

## 蒽环类药物致心脏毒性潜在的生物标志物研究

赵恒<sup>1</sup> 谭琦<sup>2</sup> 杜晓宇<sup>1</sup> 谷泽慧<sup>2</sup> 王亚帝<sup>3</sup>

(1. 锦州医科大学第三临床学院, 辽宁 锦州 121000; 2. 锦州医科大学附属第三医院病理科, 辽宁 锦州 121000; 3. 锦州医科大学附属第三医院精准医学科, 辽宁 锦州 121000)

**【摘要】目的** 对蒽环类药物致心脏毒性相关的基因表达数据集进行分析, 寻找关键调控信使 RNA (mRNA) 及靶向微小 RNA (miRNA), 为蒽环类药物致心肌损伤提供早期诊断标志物。**方法** 利用 GEO 数据库获得蒽环类药物所致心脏毒性的相关基因表达谱数据 (GSE76314), 其对特异性人诱导多能干细胞源性心肌细胞使用 0  $\mu\text{mol}$  (A 组)、1  $\mu\text{mol}$  (B 组) 阿霉素诱导 24 h 的 mRNA 表达数据进行差异性分析, 获得差异性 mRNA 表达谱; 通过基因本体功能注释及京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 信号通路富集分析差异表达 mRNA 发挥的功能; 对所有差异表达基因进行二次筛选, 界定  $|FC| > 2$  为明显差异表达基因, 分别对上调和下调基因进行靶向 miRNA 预测。筛选出目标 miRNA, 使用 5  $\mu\text{mol}$  吡柔比星诱导人心肌细胞后, 通过 qPCR 验证目标 miRNA 表达情况。**结果** 数据集 GSE76314 得到上调基因 10 个, 下调基因 7 个 ( $|FC| > 2, P < 0.05$ ), 基因本体分析发现, 差异表达基因主要在细胞黏附及脂质代谢等方面发挥调控作用; KEGG 通路富集差异表达基因主要参与 PPAR, p53 和甾体生物合成等信号通路。对明显差异表达基因经 miRanda 和 TargetScan 软件进行靶向 miRNA 预测, 选取条件为  $\text{Score} > 170, \text{Energie} < -30$ , 发现 miR-1273g-3p 是金属硫蛋白 1F 与 S 期激酶相关蛋白 2 的共同靶向 miRNA, miR-1273g-3p 可能在蒽环类药物导致的心肌损伤中发挥重要的调控作用。qPCR 结果显示, 经吡柔比星诱导后的人心肌细胞中 miR-1273g-3p 表达水平明显高于对照组。**结论** miR-1273g-3p 可能通过重点调控金属硫蛋白 1F 和 S 期激酶相关蛋白 2 在蒽环类药物致心肌损伤的发生和发展中发挥重要作用, 成为蒽环类药物致心肌损伤的有效的临床标志物。

**【关键词】** 生物信息学; 乳腺癌; 心脏毒性; 微小 RNA

**【DOI】** 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2022.03.022

## Potential Biomarkers of Anthracycline-Induced Cardiotoxicity

ZHAO Heng<sup>1</sup>, TAN Qi<sup>2</sup>, DU Xiaoyu<sup>1</sup>, GU Zehui<sup>2</sup>, WANG Yadi<sup>3</sup>

(1. The Third Clinical College of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning, China; 2. Department of Pathology, The Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning, China; 3. Department of Precision Medicine, The Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning, China)

**【Abstract】Objective** To analyze the gene expression data set related to cardiotoxicity caused by anthracyclines, find key regulatory mRNA and targeted miRNA, and provide early diagnostic markers for myocardial injury caused by anthracyclines. **Methods** The GEO database was used to obtain anthracycline-induced cardiotoxicity-related gene expression profile data (GSE76314), which used 0  $\mu\text{mol}$  (group A), 1  $\mu\text{mol}$  (group B) for specific human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes doxorubicin-induced mRNA expression data for 24 hours for differential analysis to obtain differential mRNA expression profiles. The function of differentially expressed mRNA was analyzed by gene ontology (GO) function annotation and signal pathway enrichment of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). All differentially expressed genes were screened again, and  $|FC| > 2$  was defined as significantly differentially expressed genes. The up-regulated and down-regulated genes were predicted by targeted miRNA respectively. After screening out the target miRNA, using 5  $\mu\text{mol}$  THP to induce human cardiomyocyte, the expression of the target miRNA was verified by qPCR. **Results** In the data set GSE76314, 10 up-regulated genes and 7 down-regulated genes were obtained ( $|FC| > 2, P < 0.05$ ). GO analysis found that differentially expressed genes mainly play a regulatory role in cell adhesion and lipid metabolism. The enrichment of differentially expressed genes in the KEGG pathway is mainly involved in signal pathways such as PPAR, p53 and steroid biosynthesis. Targeted miRNAs were predicted by miRanda and TargetScan software for obviously differentially expressed genes, and the conditions of  $\text{Score} > 170$  and  $\text{Energie} < -30$  were selected, and it was found that miR-1273g-3p is the co-targeting miRNA of metallothionein 1F and S-phase kinase related protein 2, and miR-1273g-3p may play an important regulatory role in anthracycline-induced myocardial injury. The qPCR results showed that the expression level of miR-1273g-3p in

基金项目: 辽宁省大学生创新基金 (201710160000012)

通信作者: 王亚帝, E-mail: yadi2006215@126.com

human cardiomyocytes induced by THP was significantly higher than that in the control group. **Conclusion** miR-1273g-3p may play an important role in the occurrence and development of anthracycline-induced myocardial injury through the key regulation of metallothionein 1F and S-phase kinase related protein 2, and become an effective clinical marker of anthracycline-induced myocardial injury.

**【Key words】** Bioinformatics; Breast cancer; Cardiotoxicity; microRNA

乳腺癌以蒽环类药物(阿霉素、表阿霉素和吡喃阿霉素等)为基础的联合治疗通常是一线治疗的标准方案,其疗效确切,不可或缺,但常由于心脏毒性副作用的产生,使患者不得不中止蒽环类药物的使用,从而影响乳腺癌的治疗效果<sup>[1]</sup>。通过临床研究和实践观察发现,心脏毒性作为蒽环类药物最严重的毒副作用,往往呈现进展性和不可逆性,特别是初次使用蒽环类药物的乳腺癌患者就可能造成其心脏损伤<sup>[2]</sup>。目前对于此类患者缺乏较好的治疗策略,而如今的诊断手段和治疗水平也不能有效地降低该类患者心脏损伤的发生率,究其原因主要在于蒽环类药物导致的心脏毒性是多因素和多步骤的复杂过程,目前的研究尚不足以完全揭示其发生和发展机制。所以寻求早期特异性诊断指标及有效判断预后的方法显得尤为重要。

本研究通过对蒽环类药物所致乳腺癌患者产生心脏毒性的微阵列芯片表达数据集进行差异分析,获得乳腺癌经蒽环类药物化疗后所致心脏毒性相关差异表达基因,通过生物信息学预测其相关的靶向微小RNA(microRNA, miRNA)并加以验证,从分子层面阐述 miRNA 在蒽环类药物致心脏毒性过程中发挥的生物学功能及主要作用机制,对全面分析蒽环类药物致心脏毒性的相关作用机制提供了理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据挖掘与分析

GEO 数据库挖掘与芯片数据集获取:从美国国家生物技术信息中心的 GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)进行芯片样本筛选(登录号 GSE76314),芯片通过使用阿霉素诱导乳腺癌患者的特异性人诱导多能干细胞源性心肌细胞(hiPSC-CMs)重现个人对阿霉素引起的心脏毒性过程中信使 RNA(messenger RNA, mRNA)的不同表达情况进行研究,从分子角度解释乳腺癌患者使用阿霉素引起心脏毒性过程的机制。该研究使用 1  $\mu\text{mol}$  阿霉素诱导 6 例

乳腺癌患者的 hiPSC-CMs 细胞 24 h,检测其 mRNA 的差异表达情况。对于每一个样本,所有探针的基因表达值简化为一个相对确定的平均基因表达值。而后估算缺失数据以及进行四分位的数据规范化。为避免多测试问题所导致的假阳性结果,应用本杰明·霍赫贝格法来修正原发  $P$  值为错误发现率,错误发现率  $<0.05$  为临界点。

### 1.2 基因本体分析

基因本体(gene ontology, GO)分析用来生成一个动态的受控词汇(字符表)应用于所有的真核生物基因组研究中。GO 分析常用于研究和分析大规模的基因组和转录组数据,差异表达基因数据根据表达趋势的不同被分为上调和下调组,然后使用基因集执行分析工具包进行 GO 分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 1.3 京都基因和基因组百科全书信号通路富集分析

对于差异表达基因的功能注释,京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路的富集表达使用 KAAS 界定。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 1.4 明显差异表达基因的靶向 miRNA 预测

使用 TargetScan 7.2([http://www.targetscan.org/vert\\_72/](http://www.targetscan.org/vert_72/))和 miRanda(<http://www.miranda.org/>)对明显差异表达基因的靶向 miRNA 进行预测,为降低预测的假阳性率,对两个数据库结果取交集后进行后续筛选。

### 1.5 qPCR 验证预测

使用 0  $\mu\text{mol}$ 、5  $\mu\text{mol}$  吡柔比星对人心肌细胞诱导 24 h 后,使用 PCR 仪进行扩增(94  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  15 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  10 s, 采集荧光信号 40~45 个循环),检测目标 miRNA 的相对表达量,采用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  表示,其中  $\Delta\Delta\text{CT} = \Delta\text{CT}(\text{标准基因}) - \Delta\text{CT}(\text{目的基因})$ 。引物序列见表 1。

表 1 miR-1273g-3p 引物序列

miRNA	正向序列(5'-3')	反向序列(5'-3')
hsa-miR-1273g-3p	ACACTCCAGCTGGGACCACTGCACTCCAGCC	CTCAACTGGTGTCTGGA

## 2 结果

### 2.1 差异表达基因及其生物学功能分析

通过对 GSE76314 数据集进行差异表达基因的分

析及筛选,发现共有差异表达基因 21 615 个,其中上调表达基因 9 814 个,下调表达基因 8 985 个,无变化的基因 2 816 个。其中  $P < 0.05$  的基因共有 636 个,

上调表达基因 287 个, 下调表达基因 349 个, 界定 |FC| > 2 为明显差异表达基因并列出, 见表 2 和表 3。

表 2 表达上调的差异基因列表

基因名称	差异倍数	表达趋势	P 值
SNORD97	2.795 779 957	上调	0.047 628 882
CSRP3	2.632 639 938	上调	0.000 498 411
ANGPTL4	2.326 971 721	上调	0.042 783 448
PDK4	2.287 912 779	上调	0.010 163 816
MT1F	2.261 220 752	上调	0.024 828 934
SLC25A48	2.230 265 524	上调	0.027 976 740
MYLK3	2.124 887 807	上调	0.028 674 000
EDA2R	2.095 656 906	上调	0.028 713 490
TNFRSF10C	2.053 101 818	上调	0.025 053 064
TECRL	2.007 666 510	上调	0.039 270 747

注: MT1F 为金属硫蛋白 1F。

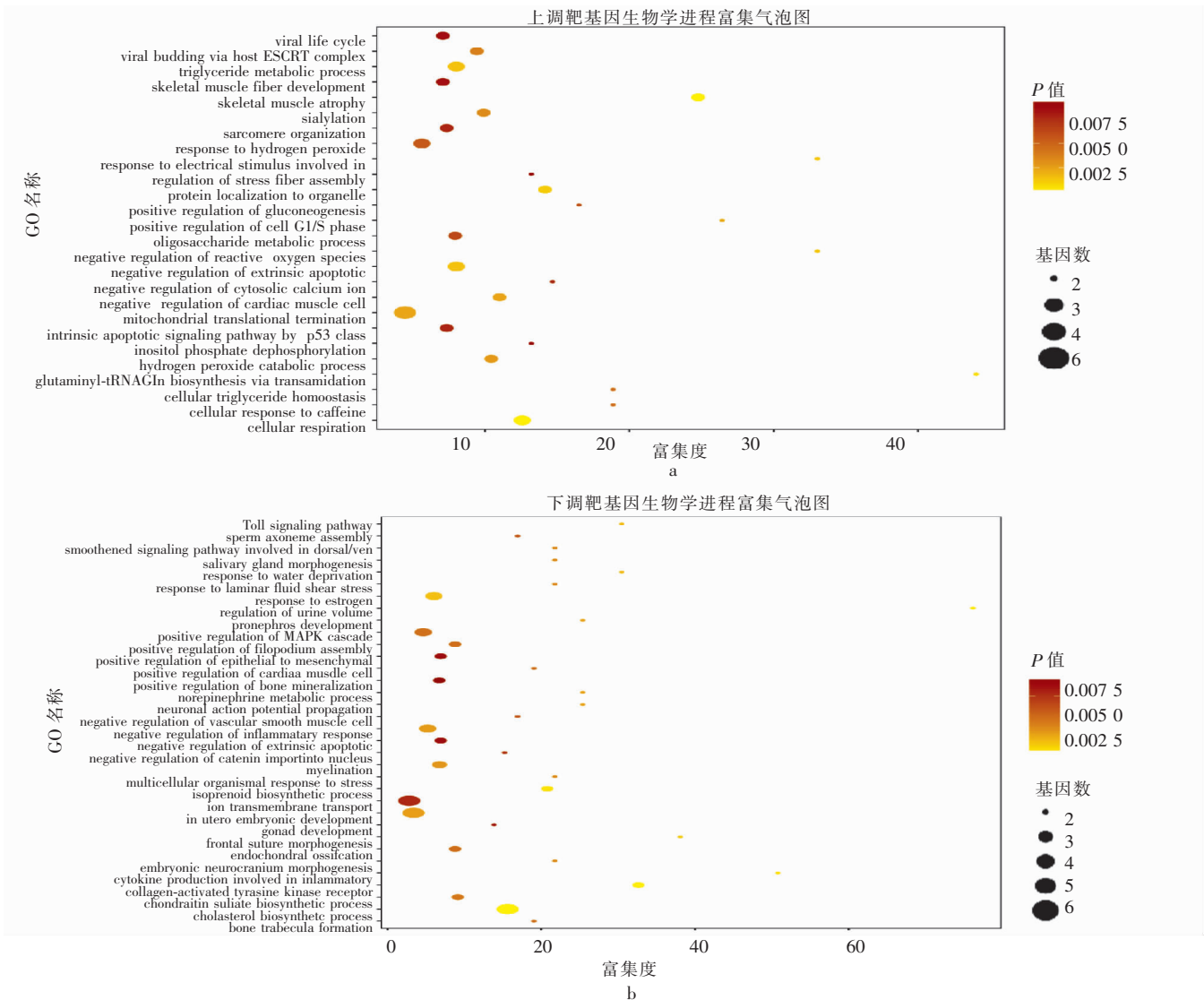
表 3 表达下调的差异基因列表

基因名称	差异倍数	表达趋势	P 值
EPAS1	-2.909 349 280	下调	0.000 897 478
PDLIM2	-2.383 396 378	下调	0.039 150 259
ACAT2	-2.235 536 737	下调	0.002 960 061
SKP2	-2.209 029 084	下调	0.045 942 546
C5orf46	-2.195 471 787	下调	0.023 226 162
KIAA1199	-2.086 298 509	下调	0.027 525 041
OSR1	-2.074 086 571	下调	0.033 662 886

注: SKP2 为 S 期激酶相关蛋白 2。

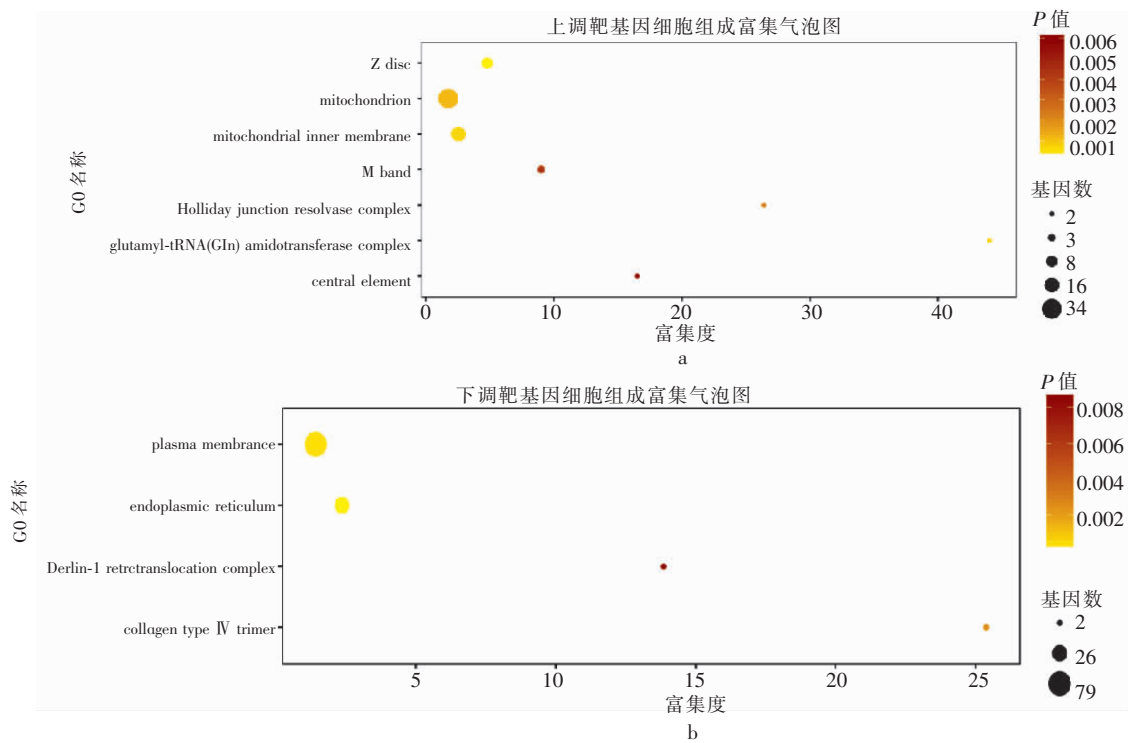
## 2.2 基因功能分析

对 686 个差异基因进行功能分析发现, 这些基因的生物学进程主要集中在细胞-细胞黏附、对有毒物质的反应和脂质分解代谢过程等(图 1); 细胞组成主要包括: 细胞质、核碎片和细胞-细胞黏附连接等(图 2); 分子功能主要富集于钙黏着蛋白结合、细胞黏附及磷脂结合等功能(图 3)。



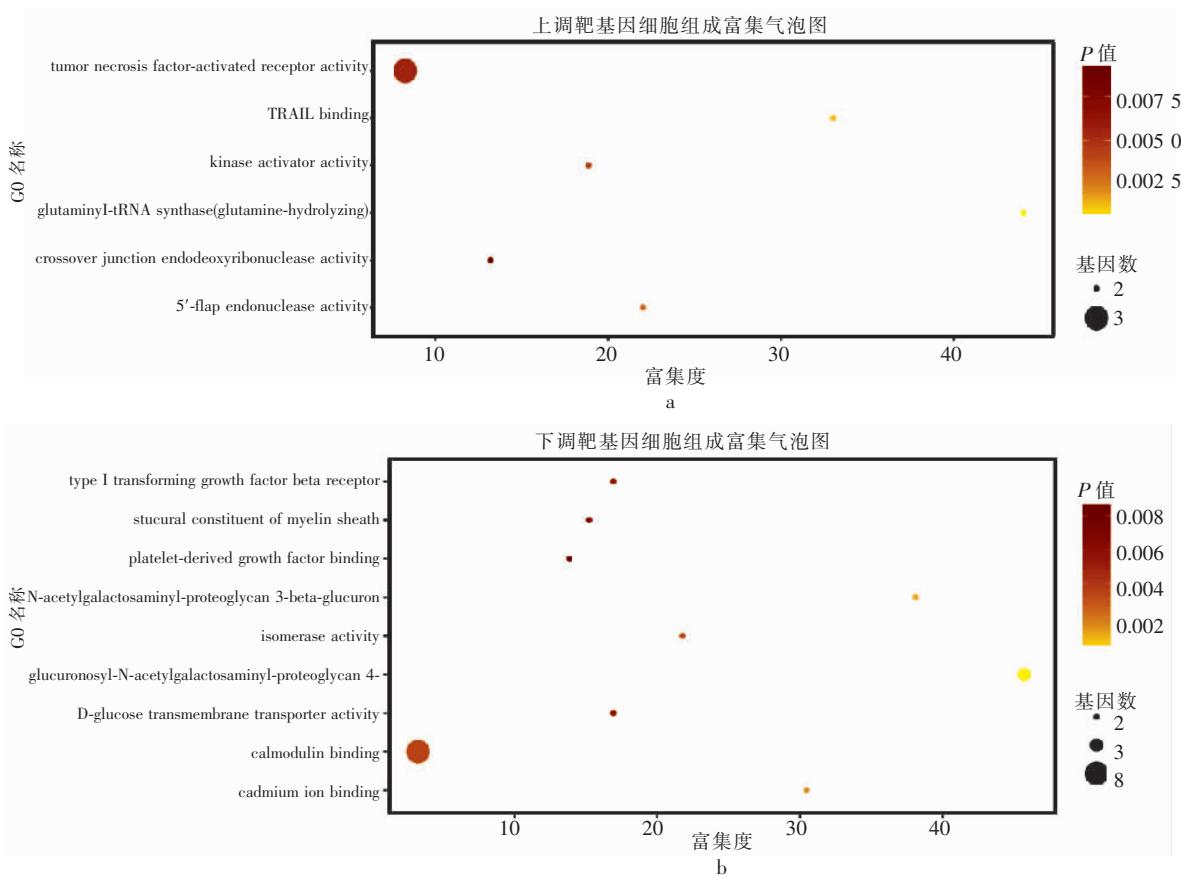
注: a 为上调靶基因生物学进程富集图, b 为下调靶基因生物学进程富集图。圆形大小代表该生物学进程中富集基因占比量, 圆形越大代表富集的基因越多; 颜色代表 P 值大小, 颜色越黄代表 P 值越小。

图 1 差异表达基因生物学进程富集图



注:a 为上调靶基因细胞组成富集图,b 为下调靶基因细胞组成富集图。圆形大小代表该细胞组成中富集基因占比量,圆形越大代表富集的基因越多;颜色代表 P 值大小,颜色越黄代表 P 值越小。

图 2 差异表达基因细胞组成富集图



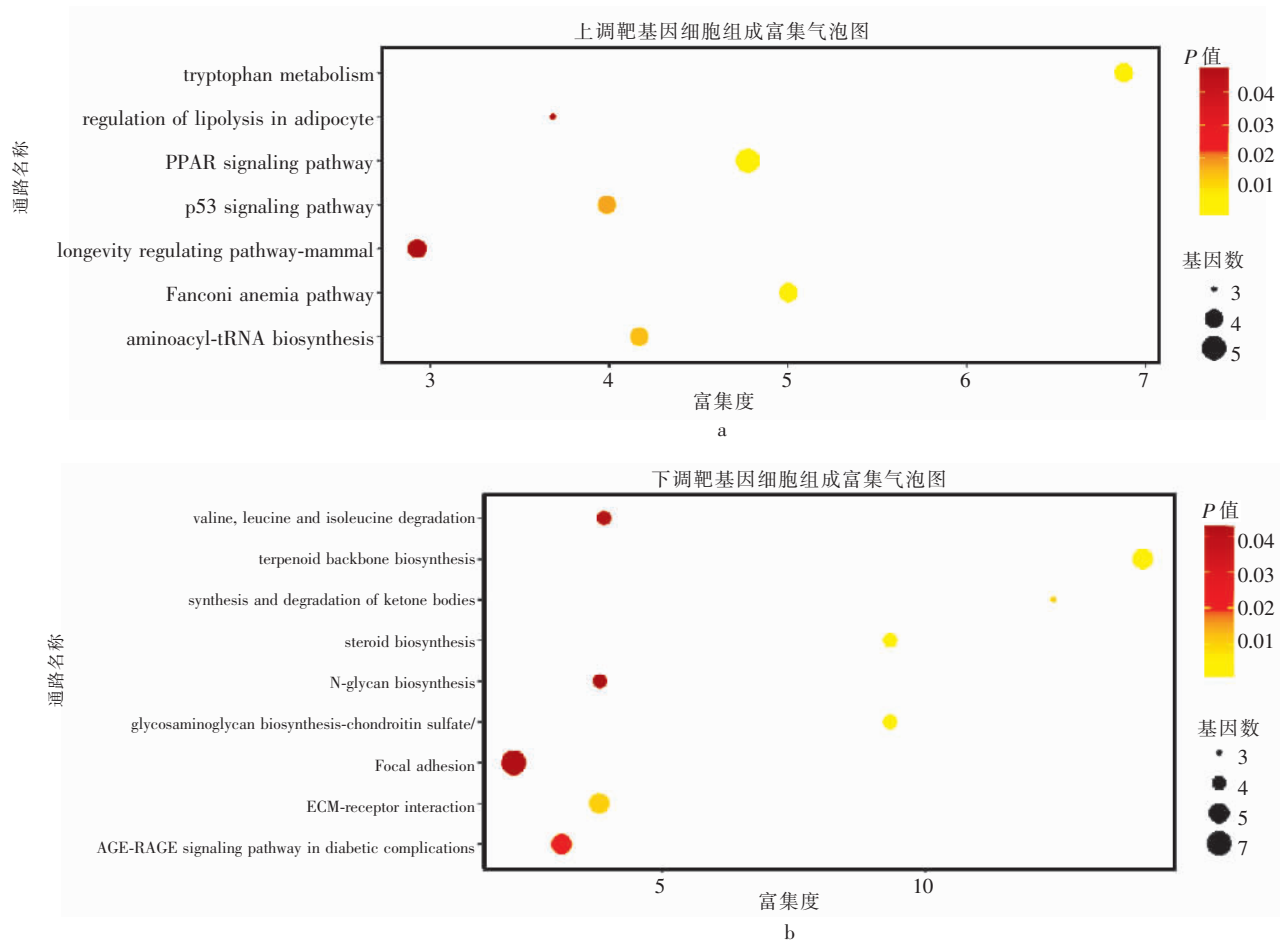
注:a 为上调靶基因分子功能富集图,b 为下调靶基因分子功能富集图。圆形大小代表富集基因占比量,圆形越大代表富集基因越多;颜色代表 P 值大小,颜色越黄代表 P 值越小。

图 3 差异表达基因分子功能富集图

### 2.3 信号通路分析

通过 KEGG 信号通路富集发现,表达上调的靶基因主要富集在色氨酸代谢、PPAR 信号通路、范科尼贫血通路、氨酰 tRNA 生物合成、p53 信号通路、脂肪细胞脂解的调控和哺乳动物的寿命调节途径等。表达下调的

靶基因主要富集在萜类主链生物合成,甾体生物合成,硫酸软骨素/硫酸皮肤素的糖胺聚糖生物合成,细胞外基质受体相互作用,酮体的合成与降解,糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解,黏着斑信号通路和 N-聚糖生物合成等(图 4)。



注:a 为上调靶基因信号通路富集图,b 为下调靶基因信号通路富集图。圆形大小代表该通路中富集基因占比量,圆形越大代表富集基因越多;颜色代表 P 值大小,颜色越黄代表 P 值越小。

图 4 差异表达基因信号通路富集图

### 2.4 差异基因的 miRNA 预测

使用 miRanda、TargetScan 7.2 数据库对选出显著上调[SNORD97、CSRP3、ANGPTL4、PDK4、金属硫蛋白 1F (MT1F)、SLC25A48、MYLK3、EDA2R、TNFRSF10C 和 TECRL] 和下调的基因[EPAS1、PDLIM2、ACAT2、S 期激酶相关蛋白 2 (SKP2)、C5orf46、KIAA1199 和 OSR1] 进行靶向 miRNA 预测,纳入 Score > 170, Energe < -30 的 miRNA 进行后续研究,发现 miR-1273g-3p 是 MT1F 与 SKP2 的共同靶向 miRNA,说明 miR-1273g-3p 可能在蒺环类药物致心肌毒性过程中发挥重要调控作用。详见表 4 和表 5。

### 2.5 hsa-miR-1273g-3p 验证

qPCR 结果显示,与正常对照组相比,人心肌细胞

经过吡柔比星诱导后,细胞中 miR-1273g-3p 表达明显上升( $P < 0.05$ ) (图 5)。

### 3 讨论

蒺环类药物作为乳腺癌、消化道肿瘤和淋巴瘤等实体恶性肿瘤联合治疗的一线治疗方案药物,常由于心脏毒性副作用的产生,使患者不得不终止对蒺环类药物的使用,从而影响治疗效果<sup>[1]</sup>。

目前,蒺环类药物所致心脏毒性的具体机制尚未完全明了,现有的证据表明其主要机制可能与蒺环类药物作用人体后所产生的自由基密切相关,大量自由基的产生可导致心肌细胞膜脂质过氧化和心肌线粒体 DNA 的损伤<sup>[3-6]</sup>。其他机制包括:药物毒性代谢产物的形成、核苷酸及蛋白质合成的抑制、血管活性胺

的释放以及影响特异性基因的表达等<sup>[7-8]</sup>。新近的研究发现,miRNA 与调节心脏的生长发育、机械重构和电重构等过程密切相关,并与心脏疾病也有密切关系<sup>[9]</sup>。例如,在心肌中由于应激作用,miRNA-21 表达水平可明显升高,进而通过靶向抑制 Ras/MEK/ERK 信号通路的抑制因子萌芽 RTK 信号拮抗剂 1 (SPRY1) 的表达,从而激活胞外 ERK/MAPK 信号通路,导致成纤维细胞增殖和心肌间质纤维化<sup>[10]</sup>。同样, Terentyev 等<sup>[11]</sup> 的研究表明,miRNA-1 还可通过作用于蛋白磷酸酶 2 调节心肌细胞膜 L2 型钙通道以及导致肌质网兰尼碱受体 2 活化的 Ca<sup>2+</sup>/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II 磷酸化,从而增加 Ca<sup>2+</sup> 的释放,加速心律失常的发生。杨宝峰等<sup>[12]</sup> 应用特异性 miRNA 转基因小鼠模型,通过功能获得与功能缺失等方法研究 miRNA 在心肌纤维化中的作用,发现该 miRNA 可直接靶向转化生长因子-β 受体,促进 I 型与 II 型受体复合物的形成并激活转化生长因子-β 信号通路后诱导胶原分泌量增加,而反义寡核苷酸可消除该作用。

表 4 表达上调的差异基因 miRNA 预测

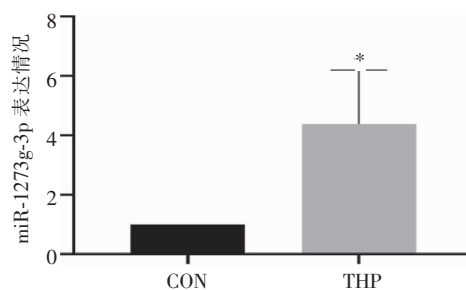
基因名称	靶向 miRNA	靶向分数	靶向结合能量
SNORD97	—	—	—
CSRP3	—	—	—
ANGPTL4	—	—	—
PDK4	—	—	—
MT1F	hsa-miR-4685-5p	173	-39.08
	hsa-miR-4763-3p	174	-38.30
	hsa-miR-6089	174	-36.90
	hsa-miR-885-3p	171	-31.38
	hsa-miR-1273g-3p	187	-36.14
	hsa-miR-1285-3p	192	-39.96
	hsa-miR-1304-3p	176	-37.36
	hsa-miR-3135a	178	-36.37
	hsa-miR-4459	172	-39.72
	hsa-miR-4769-5p	185	-34.58
	hsa-miR-4787-3p	170	-32.93
	hsa-miR-619-5p	184	-38.34
	hsa-miR-665	172	-30.47
	hsa-miR-6780a-5p	180	-32.49
EDA2R	hsa-miR-4769-5p	176	-32.19
	hsa-miR-612	171	-31.15
	hsa-miR-6756-5p	173	-34.89
TNFRSF10C	—	—	—
TECRL	—	—	—
SLC25A48	—	—	—
MYLK3	—	—	—

注:—表示在筛选范围,该 mRNA 无靶向 miRNA。

表 5 表达下调的差异基因 miRNA 预测

基因名称	靶向 miRNA	靶向分数	靶向结合能量
EPAS1	hsa-miR-4758-3p	173	-38.07
	hsa-miR-6867-5p	179	-31.45
PDLIM2	hsa-miR-1207-5p	173	-37.63
ACAT2	—	—	—
SKP2	hsa-miR-1268a	180	-43.00
	hsa-miR-1268b	182	-44.79
	hsa-miR-1273g-3p	182	-34.69
	hsa-miR-566	173	-33.92
	hsa-miR-7703	171	-30.31
C5orf46	—	—	—
KIAA1199	—	—	—
OSR1	hsa-miR-4747-3p	171	-33.78
	hsa-miR-6756-5p	173	-37.55

注:—表示在筛选范围,该 mRNA 无靶向 miRNA。



注:CON 为正常对照组,THP 为吡柔比星组;

\*表示与 CON 组比较, P < 0.05。

图 5 吡柔比星处理后人心肌细胞中 miR-1273g-3p 的表达情况

本研究利用 GEO 数据库中的 GSE76314 基因芯片原始数据,并使用软件包分析差异表达的 mRNA,分析显示,对 hiPSC-CMs 使用 1 μmol 阿霉素诱导 24 h 后,有明显差异表达基因 17 个,其中上调基因 10 个,下调基因 7 个。对这些基因进行靶向 miRNA 预测发现,上调 mRNA 中 MT1F 和下调 mRNA 中的 SKP2 具有相同靶向 miRNA,即 miR-1273g-3p,说明 miR-1273g-3p 可能为参与葱环类药物所致心脏毒性产生过程中的核心 miRNA。目前针对 miR-1273g-3p 的研究主要集中在肿瘤方向,例如 Mazza 等<sup>[13]</sup> 发现,血浆中高表达的 miR-1273g-3p 在胰腺癌中可作为候选致癌 miRNA,且与胰腺癌的分期密切相关。Guo 等<sup>[14]</sup> 通过研究发现,乳腺导管癌患者血浆中 miR-1273g-3p 表达水平显著高于健康人,且在早期乳腺导管癌中具有诊断效力。上述研究提示 miR-1273g-3p 与肿瘤的发生和发展密切相关,但 miR-1273g-3p 在心脏疾病领域仍未见系统性研究,那么 miR-1273g-3p 是通过何种途径调控 MT1F 和 SKP2,进而对心脏疾病产生影响的呢?

首先,通过对 miR-1273g-3p 的靶基因进行生物学功能和信号通路富集分析,发现其主要参与细胞-细胞黏附、对有毒物质的反应和脂质分解代谢等过程,

KEGG 信号通路富集发现,这些靶基因主要通过影响 PPAR、p53 等信号通路发挥生物学功能。最终,笔者预测出 miR-1273g-3p 可通过上调 MT1F 在蒽环类所致心脏毒性过程中产生重要作用。MT1F 基因属于金属硫蛋白家族主要成员之一,其表达与炎症、应激、重金属解毒和必需微量元素稳态有关<sup>[15-16]</sup>。Alonso-Herranz 等<sup>[17]</sup>发现,心肌梗死后 7 d 内金属硫蛋白 1 表达明显升高,进而调控基质金属蛋白酶 1 激活转化生长因子-β 通路,最终导致心肌梗死后的心肌纤维化和不良重构发生。同时,miR-1273g-3p 还可下调 SKP2,而 SKP2 是调控细胞周期进程的关键因子<sup>[18]</sup>。目前相关研究认为 SKP2 的表达与肿瘤关系密切<sup>[19-20]</sup>,还参与中枢神经系统<sup>[21]</sup>、循环系统机械性损伤和修复过程。Tamamori-Adachi 等<sup>[22]</sup>通过对 Wistar 大鼠进行冠状动脉结扎构建大鼠缺血再灌注损伤模型,随后过表达/沉默大鼠体内的 SKP2 基因后发现,大鼠体内过表达的 SKP2 可显著改善左心室功能,促进心肌缺血后心功能的改善。另有研究<sup>[23]</sup>发现,高表达的 SKP2 可通过调控哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路抑制心肌细胞自噬与心肌肥大的产生。在乙醇所致的心脏收缩功能障碍中,心脏经乙醇刺激后通过促进单磷酸腺苷活化蛋白激酶磷酸化,抑制下游基因 SKP2 的表达,从而促进心肌细胞自噬<sup>[24]</sup>。然而 SKP2 在蒽环类药物所致的心肌损伤中鲜有报道。本文通过验证 miR-1273g-3p 在蒽环类药物所致心脏毒性中的表达情况,发现吡柔比星诱导心肌损伤组中 miR-1273g-3p 表达水平明显高于对照组。推测在蒽环类药物所致心脏毒性产生的过程中,miR-1273g-3p 过表达可上调 MT1F,下调 SKP2,该过程的发生可能与有毒物质反应和心肌细胞增殖有关。

总之,本研究利用生物信息学技术筛选出乳腺癌患者蒽环类药物致心脏毒性相关差异表达 mRNA,分析了其生物学功能和调控通路,并针对明显差异表达 mRNA 预测出具有核心功能的 miR-1273g-3p,为后期实验研究提供数据和基础,但 miR-1273g-3p 能否通过调控 SKP2 和 MT1F 实现心脏保护作用尚需进一步研究。

#### 参 考 文 献

- [1] Blum JL, Flynn PJ, Yothers G, et al. Anthracyclines in early breast cancer: the ABC trials-USOR 06-090, NSABP B-46-L-USOR 07132, and NSABP B-49 (NRG Oncology) [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(23):2647-2655.
- [2] Nicolazzi MA, Camicelli A, Fuorlo M, et al. Anthracycline and trastuzumab-induced cardiotoxicity in breast cancer [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(7):2175-2185.
- [3] Cappetta D, de Angelis A, Sapio L, et al. Oxidative stress and cellular response to doxorubicin: a common factor in the complex milieu of anthracycline cardiotoxicity [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017:1521020.
- [4] Loar RW, Noel CV, Tunuguntla H, et al. State of the art review: chemotherapy-induced cardiotoxicity in children [J]. *Congenit Heart Dis*, 2018, 13(1):5-15.
- [5] Simunek T, Stérba M, Popelová O, et al. Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron [J]. *Pharmacol Rep*, 2009, 61(1):154-171.
- [6] Xu X, Persson HL, Richardson DR. Molecular pharmacology of the interaction of anthracyclines with iron [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 68(2):261-271.
- [7] Barry E, Alvarez JA, Scully RE, et al. Anthracycline-induced cardiotoxicity: course, pathophysiology, prevention and management [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2007, 8(8):1039-1058.
- [8] Leong SL, Chaiyakunapruk N, Lee SW. Candidate gene association studies of anthracycline-induced cardiotoxicity: a systematic review and meta-analysis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):39.
- [9] 赵亚娜,李倩晓,施育平. miRNA 与心肌细胞凋亡研究进展 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2020, 29(2):179-182.
- [10] Zhu JN, Fu YH, Hu ZQ, et al. Activation of miR-34a-5p/Sirt1/p66shc pathway contributes to doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):11879.
- [11] Terentyev D, Belevych AE, Terentyeva R, et al. miR-21 overexpression enhances Ca<sup>2+</sup> release and promotes cardiac arrhythmogenesis by targeting PP2A regulatory subunit B56alpha and causing CaMK II-dependent hyperphosphorylation of RyR2 [J]. *Circ Res*, 2009, 104(4):514-521.
- [12] 杨宝峰,张勇,单宏丽,等. 微小 RNA——心血管疾病药物研发新靶点 [C]. *中国药学会. 2013 年中国药学会大会暨第十三届中国药师周论文集*. 南宁: 2013:14-15.
- [13] Mazza T, Giuffreda D, Fontana A, et al. Clinical significance of circulating miR-1273g-3p and mir-122-5p in pancreatic cancer [J]. *Front Oncol*, 2020, 10:44.
- [14] Guo H, Zeng X, Li H, et al. Plasma miR-1273g-3p acts as a potential biomarker for early breast ductal cancer diagnosis [J]. *An Acad Bras Cienc*, 2020, 92(1):e20181203.
- [15] Caboux E, Paciencia M, Durand G, et al. Impact of delay to cryopreservation on RNA integrity and genome-wide expression profiles in resected tumor samples [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e79826.
- [16] Li Z, Stonehauer J, Devlin RB, et al. Discrimination of vanadium from zinc using gene profiling in human bronchial epithelial cells [J]. *Environ Health Perspect*, 2005, 113(12):1747-1754.
- [17] Alonso-Herranz L, Sahún-Español Á, Paredes A, et al. Macrophages promote endothelial-to-mesenchymal transition via MT1-MMP/TGFβ1 after myocardial infarction [J]. *Elife*, 2020, 9:e57920.
- [18] Lin H, Ruan GY, Sun XQ, et al. Effects of RNAi-induced Skp2 inhibition on cell cycle, apoptosis and proliferation of endometrial carcinoma cells [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(5):3441-3450.
- [19] Li C, Du L, Ren Y, et al. SKP2 promotes breast cancer tumorigenesis and radiation tolerance through PDCD4 ubiquitination [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):76.
- [20] 高媛,郭敏,胡晓玲,等. S 期激酶相关蛋白 2 对食管鳞癌细胞增殖、迁移的影响及其作用机制 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2021, 34(2):146-151.
- [21] Liu Y, Wang Y, Cheng C, et al. A relationship between p27 (kip1) and Skp2 after adult brain injury: implications for glial proliferation [J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(2):361-371.
- [22] Tamamori-Adachi M, Takagi H, Hashimoto K, et al. Cardiomyocyte proliferation and protection against post-myocardial infarction heart failure by cyclin D1 and Skp2 ubiquitin ligase [J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 80(2):181-190.
- [23] Wu H, Wang Y, Wang X, et al. MicroRNA-365 accelerates cardiac hypertrophy by inhibiting autophagy via the modulation of Skp2 expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 484(2):304-310.
- [24] Yang L, Wang S, Ma J, et al. CD74 knockout attenuates alcohol intake-induced cardiac dysfunction through AMPK-Skp2-mediated regulation of autophagy [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(9):2368-2378.

收稿日期:2021-05-08