤进行转染。

1.2.4 实时定量 PCR 检测 miR-181a 和 miR-216b 的表达

采用 TRIzol 试剂盒提取观察组和对照组患者 PBMC 及转染后各组 PBMC 细胞中总 RNA, 然后用 Fermentas 公司生产的两步法 RNA 提取试剂盒将 RNA 转录成 cDNA。选择待检测基因的合适上下游引物, 以 cDNA 为模板, 采用 PCR 方法扩增待检测基因。以 GAPDH 为内参, 扩增结束后绘制溶解曲线, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 miR-181a 和 miR-216b 的相对表达量。

1.2.5 MTT 实验检测细胞增殖

将转染后的 PBMC 进行传代培养, 取处于对数生长期的各组 PBMC, 采用细胞培养基稀释成密度为 1×10^5 个/mL 的细胞悬液, 接种于 96 孔培养板中, 200 μ L/孔, 每组设置 6 个复孔, 置于细胞培养箱中孵育, 分别培养 24 h、48 h、72 h 后, 加入 15 μ L MTT 溶液 (质量浓度为 5 mg/mL), 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h。弃上清, 各孔加入 100 μ L DMSO 溶解 MTT 结晶, 轻轻震荡, 10 min 后酶标仪测 OD 值 ($\lambda = 490$ nm), 并计算细胞增殖率。

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡

细胞转染 24 h、48 h 和 72 h 后,采用 PBS 清洗 PBMC,离心后去上清。然后按照试剂盒说明书操作:用缓冲液重悬细胞,加入 5 μ L Annexin V-FITC 染色,并于暗处室温孵育 15 min,再加入 5 μ L PI 染色,静置 5 min 后用流式细胞仪检测其凋亡情况。每组重复 3 次计算平均值。

1.2.7 划痕实验检测细胞迁移

将转染后的 PBMC 进行传代培养,取处于对数生长期的各组 PBMC,置于恒温培养箱 (37 $^{\circ}$ C、5% CO₂) 中孵育,待细胞融合率为 90% 时,采用枪头 (200 μ L) 垂直于 6 孔板底部做横线划痕,采用倒置荧光显微镜下观察划痕区域宽度并拍照。随后继续置于培养箱 (37 $^{\circ}$ C、5% CO₂) 中孵育 24 h 后于倒置荧光显微镜下观察划痕区域宽度变化并拍照。采用 Image J 软件测量划痕区域宽度,计算各组细胞相对应的细胞划痕愈合率,每组细胞设置 3 个复孔,取平均值作为最终结果。

1.3 统计学方法

以 SPSS20.0 统计学软件和 Origin8.0 软件进行数据处理及绘图。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用 *t* 检验比较;计数资料采用频数表示,进行 χ^2 检验。所有检验均为双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学

意义。

2 结果

2.1 两组患者 PBMC 中 miR-181a 和 miR-216b 相对表达量比较

观察组 PBMC 中 miR-181a 和 miR-216b 表达水平明显低于对照组 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组患者 PBMC 中 miR-181a 和 miR-216b 相对表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-181a	miR-216b
观察组	125	1.52 \pm 0.23	1.63 \pm 0.32
对照组	50	2.10 \pm 0.36	2.04 \pm 0.31
<i>t</i>		12.688	7.725
<i>P</i>		0.000	0.000

2.2 不同组 PBMC 中 miR-181a 和 miR-216b 的相对表达量比较

向 PBMC 中转染 miR-181a 后,miR-181a 组细胞中 miR-181a 相对表达量为 (3.14 \pm 0.51),明显高于 NC 组的 (1.53 \pm 0.29) ($t = 4.753, P = 0.009$);向 PBMC 中转染 miR-216b 后,miR-216b 组细胞中 miR-216b 相对表达量为 (3.26 \pm 0.49),明显高于 NC 组的 (1.61 \pm 0.35) ($t = 4.746, P = 0.009$),见图 1。

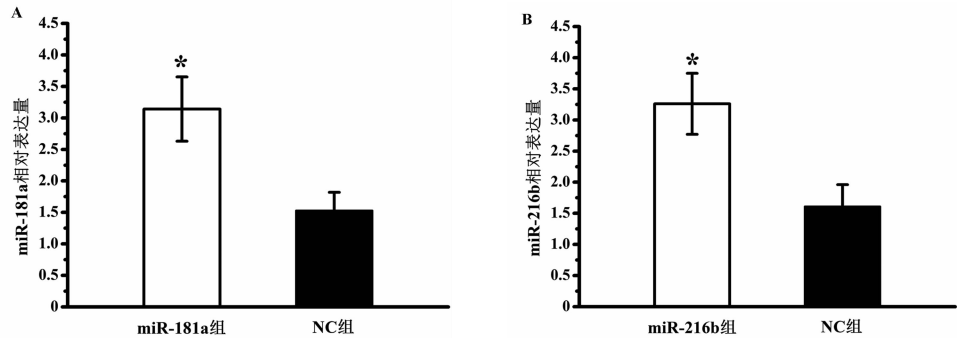


图 1 (A) 不同组 PBMC 中 miR-181a 表达水平比较; (B) 不同组 PBMC 中 miR-216b 表达水平比较

注:与 NC 组比较, * $P < 0.05$ 。

2.3 miR-181a 和 miR-216b 对 PBMC 细胞增殖的影响

随着孵育时间的延长,miR-181a 组和 miR-216b 组细胞增殖率无明显变化 ($P > 0.05$),而 NC 组细胞增殖率明显增加 ($P < 0.05$)。在相同时间点,miR-181a 组和 miR-216b 组细胞增殖率均明显低于 NC 组 ($P < 0.05$),见表 2 和图 2。

2.4 miR-181a 和 miR-216b 对 PBMC 细胞凋亡的影响

随着孵育时间的延长,NC 组 PBMC 细胞凋亡率无明显变化 ($P > 0.05$),miR-181a 组和 miR-216b 组细

胞凋亡率明显增加 ($P < 0.05$)。在相同时间点,miR-181a 组和 miR-216b 组细胞凋亡率均明显高于 NC 组 ($P < 0.05$),见表 3 和图 3。

表 2 不同组 PBMC 不同时间点细胞增殖率比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

孵育时间 (h)	miR-181a 组	miR-216b 组	NC 组
24	15.32 \pm 2.03 *	15.87 \pm 2.14 *	19.12 \pm 1.09
48	17.23 \pm 3.12 *	16.98 \pm 3.01 *	31.25 \pm 3.06
72	18.25 \pm 2.87 *	18.14 \pm 2.66 *	42.13 \pm 3.98
<i>F</i>	1.802	1.120	45.182
<i>P</i>	0.199	0.352	0.000

注:与 NC 组比较, * $P < 0.05$ 。

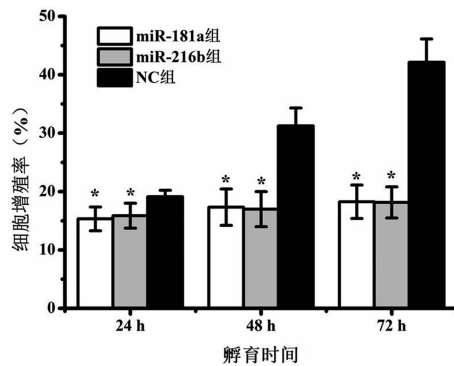


图2 不同组 PBMC 不同时间点细胞增殖率比较

注:与 NC 组比较, * $P < 0.05$ 。表3 不同组 PBMC 不同时间点细胞凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

孵育时间(h)	miR-181a 组	miR-216b 组	NC 组
24	16.87 ± 1.25 *	17.23 ± 2.31 *	10.48 ± 1.30
48	27.36 ± 3.69 *	27.45 ± 3.02 *	12.65 ± 1.45
72	38.69 ± 3.58 *	39.26 ± 3.24 *	13.26 ± 1.66
F	41.355	87.670	2.237
P	0.000	0.000	0.188

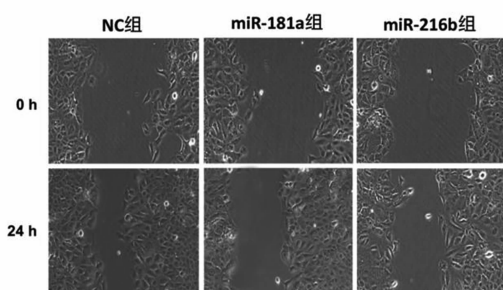
注:与 NC 组比较, * $P < 0.05$ 。

图4 三组 PBMC 细胞划痕愈合率比较

注:与 NC 组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

CHD 是临床常见的心血管疾病,居致死病因第二位,严重威胁人们的生命健康,给社会和国家带来沉重的疾病负担^[8]。研究显示,动脉粥样硬化导致冠状动脉狭窄是 CHD 的主要致病基础。大量研究证实,动脉粥样硬化是一种慢性病变过程,涉及血管内皮损伤、平滑肌细胞增殖和迁移以及炎症介质释放等多个生理病理过程^[9]。MiRNA 作为一类内源性非编码 RNA,能在转录后水平调控各类基因的表达,参与机体的生理病理过程,在动脉粥样硬化和冠心病的发生和发展过程中发挥至关重要的作用^[10]。

MiR-181a 为 miR-181 家族成员之一,广泛存在于机体各类细胞中,参与调节细胞的增殖、分化、凋亡和

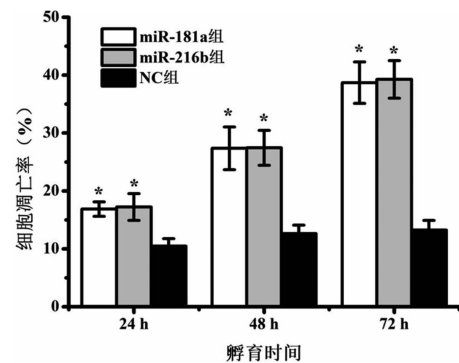
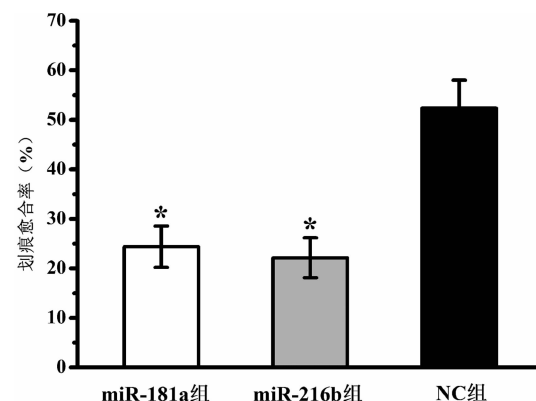


图3 不同组 PBMC 不同时间点细胞凋亡率比较

注:与 NC 组比较, * $P < 0.05$ 。

2.5 miR-181a 和 miR-216b 对 PBMC 细胞迁移的影响

孵育 24 h 后,miR-181a 组和 miR-216b 组划痕愈合率分别为 $(24.38 \pm 4.17)\%$ 和 $(22.15 \pm 4.01)\%$,均明显低于 NC 组的 $(52.36 \pm 5.64)\%$ ($t = 9.771$ 、 10.693 , $P < 0.05$),见图 4。



迁移等生物学过程,与各类疾病的发生和发展相关。Zhang 等^[11]研究发现,miR-181a 在结直肠癌组织中低表达,miR-181a 可通过靶向调控 FUT1 的表达抑制结直肠癌细胞的增殖、侵袭、迁移和血管形成,从而发挥抗癌作用。高敬等^[12]研究显示,miR-181a 可负向调控骨保护素的蛋白水平,进而影响破骨细胞活性,防止骨质疏松发生。本研究发现,相比 miR-181a 在 CHD 患者 PBMC 中异常低表达,提示 miR-181a 与动脉粥样硬化过程以及 CHD 的发生和发展相关,而这结果在 Liu 等^[13]的研究中也得到证实。CHD 被认为是一种慢性炎症性疾病,炎症反应是诱发和加重 CHD 的关键环节。PBMC 包含淋巴细胞和单核细胞,二者均是重要的炎症反应细胞,在 CHD 患者机体炎症反应调节

中发挥重要作用^[14]。本研究结果显示,在转染 miR-181a 后,PBMC 高表达 miR-181a,相应的 miR-181a 组细胞增殖率明显降低,而细胞凋亡率明显升高,提示 miR-181a 可抑制 PBMC 增殖,并诱导其发生凋亡。PBMC 增殖的抑制和凋亡的促进将明显降低 PBMC 数量,而 PBMC 作为炎症反应细胞,其数量的降低可明显抑制机体炎症反应,抑制动脉粥样硬化过程,实现对 CHD 的防治。陆攀等^[15]认为,miR-181a 可通过调节核因子 κ B 通路调节血管炎性,延缓动脉粥样硬化过程,与本研究结果相符。动脉粥样硬化学说认为,炎症细胞较强的迁移能力也是导致动脉粥样硬化性疾病患者机体炎症反应加剧、加速粥样硬化进程的关键因素之一^[16]。本研究发现,经转染后 miR-181a 组细胞高表达 miR-181a,而 PBMC 的迁移能力得到明显抑制,提示 miR-181a 可有效抑制 PBMC 发生迁移,可明显抑制机体炎症反应的进一步发展,发挥抗炎作用。

据报道,miR-216b 在多种肿瘤组织和细胞中低表达并发挥很好的抑癌作用^[17]。近年来,随着科研人员对 miR-216b 研究的进一步深入,发现 miR-216b 不仅参与各类肿瘤疾病的发生和发展过程,与其他类型疾病间也存在一定联系。Suling 等^[18]研究发现血清 miR-216b 水平与心肌损伤程度密切相关,抑制 miR-216b 表达可明显加重心肌损伤程度。而 Zhang 等^[19]研究发现,急性髓系白血病患者体内高表达 miR-216b,高表达是导致急性髓系白血病发生的独立危险因素。研究结果显示,miR-216b 在 CHD 患者 PBMC 中异常低表达,提示 miR-216b 可能与 CHD 的发生发展相关。通过细胞转染提升 PBMC 中 miR-216b 表达量后,miR-216b 组细胞增殖和迁移得到明显抑制,相应的细胞凋亡率明显增加,说明 miR-216b 可抑制 PBMC 增殖,诱导凋亡。作为炎症细胞的 PBMC 在 CHD 的发生和发展中发挥重要作用,PBMC 可分泌大量炎症因子,加重机体炎症状态,而炎症反应是导致动脉粥样硬化、破坏心血管功能的关键因素,也是 CHD 的致病原因之一。本研究结果提示 miR-216b 可通过抑制 PBMC 增殖和迁移并诱导其发生凋亡来降低机体 PBMC 数量,从而减轻机体炎症反应状态,在 CHD 患者中发挥保护作用,这一结果在 Yang 等^[20]研究中也得到证实。

综上所述,miR-181a 和 miR-216b 在 CHD 患者 PBMC 中低表达,提升 miR-181a 和 miR-216b 表达量

可明显抑制 PBMC 的增殖和迁移,诱导其发生凋亡,改善机体炎症状态,发挥很好的保护作用。本研究通过细胞实验发现,miR-181a 和 miR-216b 可通过影响 PBMC 生物学行为发挥对 CHD 患者的保护作用,但其具体作用机制仍不清楚,尚需后续研究作进一步探讨。

参考文献

- [1] 彭然,彭佳,李向平. 超声心动图在冠心病评价中的应用和进展[J]. 心血管病学进展,2018,39(5):55-59.
- [2] Ruiping Z. Inflammatory biomarkers of coronary heart disease[J]. *Front Biosci*,2017,22(3):504-515.
- [3] Yang L, Liu Y, Wang SF, et al. Association between Lp-PLA2 and coronary heart disease in Chinese patients[J]. *J Int Med Res*,2017,45(1):159-169.
- [4] Ruiping Z. Inflammatory biomarkers of coronary heart disease[J]. *Front Biosci*,2017,22(3):504-515.
- [5] Jiang K, Guo S, Zhang T, et al. Downregulation of TLR4 by miR-181a provides negative feedback regulation to lipopolysaccharide-induced inflammation[J]. *Front Pharmacol*,2018,9:142.
- [6] Chen X, Liu X, He B, et al. MiR-216b functions as a tumor suppressor by targeting HMGB1-mediated JAK2/STAT3 signaling way in colorectal cancer[J]. *Am J Cancer Res*,2017,7(10):2051-2069.
- [7] Gevorgyan MM, Voronina NP, Goncharova NV, et al. Cystatin C as a marker of progressing cardiovascular events during coronary heart disease[J]. *Bull Exp Biol Med*,2017,162(4):421-424.
- [8] Wirtz PH, von Känel R. Psychological stress, inflammation, and coronary heart disease[J]. *Curr Cardiol Rep*,2017,19(11):111-115.
- [9] 陈斌. 同型半胱氨酸、叶酸代谢与冠心病的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2018,39(2):291-294.
- [10] Xu L, You L, Zhou R, et al. Significant association between functional microRNA polymorphisms and coronary heart disease susceptibility: a comprehensive meta-analysis involving 16 484 subjects[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(4): 5692-5702.
- [11] Zhang X, Li X, Tan F, et al. STAT1 inhibits miR-181a expression to suppress colorectal cancer cell proliferation through PTEN/Akt[J]. *J Cell Biochem*, 2017,118(10):3435-3443.
- [12] 高敬,邵秉一. miR-181a 调控骨髓间充质干细胞中 OPC 水平及对破骨细胞活性的影响[J]. 中国细胞生物学学报,2017,39(1):52-59.
- [13] Liu G, Li Y, Gao XG. microRNA-181a is upregulated in human atherosclerosis plaques and involves in the oxidative stress-induced endothelial cell dysfunction through direct targeting Bcl-2[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016,20(14):3092-3100.
- [14] Amit KS, Harsh VS, Arun R, et al. C-reactive protein, inflammation and coronary heart disease[J]. *Egyptian Heart J*,2015,67(2):89-97.
- [15] 陆攀,宋佳希. miR-181 在动脉粥样硬化相关血管炎症和免疫调节中的研究进展[J]. 临床检验杂志,2017,35(2):125-128.
- [16] Fredman G, Tabas I. Boosting inflammation resolution in atherosclerosis[J]. *Am J Pathol*,2017,187(6):1211-1221.
- [17] Chen X, Liu X, He B, et al. MiR-216b functions as a tumor suppressor by targeting HMGB1-mediated JAK2/STAT3 signaling way in colorectal cancer[J]. *Am J Cancer Res*,2017,7(10):2051-2069.

- [18] Suling D, Mieradilijiang A, Zhe LZ, et al. Histamine deficiency aggravates cardiac injury through miR-206/216b-Atg13 axis-mediated autophagic-dependant apoptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6):694-652.
- [19] Zhang TJ, Wu DH, Zhou JD, et al. Overexpression of miR-216b: prognostic and predictive value in acute myeloid leukemia[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 233(4): 3274-3281.
- [20] Yang BF, Lu YJ, Wang ZG. MicroRNAs and apoptosis: implications in the molecular therapy of human disease[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(10):951-960.

收稿日期:2019-06-19

我刊增加论著栏目的启事

我刊 2019 年起新增论著栏目,论著投稿注意事项如下。

1. 论著文章 5 000 字以内(包括摘要、图表及参考文献);论著采用结构式摘要(含目的、方法、结果、结论),摘要篇幅以 200~400 个汉字符为宜,并有完整的英文摘要(含文题、作者、单位、摘要、关键词);关键词以 3~8 个为宜;论著引用参考文献要求达到 20 条以上。

2. 论文如属国家自然科学基金项目或省、部级以上重点攻关课题、其他科研基金资助的项目,请在文稿首页脚注“【基金项目】×××科研资助项目(编号)”,如获专利请注明专利号。本刊对重大研究成果、国家自然科学基金、卫生部科研基金、省科技厅项目,将优先发表。

3. 本刊已全部实行网上投稿,请通过《心血管病学进展》杂志的稿件远程处理系统投稿(登录 <http://xxgbxzz.paperopen.com> 后,点击“作者投稿”,在“作者投稿管理平台”中投稿)。网上投稿成功后还需报送以下材料:(1)稿件处理费 50 元(可通过手机银行转账)。(2)推荐信(可发电子版):来稿需经作者单位审核,并附单位推荐信。推荐信应注明对稿件的审评意见以及无一稿两投、不涉及保密、署名无争议等项,并加盖公章。如涉及保密问题,需附有关部门审查同意发表的证明。(3)若此项研究为基金项目者,需附基金批文复印件(可发电子版)。

《心血管病学进展》编辑部