

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.03.017

沉默 MagT1 影响大鼠心肌细胞内 Mg^{2+} 水平和细胞凋亡的研究*

滕飞翔¹, 沈之君², 赵洪侠³, 张栋梁¹, 杨留才^{1△}

(1. 江苏医药职业学院基础医学部, 江苏盐城 224005; 2. 南通大学医学院病理学
与病理生理学系, 江苏南通 226001; 3. 潍坊护理职业学院医学基础部, 山东潍坊 261041)

[摘要] **目的** 使用 siRNA 沉默大鼠心肌细胞的镁离子转运蛋白 1(MagT1), 检测细胞内 Mg^{2+} 浓度变化和细胞凋亡情况。**方法** 设计并合成 MagT1 siRNA 序列, 转入原代培养大鼠心肌细胞沉默 MagT1, 使用反转录 PCR 和 Western blot 检测 MagT1 mRNA 和蛋白表达情况, 荧光显微镜检测细胞内 Mg^{2+} 浓度变化情况, 流式细胞法检测细胞凋亡情况。**结果** 相比阴性 siRNA 组, MagT1 siRNA 转染大鼠心肌细胞 48 h, MagT1 mRNA 的沉默效率为 51.83% ($P<0.05$), MagT1 蛋白的沉默效率为 56.75% ($P<0.05$), 胞内 Mg^{2+} 浓度降低 29.13% ($P<0.05$), 细胞凋亡率为 31.18% ($P<0.01$); 转染 60 h, MagT1 mRNA 的沉默效率为 86.91% ($P<0.01$), MagT1 蛋白质的沉默效率为 83.85% ($P<0.01$), 细胞内 Mg^{2+} 浓度降低 41.32% ($P<0.01$), 细胞凋亡率为 40.61% ($P<0.01$)。**结论** MagT1 被显著沉默后, 细胞内 Mg^{2+} 浓度显著降低, 细胞凋亡显著提高, 细胞生命活动受到较大影响。**[关键词]** 细胞凋亡; 肌细胞, 心脏; 镁; 镁离子转运蛋白 1; siRNA
[中图法分类号] R331 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)03-0340-06

Effect of silencing MagT1 on the content of magnesium ion and apoptosis in rat cardiomyocytes*
TENG Feixiang¹, SHEN Zhijun², ZHAO Hongxia³, ZHANG Dongliang¹, YANG Liucan^{1△}

(1. Faculty of Basic Medicine, Jiangsu Vocational College of Medicine, Yancheng, Jiangsu 224005, China;
2. Department of Pathophysiology, School of Medicine, Nantong University, Nantong, Jiangsu 226001, China;
3. Medical Foundation Department, Weifang Nursing Vocational College, Weifang, Shandong 261041, China)

[Abstract] **Objective** The changes of Mg^{2+} concentration and cell apoptosis were detected by using siRNA to silence MagT1 in rat cardio myocytes. **Methods** MagT1 siRNA sequences were designed and synthesized, then transfected into primary cultured rat myocardial cell for silencing MagT1. The expression of MagT1 mRNA and protein were detected by RT-PCR and Western blot. The changes of Mg^{2+} concentration in the cells were detected by fluorescence microscopy. Flow cytometry (FCM) was used to detect the cell apoptosis. **Results** Compared with negative siRNA group, MagT1 siRNA transfected rat cardiomyocytes after 48 h, MagT1 mRNA silence efficiency was 51.83% ($P<0.05$), the silence of MagT1 protein efficiency was 56.75% ($P<0.05$), intracellular Mg^{2+} concentration was reduced by 29.13% ($P<0.05$), the apoptosis rate was 31.18% ($P<0.01$); MagT1 siRNA transfected rat cardiomyocytes after 60 h, MagT1 mRNA silence efficiency was 86.91% ($P<0.01$), the silence of MagT1 protein efficiency was 83.85% ($P<0.01$), intracellular Mg^{2+} concentration was reduced by 41.32% ($P<0.01$), the apoptosis rate was 40.61% ($P<0.01$). **Conclusion** After the silencing of MagT1, the concentration of Mg^{2+} in the cells decreased significantly, the apoptotic rate increased significantly, cell life activities are greatly affected. **[Key words]** cell apoptosis; myocytes, cardiac; magnesium; magnesium transporter 1; siRNA

镁离子(Mg^{2+})是一种对心肌细胞生命活动有重要影响的二价阳离子, 其具有舒缓血管平滑肌、改善缺血心肌的能量代谢、纠正缺血心肌的不应期等作用^[1]。当 Mg^{2+} 代谢失衡时, 会导致患者出现心力衰竭、心房颤动、心律不齐、冠状动脉粥样硬化性心脏病等症状^[2-6]。有研究表明, Mg^{2+} 进出细胞会通过离子通道或转运体来实现, 目前已经发现了多种跨细胞膜转运 Mg^{2+} 的通道或转运体, 普遍存在于哺乳动物的各组织和器官内^[7-11]。
镁离子转运蛋白 1(magnesium transporter 1, MagT1)存在于哺乳动物的多种细胞内, 含有 335 个氨基酸^[12]。GOYTAIN 等^[12]研究显示 MagT1 是一种特异性的 Mg^{2+} 转运

体。ZHOU 等^[13]实验表明 MagT1 在维持细胞内外 Mg^{2+} 稳态中起非常重要作用。还有研究表明, MagT1 通过调节 Mg^{2+} 的转运, 影响多种组织和器官, 对骨细胞分化、骨整合、癌细胞诊断、妊娠胎盘和胚胎发育起到重要作用, 还会导致 XMEN 综合征、免疫缺陷相关疾病等^[14-22]。
目前 MagT1 的相关研究较少, 本研究应用 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术, 体外合成 siRNA 并转染大鼠心肌细胞, 沉默心肌细胞内的 MagT1, 观察其对胞内 Mg^{2+} 浓度和心肌细胞生存及正常生命活动的影响, 现报道如下。
1 材料与方法
1.1 实验动物 1 d 龄 SD 大鼠(南京青龙山动物养殖场和南

* 基金项目:江苏省盐城市医学科技发展计划项目(YK2016046)。 作者简介:滕飞翔(1982—), 讲师, 硕士, 主要从事离子通道与疾病研究。 △ 通信作者, E-mail:jsyc.ylc@163.com。

通大学医学院实验动物中心提供)10 只,雌雄不限。

1.2 试剂 DMEM 培养基购自日本 Nissui pharmaceutical 公司;胎牛血清购自美国 Hyclone 公司;siRNA 序列购自上海吉玛公司;Trypsine、Trizol、LipofectamineTM RNAiMAX、荧光二抗购自美国 Invitrogen 公司;Ⅱ型胶原酶购自美国 GIBCO 公司;Taq DNA 聚合酶、反转录试剂盒购自日本 TaKaRa 公司;MagT1 兔抗购自北京奥维亚公司; α -actin 鼠抗购自美国 Abcam 公司;异硫氰酸荧光素标记的膜联蛋白 V(Annexin V-FITC)0 凋亡试剂盒购自美国 Biouniquer 公司。

1.3 仪器 PCR 扩增仪(美国 Bio-Rad 公司);凝胶成像系统(上海培清科技有限公司);稳压稳流电泳仪(北京市六一仪器厂,型号 DYY-Ⅲ2 型);DYCp-31D 型水平电泳槽(北京市六一仪器厂);高速低温离心机(德国 Eppendorf 公司);常温离心机(德国 Eppendorf 公司);隔水式恒温培养箱(上海一恒科技有限公司,型号 GHP-9080);微量移液器(德国 Gilson 公司);pH 计(上海雷磁);正置荧光显微镜(日本 OLYMPUS 公司,型号 BX51);细胞培养箱(美国 Thermo 公司);流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司)。

1.4 方法

1.4.1 大鼠心肌细胞原代培养 10 只 1 d 龄的普通级 SD 大鼠,无菌条件下剪取心脏,使用 D-Hanks 液漂洗 3 次。在小培养皿中剪下心尖(心室肌)部分,把心尖部分剪碎至 1~2 mm³ 碎块。将碎块置于小瓶中加入 0.08%胰酶+Ⅱ型胶原酶混合液,置于 37℃水浴恒温振荡仪中反应 10 min,弃去上清液;沉淀部分重复上述步骤,反应后反复吹打沉淀,把浑浊的液体吸出置于离心管中,加含 15%血清的 DMEM 培养液终止胰酶消化,以 1 000 r/min 的速度离心 10 min,弃去上层液体后加入含 15%血清的 DMEM 培养液重悬沉淀中的细胞,放于培养瓶中置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中 1.5 h,进行差速贴壁^[23]。随后以 10⁵/mL 的密度种于 6 孔板中,24 h 后更换培养基,加 0.01 mmol/L 的 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)^[24]抑制成纤维细胞的生长。将细胞悬液与 1%的台盼蓝溶液 1:1 混合进行存活度计数,被染色的代表死细胞。培养的大鼠心肌细胞中常混有成纤维细胞,本研究选择一种心肌细胞具有但成纤维细胞没有的 α -actin 蛋白一抗^[25]进行免疫荧光反应,以鉴定心肌细胞的纯度。

1.4.2 siRNA 转染心肌细胞 本研究委托上海吉玛公司设计生产 4 对 MagT1 siRNA 和 1 对阴性对照 siRNA,本课题组前期的研究^[26]筛选出沉默效果最好的 1 对 siRNA(序列为 5'-GAU UGG ACU UGU UGU GUU ATT-3',5'-UAA CAC AAC AAG UCC AAU CTT-3'),阴性对照 siRNA 序列为 5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT-3',5'-ACG UGA CAC GUU CGG AGA ATT -3'。本研究设空白对照组、阴性 siRNA 组、siRNA 组。使用 LipofectamineTM RNAiMAX 试剂,按照说明书要求将 siRNA 转染进大鼠心肌细胞。

1.4.3 反转录 PCR 方法检测 MagT1 mRNA 表达 Trizol 法提取大鼠心肌组织总 RNA,使用 2%琼脂糖凝胶电泳检验总 RNA 条带的完整性。使用紫外分光光度计检测总 RNA OD_{260/280} 吸光度比值(比值大于 1.8 为合格),并计算总 RNA 浓度。按照反转录 PCR 试剂盒操作说明书进行反转录和 PCR 反应,以人 β -

actin 为内参,MagT1 引物序列为 5'-GAA GCA GCC AAG CAC AGT TTG TAG-3',5'-CAA TAT CCA TGT CAG AGG CAG CA-3'; β -actin 引物序列为 5'-GGA GAT TAC TGC CCT GGC TC CTA-3',5'-GAC TCA TCG TAC TCC TGC TTG CTG-3'。扩增条件为 95℃预变性 3 min;94℃变性 30 s,58℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共计 30 个循环;72℃延伸 10 min,最后使用琼脂糖凝胶电泳检验结果。本研究使用反转录 PCR 方法检测 0 d(刚出生)、21 d(哺乳期结束)和 63 d(性成熟)3 个不同发育时期的大鼠心肌细胞中 MagT1 的 mRNA 表达水平,使用反转录 RCR 方法对 siRNA 转染 48 和 60 h 的大鼠心肌细胞 MagT1 mRNA 沉默效率进行检测。

1.4.4 Western blot 方法检测 MagT1 蛋白质表达 使用 1 mL 组织裂解液作用于 100 mg 大鼠心肌组织,取得总蛋白质,考马斯亮蓝法检测蛋白质浓度。按 5:1 比例混入 6 倍浓度的上样缓冲液,煮沸 5 min 使蛋白质变性,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(5%浓缩胶,电压 80 V,时间 1 h;12%分离胶,电压 120 V,直至电泳结束)。蛋白质分离后,使用 180 mA 转膜 2 h,将蛋白质转至 PVDF 膜上。膜置于 Western 封闭液(3% BSA TBST 中)中处理 1 h,然后置于纯化的一抗稀释液(1:1 000)中室温孵育 2 h 或 4℃过夜。TBST 清洗后,将膜置于二抗稀释液(1:3 000)中,室温孵育 1 h。使用 X 光片取得印迹结果,并采用 Quantity One 扫描软件分析相对灰度值。本研究使用 Western blot 方法对 siRNA 转染 48 和 60 h 的大鼠心肌细胞 MagT1 蛋白质沉默效率进行检测。

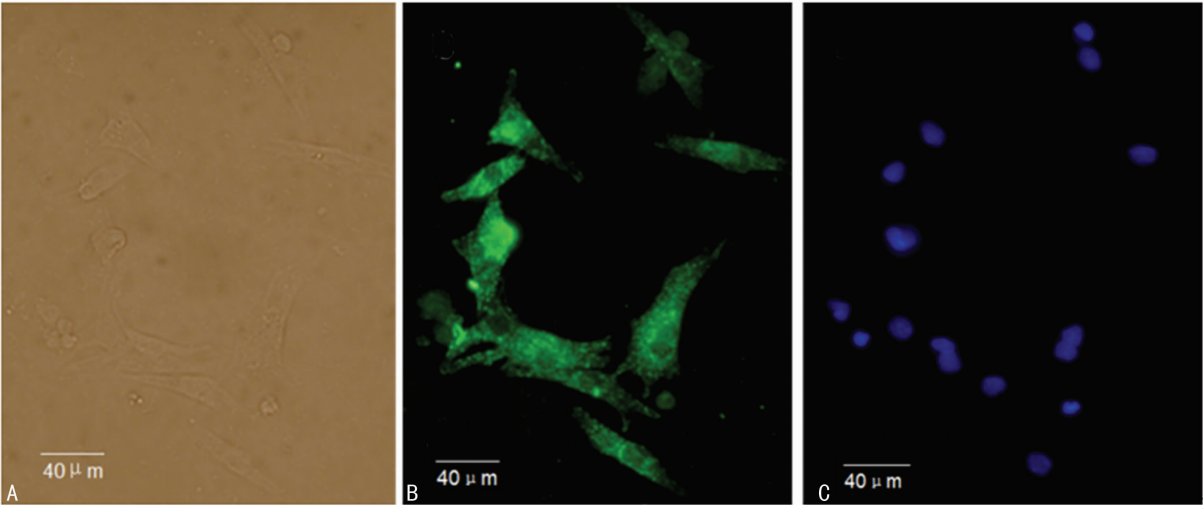
1.4.5 Mag-into-1 检测心肌细胞内 Mg²⁺ 浓度变化 Mag-into-1 是一种特异性的 Mg²⁺ 荧光探针,可以检测细胞内 Mg²⁺ 浓度变化。6 孔板中用盖玻片进行心肌细胞爬片,24 h 后转染 MagT1 siRNA,过 48 h 或 60 h 向含盖玻片孔中加入 Mag-into-1 和 D-Hanks 混合液,然后放于 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 1 h。将盖玻片倒置放于滴好甘油的载玻片上,在荧光显微镜下拍照,最后使用 Image J 软件对细胞荧光照片进行半定量分析。本研究使用 Mag-into-1 免疫荧光方法对 siRNA 转染 48 和 60 h 后的大鼠心肌细胞 Mg²⁺ 浓度进行检测。

1.4.6 流式细胞仪检测细胞凋亡 使用 Annexin V-FITC/PI 试剂盒对各实验组细胞进行染色,使用流式细胞仪对细胞的凋亡情况进行检测。贴壁心肌细胞用不含乙二胺四乙酸(EDTA)的胰酶收集;用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞 2 次(2 000 r/min 离心 5 min)收集(1~5)×10⁵ 个细胞;加入 500 μ L 的 Annexin V Binding Buffer 悬浮细胞;加入 5 μ L Annexin V-FITC 混匀后,加入 5 μ L Propidium Iodide,混匀避光、室温反应 10 min;用流式细胞仪检测(Ex=488 nm;Em=530 nm)细胞凋亡情况。本研究使用流式细胞法对 siRNA 转染 48 和 60 h 后的大鼠心肌细胞细胞凋亡率进行检测。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠心肌细胞存活度、形态和纯度检测 点数 400 个细胞进行台盼蓝染色,染色细胞数量为 31 个,细胞存活率为 92.25%(369/400)。细胞未贴壁时呈圆形。2 h 后细胞开始贴



A:大鼠心肌细胞;B:大鼠心肌细胞 α-actin 蛋白质免疫荧光;C:大鼠心肌细胞 DAPI 免疫荧光

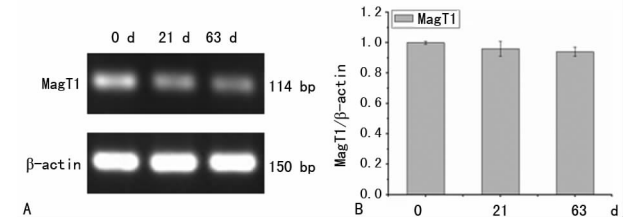
图 1 大鼠心肌细胞免疫荧光图

壁,初期呈梭形,之后进行舒展。24 h 后全部贴壁,呈梭形、菱形或多角形,大部分进行搏动。72 h 后形成细胞簇,搏动同步化,每分钟 65~85 次。心肌细胞纯度免疫反应结果显示,心肌细胞呈绿色荧光,成纤维细胞无荧光,见图 1。在荧光显微镜下点数染色的细胞,计算纯度。选取了 10 个不同视野,每个视野点数 200 个细胞。而 2 000 个细胞中被染色的细胞有 1 932 个,即心肌细胞纯度为 96.60%(1 932/2 000)。

2.2 不同时期大鼠心肌细胞 MagT1 mRNA 表达情况 0、21 和 63 d 大鼠心肌细胞中 MagT1 mRNA 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),见图 2。

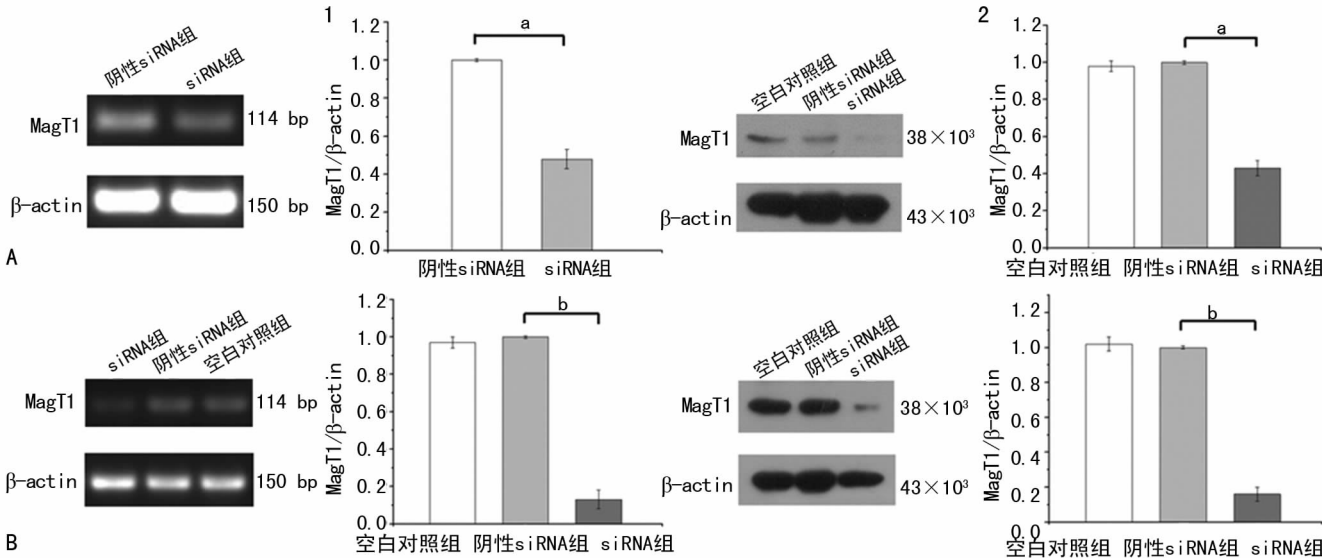
2.3 siRNA 沉默大鼠心肌细胞 MagT1 并检测沉默效率 siRNA 转染心肌细胞 48 h 后, MagT1 mRNA 的沉默效率为 51.83%, MagT1 蛋白质的沉默效率为 56.75%。转染 60 h 后, MagT1 mRNA 的沉默效率为 86.91%, MagT1 蛋白质的沉默效率为 83.85%, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 见图 3。

2.4 大鼠心肌细胞 MagT1 沉默后细胞内 Mg^{2+} 浓度检测 siRNA 转染大鼠心肌细胞 48 和 60 h 后, 胞内 Mg^{2+} 浓度分别降低 29.13% 和 41.32%, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 见图 4。



A:大鼠心肌细胞 MagT1 mRNA 的反转录 PCR 分析;B:大鼠心肌细胞 MagT1 mRNA 表达

图 2 0、21、63 d 大鼠心肌细胞 MagT1 mRNA 的表达情况



A:转染 48 h;B:转染 60 h;1:MagT1 mRNA 沉默情况;2:MagT1 蛋白质沉默情况;*: $P<0.05$;b: $P<0.01$

图 3 siRNA 转染心肌细胞 48 和 60 h 后的 MagT1 mRNA 和蛋白质沉默效率

2.5 大鼠心肌细胞 MagT1 沉默后细胞凋亡检测 siRNA 转染大鼠心肌细胞 48 h 后, 空白对照组和阴性 siRNA 组的细胞

凋亡率分别是 2.86% 和 3.09%，差异无统计学意义 ($P>0.05$)；而 siRNA 组的细胞凋亡率 (31.18%) 比阴性 siRNA 组显著增高，差异均有统计学意义 ($P<0.05$)，见图 5。siRNA 组细胞的密度和体积小于空白对照组和阴性 siRNA 组，折光性降低，伪足变细，搏动节律降为每分钟 30~50 次，见图 6。

siRNA 转染大鼠心肌细胞 60 h 后，空白对照组和阴性

siRNA 组的细胞凋亡率分别是 5.77% 和 5.48%，差异无统计学意义 ($P>0.05$)；而 siRNA 组的细胞凋亡率 (40.61%) 比阴性 siRNA 组显著增高，差异均有统计学意义 ($P<0.05$)，见图 5。另外 siRNA 组细胞的密度和体积更小，结构更紧密，搏动节律降为每分钟 20~30 次，见图 6。

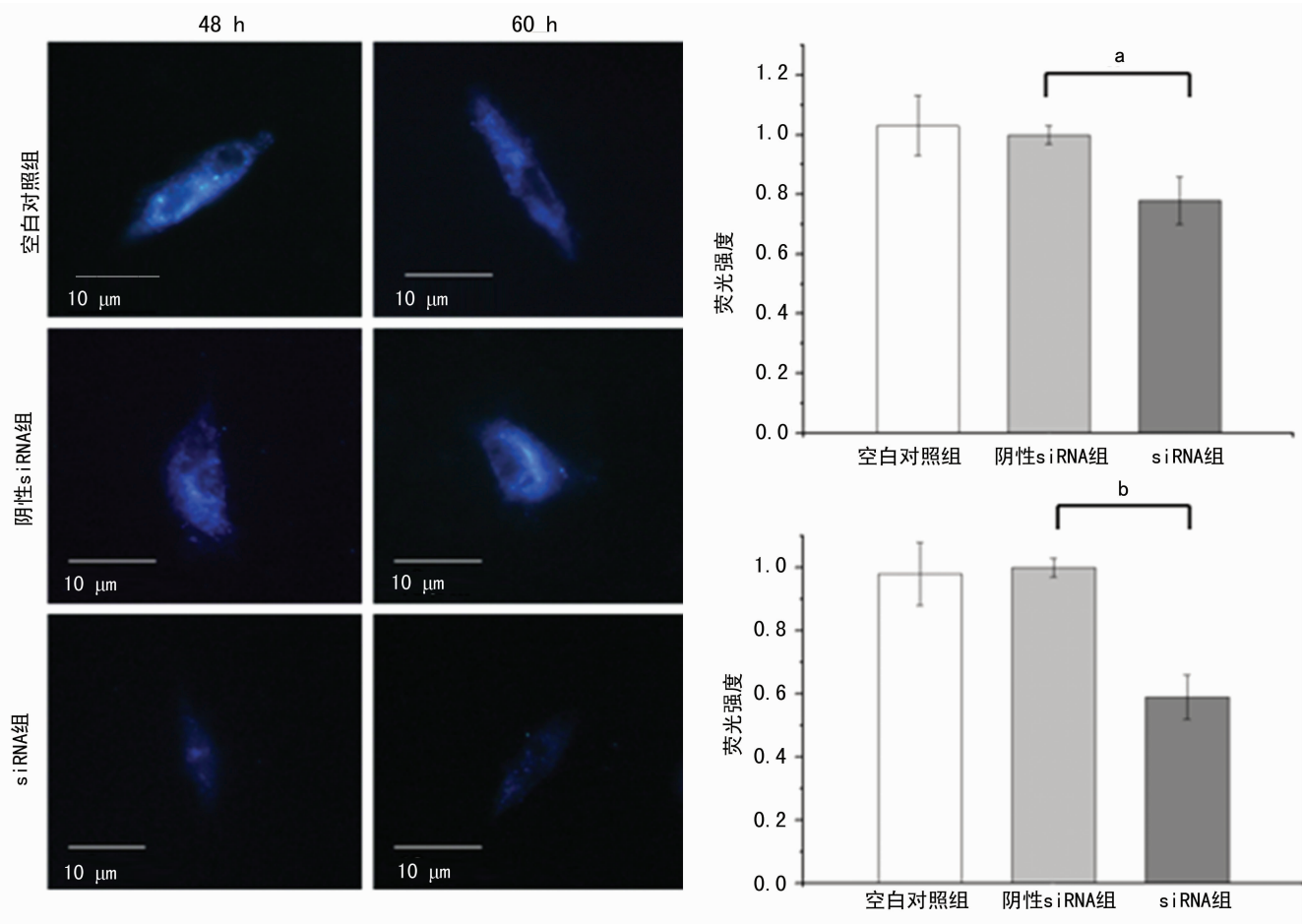


图 4 siRNA 转染心肌细胞 48 和 60 h 后细胞内 Mg^{2+} 浓度变化

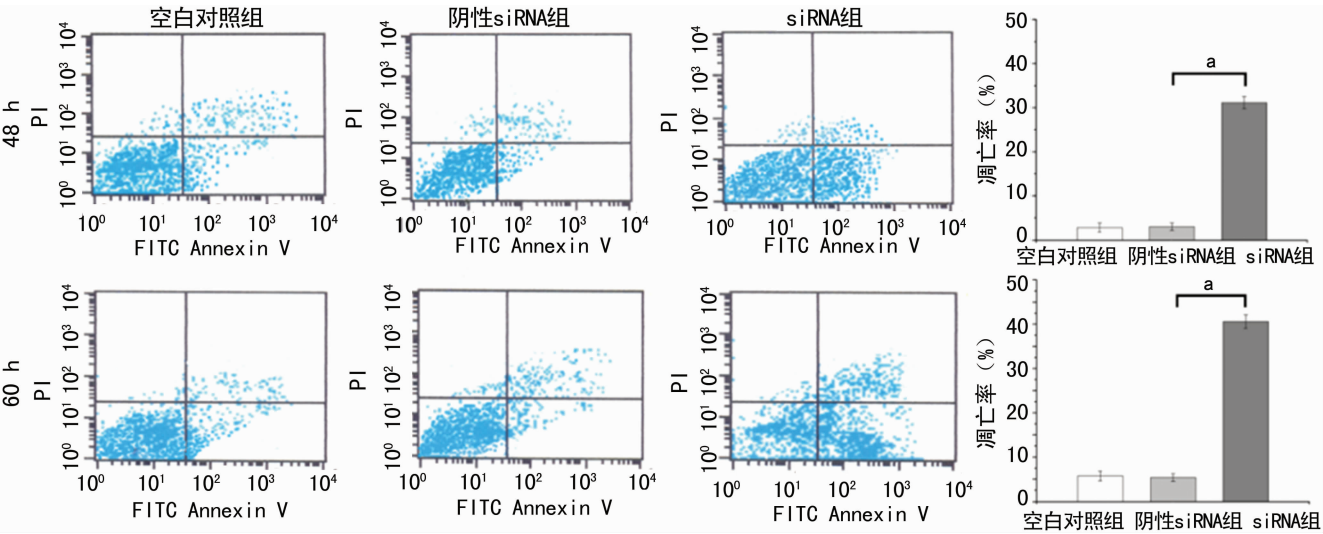


图 5 siRNA 转染大鼠心肌细胞 48 和 60 h 后的凋亡检测图

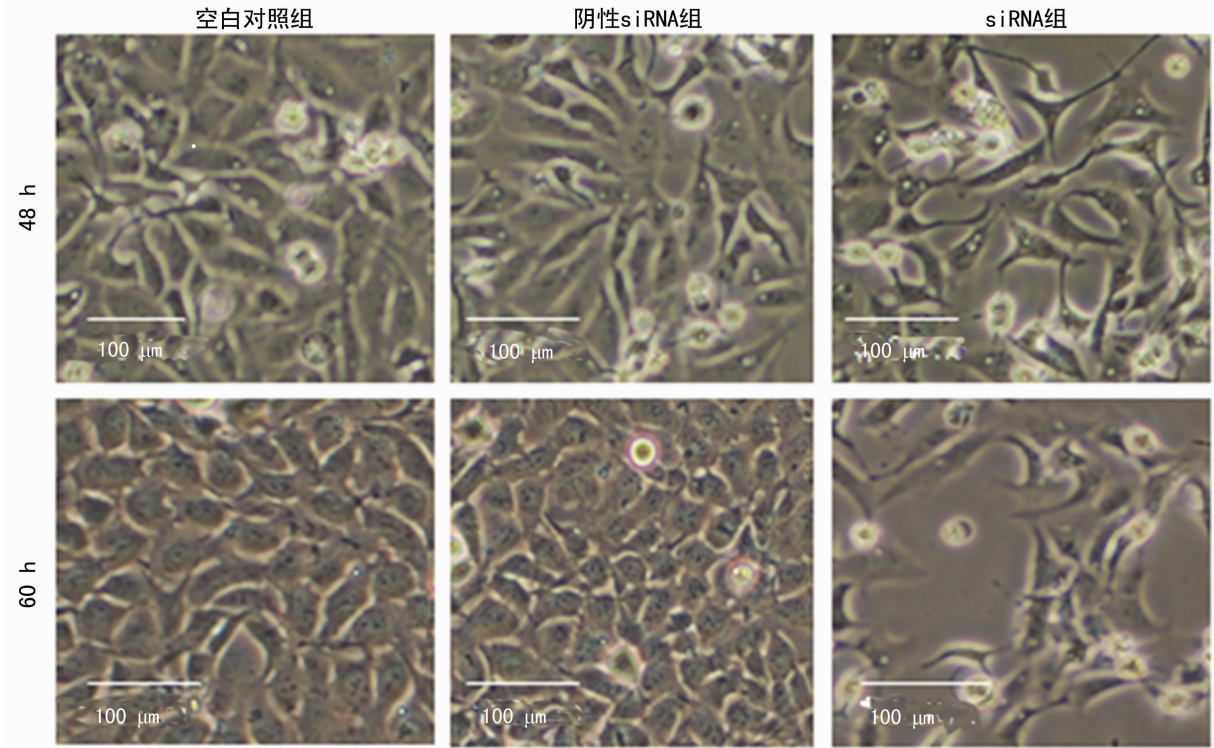


图 6 siRNA 转染大鼠心肌细胞 48 和 60 h 后的细胞形态图

3 讨 论

与其他原代大鼠心肌细胞培养方法^[27-28]相比,从新生乳大鼠、清洗液种类、胰酶浓度、胶原酶配比组成、胎牛血清浓度和细胞混液离心时间等方面进行轻微改良,得到了存活率和纯度高、生命活动强的细胞。在不同发育时期的大鼠心肌细胞中,MagT1 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),说明 MagT1 有可能在心肌细胞起着稳定而重要作用。

本研究设计并合成了 MagT1 siRNA 后,先经过预实验,选出沉默效果最好的 1 对 siRNA^[25]。根据 siRNA 说明书和其他研究情况,选取了转染 48 和 60 h 两个时间点进行 MagT1 的沉默情况检测,发现转染 48 h 后心肌细胞 MagT1 蛋白质被沉默了 56.75%,而 60 h 后 MagT1 蛋白质被沉默了 83.85%,达到了预定的目标,为后续的实验进行奠定了基础。

ZHOU 等^[13]使用 siRNA 显著降低 HEK-293T 细胞中 MagT1 表达水平,当胞外具有相同的 Mg^{2+} 浓度(10 mmol/L)时,MagT1 siRNA 处理过的细胞中游离 Mg^{2+} 浓度会比阴性 siRNA 对照组减少 50%~60%。本研究与 ZHOU 等^[13]结果相似,发现显著沉默 MagT1 后,大鼠心肌细胞内的 Mg^{2+} 浓度显著降低。TASHIRO 等^[29]使用缺镁食物喂养大鼠 4~6 周后,与对照组相比,缺镁大鼠血清 Mg^{2+} 总浓度显著降低,心室肌细胞膜上包括 MagT1 在内的 5 种 Mg^{2+} 通道或转运体表达都有所上调,使心室肌细胞内 Mg^{2+} 浓度无显著降低。本课题组与 TASHIRO 等^[29]研究结果共同说明 MagT1 在维持心肌细胞内 Mg^{2+} 稳态起着重要作用。

以斑马鱼为实验动物的研究中,MagT1 蛋白质表达显著下降,会影响胚胎细胞的正常功能及生存^[13]。与 ZHOU 等^[13]结果相似,本研究发现大鼠心肌细胞中的 MagT1 被显著沉默后,细胞凋亡率显著升高,细胞形态和搏动也出现了异常,说明 MagT1 对心肌细胞的生存与正常生命活动产生了很大影响。

推测这种现象可能是由于 MagT1 被显著下调,导致大鼠心肌细胞内的 Mg^{2+} 浓度显著降低,从而导致细胞的生存与正常生命活动被影响,这有待于进一步研究。

综上所述,siRNA 有效沉默大鼠心肌细胞 MagT1,使细胞内 Mg^{2+} 浓度显著下降、细胞凋亡率显著上升,对细胞生存和正常生命活动有较大影响为今后探索心肌细胞内 Mg^{2+} 浓度变化与凋亡的关系和 MagT1 沉默诱导的心肌凋亡机制奠定了实验基础。

参考文献

[1] DELVA P. Magnesium and cardiac arrhythmias[J]. Mol Aspects Med,2003,24(1):53-62.
[2] KUNUTSOR S K,KHAN H,LAUKKANEN J A. Serum Magnesium and risk of new onset heart failure in men;the kuopio ischemic heart disease study[J]. Eur J Epidemiol, 2016,31(10):1035-1043.
[3] DAS U N. Nutritional factors in the prevention and management of coronary artery disease and heart failure[J]. Nutrition,2015,31(2):283-291.
[4] JIANG L, HE P, CHEN J, et al. Magnesium levels in drinking water and coronary heart disease mortality risk: a meta-analysis[J]. Nutrients,2016,8(1):5.
[5] KIEBOOM B C, NIEMEIJER M N, LEENING M J, et al. Serum Magnesium and the risk of death from coronary heart disease and sudden cardiac death[J]. J Am Heart Assoc,2016,5(1):e002707.
[6] LEE S Y, HYUN Y Y, LEE K B, et al. Low serum Magnesium is associated with coronary artery calcification in a Korean population at low risk for cardiovascular disease

- [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2015, 25 (11): 1056-1061.
- [7] FERRÈ S, HOENDEROP J G, BINDELS R J. Insight into renal Mg^{2+} transporters[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2011, 20(2): 169-176.
- [8] CHUBANOV V, FERIOLI S, WISNOWSKY A, et al. Epithelial Magnesium transport by TRPM6 is essential for prenatal development and adult survival[J]. *Elife*, 2016, 5; e20914.
- [9] HUGUET F, CALVEZ M L, BENZ N, et al. Function and regulation of TRPM7, as well as intracellular Magnesium content, are altered in cells expressing F508-CFTR and G551D-CFTR[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(17): 3351-3373.
- [10] TSAO Y T, SHIH Y Y, LIU Y A, et al. Knockdown of SLC41A1 Magnesium transporter promotes mineralization and attenuates Magnesium inhibition during osteogenesis of mesenchymal stromal cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 39.
- [11] SHINDO Y, YAMANAKA R, SUZUKI K, et al. Altered expression of Mg^{2+} transport proteins during Parkinson's disease-like dopaminergic cell degeneration in PC12 cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(8): 1979-1984.
- [12] GOYTAIN A, QUAMME G A. Identification and characterization of a novel mammalian Mg^{2+} transporter with channel-like properties[J]. *BMC Genomics*, 2005, 6: 48.
- [13] ZHOU H, CLAPHAM D E. Mammalian MagT1 and TUSC3 are required for cellular Magnesium uptake and vertebrate embryonic development[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(37): 15750-15755.
- [14] ZHENG J, MAO X, LING J, et al. Role of Magnesium transporter subtype 1 (MagT1) in the osteogenic differentiation of rat bone marrow stem cells[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2016, 171(1): 131-137.
- [15] YU Y, JIN G, XUE Y, et al. Multifunctions of dual Zn/Mg ion co-implanted Titanium on osteogenesis, angiogenesis and bacteria inhibition for dental implants[J]. *Acta Biomater*, 2017, 49: 590-603.
- [16] MOLEE P, ADISAKWATTANA P, REAMTONG O, et al. Up-regulation of AKAP13 and MAGT1 on cytoplasmic membrane in progressive hepatocellular carcinoma: a novel target for prognosis[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 9796-9811.
- [17] WILLIS S, VILLALOBOS V M, GEVAERT O, et al. Single gene prognostic biomarkers in ovarian cancer: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0149183.
- [18] SCHLEGEL R N, CUFFE J S, MORITZ K M, et al. Maternal hypomagnesemia causes placental abnormalities and fetal and postnatal mortality[J]. *Placenta*, 2015, 36(7): 750-758.
- [19] TRAPANI V, SHOMER N, RAJCAN-SEPAROVIC E. The role of MAGT1 in genetic syndromes[J]. *Magnes Res*, 2015, 28(2): 46-55.
- [20] LI F Y, CHAIGNE-DELALANDE B, RAO V K, et al. Clinical utility gene card for: X-linked immunodeficiency with Magnesium defect, epstein-barr virus infection, and neoplasia (XMEN)[J]. *Eur J Hum Genet*, 2015, 23(6): 889.
- [21] LENARDO M, LO B, LUCAS C L. Genomics of immune diseases and new therapies[J]. *Annu Rev Immunol*, 2016, 34: 121-149.
- [22] SORTE H S, OSNES L T, FEVANG B, et al. A potential founder variant in CARMIL2/RLTPR in three Norwegian families with warts, molluscum contagiosum, and T-cell dysfunction[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2016, 4(6): 604-616.
- [23] BES S, ROUSSEL P, LAUBRIET A, et al. Influence of deep hypothermia on the tolerance of the isolated cardiomyocyte to ischemia-reperfusion[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33(11): 1973-1988.
- [24] WU Y, SHI X, LI Y, et al. Carbon nanohorns promote maturation of neonatal rat ventricular myocytes and inhibit proliferation of cardiac fibroblasts; a promising scaffold for cardiac tissue engineering[J]. *Nanoscale Res Lett*, 2016, 11(1): 284.
- [25] HUBER S A. T cells expressing the gamma delta T cell receptor induce apoptosis in cardiac myocytes[J]. *Cardiovasc Res*, 2000, 45(3): 579-587.
- [26] 滕飞翔, 吴隽松. siRNA 抑制大鼠心肌细胞 MagT1 基因表达的研究[J]. *中国老年保健医学*, 2013, 11(6): 25-26.
- [27] 蒋学友, 张丽, 俞晨, 等. SD 大鼠心肌细胞原代培养及纯化方法的优化探索[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2015, 46(2): 301-304.
- [28] 程俊, 曾晓荣, 谭晓秋, 等. 一种改良的原代大鼠乳鼠心肌细胞分离及培养方法[J]. *四川生理科学杂志*, 2016, 38(4): 187-189.
- [29] TASHIRO M, INOUE H, KONISHI M. Magnesium homeostasis in cardiac myocytes of Mg-deficient rats[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e73171.

(收稿日期: 2017-06-18 修回日期: 2017-08-26)