

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.24.003

miR-78 抑制心肌部分梗死模型大鼠心肌纤维化机制探讨*

赖增华¹, 颜春菊¹, 吴淑静¹, 窦学凯¹, 范长青¹, 魏梅娟²

(1. 中国人民解放军第一七四医院·厦门大学附属成功医院心内科, 福建 厦门 360001; 2. 中国人民解放军第一八〇医院心内科, 福建 泉州 362000)

摘要:目的 探讨 microRNA-78(miR-78)抑制心肌部分梗死模型大鼠心肌纤维化的作用机制。方法 采用结扎左前降支建立大鼠心肌梗死模型,分析 miR-78 在模型大鼠心肌梗死部位的表达,采用 miR-78 前体慢病毒载体过表达来分析 miR-78 在大鼠心肌梗死过程中的作用。评价心肌功能,并测定纤维化相关因子 I 胶原(COL1)和 ACTA2 表达水平。从新生的大鼠中分离出心肌纤维化细胞,进行荧光素酶试验,转染野生型或突变型 GATA4 3'UTR 质粒和 miR-78,研究 GATA4 和 miR-78 表达水平之间的关系。并通过转染 GATA4 特异性小干扰 RNA 验证 COL1 和 ACTA2 表达水平的变化。结果 与假手术组相比,手术组 I 区和 B 区的 miR-78 表达水平均显著降低($P < 0.05$),术后 2 周的表达水平降低最明显,术后 4 周表达水平略有升高。实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-PCR)结果显示,premiR-78 组的 miR-78 水平明显高于转染对照组($P < 0.05$);转染对照组梗死面积约为 50%,但 miR-78 过表达后,梗死面积明显减少至约 30%。假手术组左室射血分数(LVEF)约为 60%,术后降至约 20%;左室缩短率(LVFS)由手术前的 30% 左右减少到手术后的 15% 左右,miR-78 表达水平明显恢复。心肌梗死诱导后 COL1 mRNA 和 ACTA2 mRNA 表达水平均明显升高($P < 0.05$),而 miR-78 过表达时两者均受到抑制($P < 0.05$)。当靶序列发生突变(mut-GATA4 3'UTR)时,miR-78 的过表达对荧光素酶活性影响不显著($P > 0.05$);Si-GATA4 组与对照组相比,GATA4 mRNA 显著下调表达水平($P < 0.05$);当 GATA4 被抑制时,COL1 和 ACTA2 的蛋白水平均被抑制。结论 miR-78 可抑制心肌部分梗死模型大鼠心肌纤维化,作用机制可能为下调 GATA4 表达,导致 COL1 和 ACTA2 的表达下调。

关键词: miR-78;心肌梗死;心肌纤维化;大鼠;GATA4;COL1;ACTA2

中图分类号:R965;R972

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)24-0008-06

Mechanism of miR-78 Inhibiting Myocardial Fibrosis in Rats with Partial Myocardial Infarction

LAI Zenghua¹, YAN Chunju¹, WU Shujing¹, DOU Xuekai¹, FAN Changqing¹, WEI Meijuan²

(1. Department of Cardiology, The 177th Hospital of PLA, Chenggong Hospital Affiliated to Xiamen University, Xiamen, Fujian, China 360001;

2. Department of Cardiology, The 180th Hospital of PLA, Quanzhou, Fujian, China 362000)

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism of microRNA-78(miR-78) inhibiting myocardial fibrosis in rats with partial myocardial infarction. **Methods** The rat model with myocardial infarction was established by ligation of left anterior descending branch, the expression of miR-78 in the infarcted area was analyzed, and the role of miR-78 in rat myocardial infarction was analyzed by overexpression of miR-78 precursor lentivirus vector. The cardiac function was evaluated and the expression of fibrosis-associated factors I collagen(COL1) and ACTA2 was measured. The myocardial fibrotic cells isolated from newborn rats were transfected with wild-type or mutant GATA4 3'UTR plasmid and miR-78 by luciferase assay to study the relationship between GATA4 and the expression of miR-78. The changes in the expression of COL1 and ACTA2 were confirmed by transfection with GATA4 specific small interfering RNA. **Results** Compared with that in the sham operation group, the expression level of miR-78 in area I and area B in the operation group was significantly lower($P < 0.05$), the expression level of miR-78 was the lowest in the two weeks after operation, and the expression level of miR-78 was slightly higher in the four weeks after operation, the results of real-time quantitative polymerase chain reaction(RT-PCR) showed that the expression level of miR-78 in the premiR-78 group was significantly higher than that in the transfection control group($P < 0.05$). The infarct area of the transfection control group was about 50%, but after overexpression of miR-78, the infarct area decreased to about 30%, the left ventricular ejection fraction(LVEF) of the sham operation group was about 60%, and it decreased to about 20% after the operation. The left ventricular shortening rate(LVFS) of the sham operation group decreased from 30% before the operation to about 15% after the operation, and the expression level of miR-78 recovered significantly($P < 0.05$), the expression levels of COL1 mRNA and ACTA2 mRNA were significantly increased after induction of myocardial infarction($P < 0.05$), while the expression of COL1 mRNA and ACTA2 mRNA was inhibited with the overexpression of miR-78($P < 0.05$). When the target sequence mutated(mut-GATA4 3'UTR), the overexpression of miR-78 had no significant effect on the luciferase activity($P > 0.05$). Compared with that in the control group, the expression level of GATA4 mRNA in Si-GATA4 group decreased significantly($P < 0.05$). When GATA4 was inhibited, the levels of COL1 and ACTA2 protein were inhibited. **Conclusion** miR-78 can inhibit myocardial fibrosis in rats with partial myocardial infarction. The mechanism may be that down-regulating the expression of GATA4 leads to down-regulating the expression of COL1 and ACTA2.

Key words: miR-78; myocardial infarction; myocardial fibrosis; rats; GATA4; Col1; ACTA2

*基金项目:福建省自然科学基金[2016J01405]。

第一作者:赖增华,男,硕士研究生,主治医师,研究方向为心力衰竭的发生机制,(电子信箱)laizenghua1984@163.com。

心肌梗死从发病机制来看最明显的特征是胶原积累,胶原主要由心肌成纤维细胞合成,可导致心肌梗死后纤维化。胶原蛋白在健康心脏中表达水平较低,但在梗死部位和外周带心肌梗死部位表达增加^[1]。陈璐等^[2]的研究中,在大鼠心肌梗死后第7天,可清楚地观察到梗死部位心肌纤维化,导致心脏功能障碍。潜在的心肌纤维化检测和评估技术已有报道,如超声背散射^[3]。心肌纤维化的新治疗方法,尤其是干细胞移植策略^[4]已引起关注,且相关的分子机制如C3G蛋白作用机制也已被揭示^[5],但仍需更多关于心肌梗死和纤维化的详细信息。GATA-4是心脏发育的重要调控因子^[5],可通过激活不同基因介导心脏肥大^[6]。各种肥厚性刺激,可激活GATA-4在心肌细胞的表达^[7]。GATA-4在低氧损伤和心肌缺血或再灌注损伤时调节心肌细胞的抗凋亡信号通路中也有重要作用^[8],已被认为是治疗缺血性心脏病的一个潜在治疗靶点^[9]。microRNA是由基因组编码的短RNA,通过与mRNA的3'非翻译区(UTR)的结合抑制翻译或促进mRNA的降解^[10]。单个微小RNA可识别各种靶mRNA,单个mRNA可同时与多个微小RNA结合,构成精细调节系统。microRNAs对GATA-4的调控作用在心肌梗死和纤维化中的作用如下 miR-200c的下调通过靶向GATA-4保护心肌细胞免受缺氧诱导的凋亡^[11];miR-122的下调导致GATA-4表达增强,从而抑制缺氧/复氧诱导的心肌细胞凋亡^[12]。进一步研究对GATA-4具有调控作用的miRNA,对于治疗心肌梗死和心肌纤维化具有重要意义。目前关于microRNA-78(miR-78)的研究较少,经预测分析发现,其可能作用于GATA-4。本研究中探讨了miR-78对GATA-4的可能作用机制,以及该作用对心肌部分梗死模型大鼠心肌纤维化的影响。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物、仪器与试剂

动物:SD大鼠60只,28~32周龄,体质量(250±20)g;新生大鼠10只,雌雄各半。在24℃、50%相对湿度条件下饲养7d。自由饮食饮水。本实验经本地动物实验伦理委员会批准,且根据条例规定进行。

仪器:超声心动仪(10S探头,图像深度2~4cm,频率11.4MHz);FACSCanto流式细胞仪(美国BD公司)。

试剂:硫酸阿托品注射液(上海禾丰制药有限公司,国药准字H31021057,规格为每支2mL:10mg);胰蛋白酶(货号25300054)、DMEM/F12培养基(货号11330057,含胎牛血清)均购自美国Gibco公司;磷酸二

2000转染液(货号11668019)、TRIzol裂解液(货号1559602),均购自美国Invitrogen公司;BCA蛋白检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号P0012S);一抗(抗COL1、抗ACTA2和抗GATA4),均购自美国Abcam公司(批号分别为ab96723,ab5694,ab84593)。

1.2 方法

分组与建模:将60只SD大鼠随机分为手术组(45只)和假手术组(15只)。手术组大鼠用乙醚麻醉,腹腔注射氯胺酮注射液(75mg/kg);注射硫酸阿托品注射液(上海禾丰制药有限公司,国药准字H31021057,规格为每支2mL:10mg)20μg/kg,以减少呼吸道分泌物。大鼠连置术台后,连接心电图和呼吸机(呼吸速率为80次/分,吸气呼气比为1:2,潮气量为18mL/kg)。打开胸膜,暴露心脏,左前降支(LAD)与普洛林和针头(直径0.5mm)结扎,然后用碘伏封闭和消毒胸部和皮肤,大鼠心脏复苏后取出呼吸机,术后10min心电图J点升高表明心肌梗死模型建立。假手术组大鼠进行上述除结扎步骤外的所有手术。为了预防感染,所有大鼠均在手术后3d内注射青霉素。

心肌纤维细胞培养:新生大鼠麻醉,心脏采血。将心脏标本切成约每片1mm³,在37℃下用胰蛋白酶消化15min,然后收集细胞,置含有胎牛血清的DMEM/F12培养基中,在37℃、5%CO₂条件下培养。90min后取出细胞悬液,收集贴壁细胞进行培养。当纯度达95%时,用抗波形蛋白、抗血管性血友病因子、抗结蛋白检测心肌成纤维细胞的纯度。

慢病毒转染:由GenePharma公司设计和构建慢病毒过表达miR-78前体和空白慢病毒。慢病毒注入模型大鼠的冠状动脉。大鼠饲养4周后取样和检测。在细胞转染中,将细胞在24孔板(密度1×10⁵/孔)中预培养24h,用6μg/mL聚溴胺和慢病毒悬浮液处理,培养24h,后更换新鲜培养基,培养48h后用流式细胞仪检测转染效率。

心肌功能评价:术后14d,麻醉大鼠,超声心动图检测左室缩短率(LVFS)和左室射血分数(LVEF)。每组3只大鼠,采样;其余心脏标本切片,置4%多聚甲醛中固定8h,石蜡包埋,切成6μm切片,用Masson染色法进行染色;然后将玻片染色,苏木精染色7min,浸入1%盐酸30s,用胭脂红染色5min,浸入磷酸二乙酸酯缓冲液和苯胺蓝中各5min,再浸入磷酸二乙酸酯缓冲液中1min;乙酸脱1min,将玻片与中性香脂结合,用光学显微镜观察。随机选取3个视觉点,用QWIN软件计算梗死面积。

荧光素酶试验:使用 Multi Site - Directed 试剂盒对 GATA4 3'非翻译区(UTR)的结合位点进行突变。然后将突变型或野生型 GATA4 3'UTR 连接到 pGL3 - basic 载体,在 12 孔板转染心肌纤维细胞(密度 3×10^4 个/孔)。载体 pHRL - TK 作为内参被共同转染。以聚合酶测定荧光素酶活性。

siRNA 转染:通过转染 siRNA 或 siRNA 对照来进行 GATA4 的特异性敲低,使用转染剂 Lipofectamine 2000 培养心肌纤维细胞,转染前将细胞预培养于 24 孔板中(密度 1×10^5 /孔)24 h,转染后于无血清培养基中培养,转染后 36 h 收集转染细胞进一步分析。

实时定量聚合酶链反应(RT - PCR):分别于建模后 1,2,4 周采集大鼠心肌梗死区(I)和梗死边缘区(B)。收集 siRNA 转染的细胞。总 RNA 提取用 TRIzol 裂解液,miRNA 提取用小核糖核酸的 RNAiso。采用 PrimeScript First 链 cDNA 合成技术进行反转录,扩增条件见表 1,引物设计见表 2,反应体系见表 3。以 U6 和 GAPDH 为内参。数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行分析。

表 1 RT - PCR 反应条件

步骤	温度(℃)	时间	
预变性	95	10 min	40 个循环
变性	94	30 s	
退火/延伸	60	1 min	
融解曲线分析	94	15 s	
	60	1 min	
	94	15 s	
	60	15 s	

表 2 RT - PCR 引物序列设计

基因	上游	下游
miR - 78	5' - ACACTCCAGCTGGGATAAGACGAAA - 3'	5' - TGCTGTCGTGGAGTCG - 3'
COL1A1	5' - CAAGATGCTGGCCGTTACTAC - 3'	5' - GCTCCGATGTTCTCAATT - 3'
ACTA2	5' - AGGGAGTGTGCTGGAATG - 3'	5' - GGTGATGATGCCGTGTTCTA - 3'
U6	5' - CTCGCTTCGGCAGCACA - 3'	5' - AACGCTTCACGAATTTGCGT - 3'
GAPDH	5' - GATCGATGCCGCTGCTAAGA - 3'	5' - TCCTATGGGAGAACGGCAGA - 3'

表 3 RT - PCR 反应体系

项目	体积(μL)	项目	体积(μL)
Forward Primer(5 μmol/L)	1	Template DNA	1
Reverse Primer(5 μmol/L)	1	RNase - Free Water	7
2 × GoldStar Best MasterMix	10		

蛋白质印迹试验:在模型诱导和转染细胞 2 周后收集 I 区的组织样品进行蛋白质提取。用 RIPA 裂解液对蛋白样品进行裂解,并用 BCA 蛋白检测试剂盒定量。用十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,加样量为每孔 20 μg。凝胶上的蛋白条带被转移到二氟乙烯薄膜上,然后在室温下以 5% 的脱脂牛奶封闭 2 h。一抗中孵

育 4 ℃ 过夜,然后在辣根过氧化物酶结合的二级抗体中室温下持续孵育 1 h。以 ECL 显影液进行显影,并用 Image J 软件进行分析,以 GAPDH 作为内参。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示。组间比较行单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR - 78 表达水平在心肌梗死的心脏中降低

术后 1,2,4 周检测 miR - 78 的变化,结果见表 4。与假手术组相比,手术组 I 区和 B 区的 miR - 78 表达水平均显著降低($P < 0.05$)。术后 2 周表达水平降低最明显,术后 4 周表达水平略有升高(I 区比 B 区降低得更严重,这表明心肌梗死组织中 miR - 78 减少)。

表 4 术后心肌梗死组织中 miR - 78 的表达水平($\bar{X} \pm s$)

组别	第 1 周	第 2 周	第 4 周
假手术组	0.99 ± 0.03	1.01 ± 0.04	1.00 ± 0.05
手术组 I 区	0.58 ± 0.01	0.46 ± 0.03	0.85 ± 0.06
手术组 B 区	0.62 ± 0.02	0.60 ± 0.01	0.91 ± 0.07
F 值	54.22	49.02	54.02
P	< 0.05	< 0.05	< 0.05

2.2 miR - 78 过表达缓解心肌梗死损伤

转染 miR - 78 前体,premiR - 78 过表达。并在手术和转染后 2 周进行验证(见表 5)。RT - PCR 结果显示,premiR - 78 组 miR - 78 表达水平显著高于转染对照组($P < 0.05$),表明 miR - 78 成功过表达,转染样品适合进一步检测。

转染对照组梗死面积约为 50%,在 miR - 78 过表达后,梗死面积明显减少至 30% ($P < 0.05$,见表 5)。假手术组 LVEF 约为 60%,术后降至 20% ($P < 0.05$),详见表 6;随着 miR - 78 的高表达,LVEF 增至 30% ($P < 0.05$)。同样,假手术组 LVFS 由手术前的 30% 左右减少到手术后的 15% 左右($P < 0.05$),详见表 6。miR - 78 明显恢复($P < 0.05$),表明 miR - 78 过表达可减轻心肌梗死程度。

表 5 miR - 78 表达及梗死面积($\bar{X} \pm s$)

组别	miR - 78 表达量	梗死面积(%)
转染对照组	0.98 ± 0.03	48.43 ± 0.53
premiR - 78 组	10.18 ± 0.21	34.98 ± 0.73
t 值	75.12	25.82
P	< 0.05	< 0.05

2.3 miR - 78 对 COL1A1 和 ACTA2 的抑制作用

由于在诱导心肌梗死的模型中,miR - 78 能改善心功能,减少梗死面积,因此本研究中进一步探索 miR - 78 是否影响 COL1 和 ACTA2 等纤维化相关因子的表达。经

表6 心肌梗死手术后LVEF和LVFS的水平($\bar{X} \pm s, \%$)

组别	LVEF	LVFS
假手术组	60.02 ± 2.33	32.04 ± 2.43
转染对照组	22.98 ± 2.03	14.43 ± 1.53
premiR-78组	35.18 ± 1.21	27.98 ± 1.73
F值	25.627	29.632
P	<0.05	<0.05

Western印迹法检测,心肌梗死诱导后COL1和ACTA2 mRNA水平显著升高($P < 0.05$),而miR-78过表达时两者均受到抑制($P < 0.05$),详见图1和表7。上述2个因子的蛋白表达水平显示一致的变化模式,表明miR-78可能抑制COL1A1和ACTA2的表达,进一步抑制COL1和ACTA2蛋白的合成,从而减轻梗死后的心肌纤维化程度。

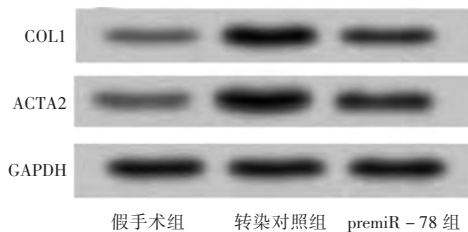


图1 COL1A1和ACTA2蛋白表达水平

表7 COL1A1和ACTA2蛋白表达水平($\bar{X} \pm s$)

组别	COL1A1	ACTA2
假手术组	0.32 ± 0.03	0.40 ± 0.03
转染对照组	0.98 ± 0.04	0.84 ± 0.13
premiR-78组	0.52 ± 0.21	0.48 ± 0.03
F值	43.805	26.741
P	<0.05	<0.05

2.4 miR-78对GATA4的抑制作用

利用在线数据库TargetScan,GATA4被作为miR-78的靶基因,用野生型和突变型GATA4 3'UTR(图2和表8)的双荧光素酶试验在培养的心肌成纤维细胞中证实了这一点。miR-78与WT-GATA4 3'UTR的位置1363至1369结合,但不与MUT-GATA4 3'UTR结合。据预测,miR-78过表达可抑制WT-GATA4 3'UTR载体的荧光素酶活性。然而,当靶序列发生突变(mut-GATA4 3'UTR)时,miR-78的过表达对荧光素酶活性影响不显著($P > 0.05$),详见表8。这些结果表明,GATA4是miR-78的直接靶标,其3'UTR序列GUCUUA为相互作用位点。miR-78的高表达导致GATA4蛋白表达下调($P < 0.05$),表明miR-78能直接与GATA4结合抑制其表达。

基于miR-78在抑制中的作用分析心肌纤维化的相关因素、GATA4与上述因素的关系,以验证miR-78是否通过GATA4起作用,在此之前,GATA4被小干扰RNA(si-GATA4)抑制,并检测其情况,详见表9。结果

显示,si-GATA4组与对照组相比,能显著降低GATA4 mRNA表达水平($P < 0.05$)。然后在这些细胞样本中检测发现,当GATA4被抑制时,COL1和ACTA2的蛋白水平均被抑制(图3)。上述结果提示,miR-78可直接抑制GATA4,并能抑制纤维化相关因子COL1和ACTA2的表达,这可能是miR-78在心肌梗死后纤维化中的调节机制。

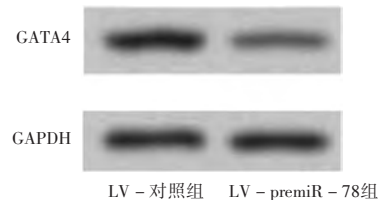


图2 GATA4蛋白表达水平

表8 GATA4蛋白表达水平($\bar{X} \pm s$)

组别	GATA4
转染对照组	0.76 ± 0.21
premiR-78组	0.34 ± 0.15
t值	2.819
P	<0.05

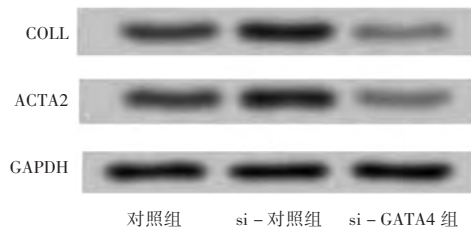


图3 COL1和ACTA2蛋白表达量

表9 COL1和ACTA2蛋白表达水平($\bar{X} \pm s$)

组别	COL1	ACTA2
对照组	0.32 ± 0.03	0.40 ± 0.03
si-对照组	0.48 ± 0.04	0.64 ± 0.13
si-GATA4组	0.12 ± 0.21	0.18 ± 0.03
F值	41.217	23.835
P	<0.05	<0.05

3 讨论

本研究发现,miR-78在心肌梗死大鼠模型心脏中表达下调,并揭示其在心肌梗死后心肌纤维化的调节作用。进一步的分析显示,miR-78可能的靶向区域为GATA4 3'UTR,从而降低GATA表达水平,进而可能抑制梗死后心肌纤维化的进展。

本研究中采用2种纤维化相关因子COL1和ACTA2作为心肌纤维化指标。COL1由 $\alpha 1$ 链(由COL1A1编码)和 $\alpha 2$ 链(由COL1A2编码)组成的三螺旋组成。它通常被用作各种疾病中纤维化的标志,包括心肌纤维化。正常大鼠心脏COL1水平较低,但诱导心肌梗死后COL1水平升高^[13]。本研究结果表明,心肌梗死诱导后I区

COLLA1 和蛋白 COL1 表达水平均升高,表明心肌纤维化加重。miR-78 的过表达抑制 COL1A1 转录和 COL1 合成。ACTA2 在二联症中也被证明与纤维化高度相关^[14-15],在心肌梗死后可促进其 mRNA 和蛋白质水平的升高,该状况可被 miR-78 过表达所抑制。可见,由于 miR-78 的过度表达可降低与纤维相关的因素 COL1 和 ACTA2 的高表达水平从而抑制了心肌纤维化。

GATA4 是重要的转录调控因子,可调节心脏发育过程和疾病相关基因^[16],是心肌细胞肥大和纤维化的重要指标。人 GATA4 与 DNAS1 超敏位点结合 COL1A2 基因可下调 COL1A2 的表达^[17]。本研究结果表明,miR-78 过表达抑制了 GATA4,这也与下调的 si-GATA4 心肌成纤维细胞中的 COL1 和 ACTA2 有关。与 miR-78 过表达对心肌纤维化的保护作用一致,表明 GATA4 在梗死后心肌纤维化中具有促进作用。然而,GATA4 在其他细胞类型或组织,如胎鼠肝间充质细胞中可能起着不同的作用,其中 GATA4 敲除导致了晚期肝纤维化^[18]。本研究中,GATA4 对心肌纤维化的作用是通过 COL1 和 ACTA2 实现的,但在其他细胞中可能通过其他因素发挥作用。本研究中发现,miR-78 在心肌梗死后心脏的 I 区和 B 区表达下调,而在心肌梗死后血浆中表达上调。miR-78 表达水平的升高可作为急性心肌梗死后心肌损伤和左心室重构的生物标志物。心肌成纤维细胞水平的降低和血浆水平的升高可能是由细胞释放 miR-78 所致。血浆中 microRNA 的存在除了在人类之外,还存在于各种动物物种中,且来源于循环血细胞和其他受疾病影响的细胞^[19]。细胞通过外来体、微泡或蛋白复合体选择性地一些早熟和成熟的 microRNAs 释放到血液^[20]。从这个角度来看,本研究中的下调 miR-78 表达与其在血浆中的上调表达并不矛盾。故可推测,在心肌梗死期间,miR-78 向血浆的释放可能会增加。

心肌梗死时细胞内 miR-78 表达水平的变化是否与其转录活性或细胞释放活性有关尚不清楚,有待进一步研究。但 miR-78 的保护作用不可否认。除了在心血管疾病中的作用外,本研究中还进一步证实其在心肌梗死期间具有抗纤维化功能,从而减少对心脏的损害。目前已有大量报道指出 microRNA 是疾病可能的治疗靶点^[19-21],miR-78 的潜在应用可能是减轻梗死后心肌纤维化的一种替代方法。

综上所述,miR-78 可抑制心肌梗死大鼠心肌纤维化,作用机制可能为下调 GATA4 表达,从而下调 COL1 和 ACTA2 的表达。

参考文献:

[1] 陈章荣,吴新华,罗开良,等. PDTC 对大鼠心肌梗死后 NF- κ B 与 MMP-2 表达及心肌胶原重塑的影响[J]. 重庆医学,

2013,42(25):3004-3007.

- [2] 陈璐,赵鑫. 环孢素 A 预处理对离体大鼠心肌细胞凋亡及心脏乳酸脱氢酶和 Na⁺,K⁺-ATP 酶活性的影响[J]. 中国药业, 2018,27(10):12-15.
- [3] SUN J, RONG Z, WUGETI N, et al. Experimental evaluation of myocardial fibrosis in a rapid atrial pacing model in New Zealand rabbits using quantitative analysis of ultrasonic backscatter[J]. Medical Science Monitor, 2014,20(2):1884-1889.
- [4] YANG S, PIAO J, JIN L, et al. Does pretreatment of bone marrow mesenchymal stem cells with 5-azacytidine or double intravenous infusion improve their therapeutic potential for dilated cardiomyopathy? [J]. Medical Science Monitor Basic Research, 2013, 19(45):20-31.
- [5] HE JG, LI HR, HAN JX, et al. GATA-4-expressing mouse bone marrow mesenchymal stem cells improve cardiac function after myocardial infarction via secreted exosomes[J]. Sci Rep, 2018, 8(1):9047.
- [6] SUZUKI YJ. Cell signaling pathways for the regulation of GATA4 transcription factor: Implications for cell growth and apoptosis[J]. Cell Signal, 2011,23(7):1094-1099.
- [7] CUI S, XUE L, YANG F, et al. Postinfarction Hearts Are Protected by Premature Senescent Cardiomyocytes Via GATA-4-Dependent CCN1 Secretion[J]. J Am Heart Assoc, 2018,7(18):e009111.
- [8] JAN MI, KHAN RA, ALI T, et al. Interplay of mitochondria apoptosis regulatory factors and microRNAs in valvular heart disease[J]. Arch Biochem Biophys, 2017,633:50-57.
- [9] RYSÄ J, TENHUNEN O, SERPI R, et al. GATA-4 is an angiogenic survival factor of the infarcted heart[J]. Circ Heart Fail, 2010,3(3):440-450.
- [10] ROMAO JM, JIN W, HE M, et al. MicroRNAs in bovine adipogenesis: Genomic context, expression and function[J]. BMC Genomics, 2014,15(1):137.
- [11] CHEN Z, ZHANG S, GUO C, et al. Downregulation of miR-200c protects cardiomyocytes from hypoxia-induced apoptosis by targeting GATA-4[J]. Int J Mol Med, 2017, 39(6): 1589-1596.
- [12] LIANG W, GUO J, LI J, et al. Downregulation of miR-122 attenuates hypoxia/reoxygenation(H/R)-induced myocardial cell apoptosis by upregulating GATA-4[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016,478(3):1416-1422.
- [13] 李娇,赵信科,魏惠平,等. Wnt 信号通路与心肌纤维化的研究进展和应用前景[J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 18(33):1828-1831.
- [14] WANG S, MA N, KAWANISHI S, et al. Relationships of Alpha-SMA-Positive Fibroblasts and SDF-1-Positive Tumor Cells with Neoangiogenesis in Nasopharyngeal Carcinoma[J]. Biomed Research International, 2014,2014(2):507353.
- [15] ROCKEY D C, WEYMOUTH N, SHI Z. Smooth Muscle α Actin (Acta2) and Myofibroblast Function during Hepatic Wound Healing[J]. PLoS One, 2013,8(10):e77166.