

miR-92b-3p 靶向肌细胞增强子 2D 抑制心肌细胞肥大

胡志琴^{1,2}, 朱杰宁², 杨 静³, 林秋雄², 符永恒², 张梦珍², 吴书林², 单志新^{1,2}
(1. 南方医科大学药学院, 广东 广州 510515; 2. 广东省心血管病研究所//广东省人民医院//广东省医学科学院, 广东 广州 510080; 3. 华南理工大学医学院, 广东 广州 510632)

摘要:【目的】探讨微小RNA microRNA-92b-3p(miR-92b-3p)对心肌细胞肥大的调控作用及其作用靶基因。【方法】建立血管紧张素Ⅱ(Ang-Ⅱ)诱导的C57BL/6小鼠心肌肥厚模型。通过尾静脉注射胆固醇修饰的miR-92b-3p模拟物(agomiR-92b-3p)来增加小鼠心肌中miR-92b-3p水平,分别设立3个实验组:agomiR-negative control(agomiR-NC)+saline组,agomiR-NC+Ang-Ⅱ组,agomiR-92b-3p+Ang-Ⅱ组。用Ang-Ⅱ诱导乳小鼠心肌细胞建立心肌细胞肥大模型;双荧光素酶报告基因实验检测miR-92b-3p与潜在靶基因MEF2D 3'端非翻译区(3'-UTR)的结合作用;蛋白印迹法检测MEF2D及肥厚相关蛋白的表达。【结果】(1)Ang-Ⅱ诱导的小鼠肥厚心肌和肥大心肌细胞分别与对照组中心肌肥厚相关基因ANP、ACTA1和β-MHC水平比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);(2)双荧光素酶报告基因实验结果提示miR-92b-3p与MEF2D 3'UTR具有相互结合作用;miR-92b-3p可在转录后水平抑制MEF2D的表达;升高miR-92b-3p或降低MEF2D水平能一致性地抑制Ang-Ⅱ诱导的乳小鼠心肌细胞肥大表型。【结论】MEF2D是miR-92b-3p的靶基因,并介导了miR-92b-3p发挥抑制心肌细胞肥大的作用。

关键词: 心肌肥厚;microRNA-92b-3p;MEF2D

中图分类号: R329.21 文献标志码: A 文章编号: 1672-3554(2017)06-0820-07

Targeting Myocyte-specific Enhancer Factor 2D Contributes to the Suppression of Cardiac Hypertrophic Growth by MiR-92b-3p in Cardiomyocytes

HU Zhi-qin^{1,2}, ZHU Jie-ning², YANG Jing³, LIN Qiu-xiong², FU Yong-heng², ZHANG Meng-zhen²,
WU Shu-lin², SHAN Zhi-xin^{1,2}

(1.School of Pharmacy, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Guangdong Cardiovascular Institute, Guangdong General Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China; 3. School of Medicine, South China University of Technology, Guangzhou 510632, China)

Corresponding to: SHAN Zhi-xin; E-mail: zhixinshan@aliyun.com

Abstract: 【Objective】 To investigate the role and the potential target of miR-92b-3p in angiotensin Ⅱ (Ang-Ⅱ)-induced mouse cardiac hypertrophy. 【Methods】 Ang-Ⅱ-induced cardiac hypertrophy models were established in adult C57BL/6 mice. AgomiR-92b-3p, the cholesterol-modified miR-92b-3p mimic, was delivered to increase the level of miR-92b-3p in mouse myocardium via tail vein injection. In the present study, three groups of mice were used in the animal experiment as follows, the agomiR-negative control (agomiR-NC)+saline group, the agomiR-NC+Ang-Ⅱ group and the agomiR-92b-3p+Ang-Ⅱ group. A cell model of cardiac hypertrophy was also established in Ang-Ⅱ-induced neonatal mouse cardiomyocytes in this study. Luciferase activity was assayed after transfection using a luciferase reporter assay system. The expression of Myocyte-specific enhancer factor 2D (MEF2D) and hypertrophy-related genes atrial natriuretic peptide (ANP), cardiac muscle α-actin (ACTA1) and β-myosin heavy chain (MHC) at mRNA and protein levels in Ang-Ⅱ-induced hypertrophic myocardium and cardiomyocytes were detected by qRT-PCR and Western blot, respectively. 【Results】 The expression of ANP, ACTA1, β-MHC were markedly increased in Ang-Ⅱ-induced hypertrophic myocardium and cardiomyocytes. Dual luciferase reporter assay revealed that MEF2D is a potential target gene of miR-

收稿日期: 2017-07-03

基金项目: 国家自然科学基金(91649109, 81470439, 81770264); 广东省自然科学基金(2014A030313635, 2013B022000083); 广东省医学研究基金(A2015187)

作者简介: 胡志琴, 硕士研究生, E-mail: zhiqinhu123@163.com; 单志新, 通信作者, 研究员, 博士生导师, E-mail: zhixinshan@aliyun.com

92b-3p. And miR-92b-3p can reduce the expression of MEF2D at the post-transcriptional level. Functionally, miR-92b-3p mimic, consistent with MEF2D siRNA, inhibited cell size increase and protein expression of ANP, ACTA1 and β -MHC in Ang-II-treated mouse cardiomyocytes. 【Conclusions】 MEF2D is a novel target of miR-92b-3p, a target gene of miR-92b-3, which mediates the effect of miR-92b-3p on attenuating cardiomyocyte hypertrophy.

Key words: cardiac hypertrophy; miR-92b-3p; MEF2D

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(6): 820-826; 877]

心肌肥厚是心肌重塑过程中一个非常重要的组成部分,是心血管疾病最为常见的并发症之一。心肌肥厚是心脏在遗传、环境、多种生理及病理因素作用下,为了适应心脏做功增加而出现的的心脏质量和体积增加。心肌在压力性负荷或内源性刺激条件下发生代偿性心肌肥厚,而持续的肥厚会导致失代偿作用,甚至引起心衰^[1]。尽管人们已经初步了解心肌肥厚时可能发生的病理改变及其演变过程,以及可能导致心肌肥厚的关键生理和病理因素,但对其发生的确切分子机制尚不完全清楚。因此,研究病理因素刺激下心脏细胞的信号传导机制具有重要意义。基因表达调控贯穿生命活动和疾病发生过程,而表观遗传调控在其中发挥重要作用。表观遗传调控方式主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰和非编码RNA(如 lncRNA, microRNA, circRNA等)调控^[2]。微小RNA(microRNA, miRNA),是一类内源性的18~25个碱基的非编码单链RNA,主要以转录后水平抑制其作用靶基因^[3]。越来越多的研究表明,肥厚心肌中miRNAs表达谱发生显著改变,一些miRNAs参与心肌肥厚的发生与发展,并发挥着重要作用^[4-5]。已有研究表明,在心肌肥厚时miR-1, miR-133, miR-29, miR-30和miR-150均下调表达,而miR-21, miR-23a, miR-125, miR-195和miR-199均上调表达^[4-6]。研究发现收缩期心力衰竭患者的外周血中miR-92b-3p水平增加^[7]。miR-92b-3p在果蝇肌肉发育过程中通过负反馈方式调节Mef2的水平,但是miR-92b-3p在心肌肥厚中的作用仍不清楚^[8]。本研究旨在探讨miR-92b-3p在心肌细胞肥大中的作用及其作用靶基因。

1 材料与方 法

1.1 材 料

限制性内切酶 *Xho*I、*Eco*RI、转染试剂 Lipo-

fectamine 2000、Trizol、逆转录试剂盒、4×SDS loading buffer (Invitrogen, Carlsbad, CA); 2×SYBR Green Mix、RNAase free water (TaKaRa, Japan); miR-92b-3p mimic、MEF2D siRNA(广州锐博); BCA蛋白定量试剂盒(Thermo Scientific, USA); SDS-PAGE凝胶试剂盒(Thermo Scientific, USA); 抗GAPDH、ACTA1, anti-Rabbit, anti-mouse抗体(Protein Technology, UK); 抗ANP抗体(Bioworld, USA); 抗 β -MHC抗体(Sigma, USA); 蛋白Marker (Invitrogen, USA); PVDF膜(Millipore, USA); ECL发光液(Millipore, USA); DMEM/F12细胞培养基(Gibco, USA); 特级澳洲胎牛血清(Gibco, USA)。其他生化试剂均为进口分装或国产分析纯。

1.2 方 法

1.2.1 小鼠心肌肥厚动物模型构建 10周龄SPF级别C57BL/6雄性小鼠,体质量(20±3)g,随机分为2组,即Saline组和Ang-II模型组(每组8只)。在模型组动物背部皮下植入含血管紧张素-II的胶囊渗透泵(Ang-II, 1.46 mg·kg⁻¹·d⁻¹),对照组动物植入含等量生理盐水的胶囊渗透泵,2周后结束实验,留取小鼠心肌组织标本。留取小鼠心脏横断面(包括左右心室、心房),保存于甲醛溶液中,以做麦胚凝集素(WGA)染色。沿着心耳纵向剪开,确保每份组织中均含有左右心房、心室,分别留作RNA和蛋白标本,以进行qRT-PCR和蛋白印记检测。进而,我们拟探讨miR-92b-3p对Ang-II灌注诱导的小鼠肥厚心肌的影响,将10周龄SPF级别C57BL/6雄性小鼠随机分为3组,分别为Agomir-negative control+saline组,Agomir-negative control+Ang-II组,miR-92b-3p Agomir+Ang-II组(每组8只)。采用尾静脉注射的方式,将20 nmol的Agomir-negative control和miR-92b-3p Agomir在2周内按4个时间间隔,分别输入小鼠体内。

1.2.2 乳小鼠心肌细胞培养及处理 取新生1~

表1 PCR引物序列
Table 1 Primers used in qRT-PCR assay

Gene	Sequence (5'-3')	Product size /bp
<i>MEF2D</i>	F, CCTCCTTACCAGCCTTCAGT; R, CAGGGATGAGGTTGCTGAGA	198
<i>GAPDH</i>	F, CAAGAAGGTGGTGAAGCAGG; R, CCACCCTGTTGCTGTAGCC	200
<i>miR-92b-3p</i>	RT, GTCGTATCCAGTGCCTGTCGTGGAGT; CGGCAATTGCACTGGATACGACGGAGGCCG F, GTCGGCTATTGCACTCGTCCCGGCCTCC; R, GTGCGTGTGCTGGAGTC	66
<i>U6</i>	RT, GTCGTATCCAGTGCCTGTCGTGGAGT; CGGCAATTGCACTGGATACGAC F, GTCGGCTGTGCTCGCTTCGGCAGC; R, GTGCGTGTGCTGGAGTC	160

3 d的SPF级别C57BL/6乳鼠心脏(20只乳鼠/次,可铺1板12孔板细胞),以2.5 g/L胰蛋白酶消化法原代分离细胞。乳鼠心肌细胞(neonatal mouse cardiomyocytes, NMC)与成纤维细胞因贴壁速度不同而得以分离,收集上清液中心肌细胞,将其接种于提前用1%明胶包被过的12孔板中,加入含有100 g/L胎牛血清及100 U/mL青霉素和100 mg/mL链霉素的DMEM/F-12培养基,置于37℃、体积分数5% CO₂培养箱中培养。培养24 h后,更换一次完全培养基至稳定培养48 h。利用10 nmol/L血管紧张素-II(angiotensin-II, Ang-II)处理NMC构建细胞肥大模型。分别用100 n mol/L negative control、miR-92b-3p mimic和MEF2D siRNA处理NMC,24 h后结束实验。

1.2.3 FITC-鬼笔环肽(FITC-phalloidin)染色 将NMC种在confocal皿中,稳定生长后弃去培养基,用PBS漂洗两次,加入500 μL的40 g/L的多聚甲醛溶液固定,再用2 mg/mL的甘氨酸溶液中和多聚甲醛,摇床孵育2次,每次5 min。将10 μg/mL的FITC标记的鬼笔环肽染料37℃孵育40 min,用PBS漂洗2次,再加Hoechst33342反应液,避光37℃孵育40 min。将confocal皿倒扣于另一滴有30 μL防荧光淬灭封片剂的载玻片上,在倒置荧光显微镜下观察F-actin被染色后显示出细胞轮廓。

1.2.4 实时定量PCR检测MEF2D和miR-92b-3p的表达 用Trizol试剂提取心肌标本和NMC总RNA。取1.0 μg总RNA,加入5×的逆转录试剂4 μL(逆转录试剂盒),用oligo(dT)15和random primers逆转录出cDNA用于检测编码基因mRNA水平。取1.0 μg总RNA,用miR-92b-3p特异的RT引物逆转录出cDNA用于检测miR-92b-3p水

平。分别用GAPDH和U6作为检测编码基因和miR-92b-3p表达水平的内参照。在vii A7 Quantitative PCR System(Applied Biosystems, Carlsbad, CA)进行PCR反应和结果分析。以2^{-ΔΔCt}法计算MEF2D和miR-92b-3p的相对表达水平。本文所用PCR引物序列见表1。

1.2.5 蛋白质印记迹法检测蛋白表达 收集心肌标本和处理后的NMC,加入RIPA蛋白裂解液,冰上裂解,于4℃10 000×g离心10 min,取上清测浓度,并定量分装,加入4×上样缓冲液,95℃加热10 min使蛋白变性后,置于-80℃保存备用。蛋白样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳后,经电转至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,用5%脱脂奶粉常温封闭2 h,根据蛋白分子质量大小位置裁开,分别用相应的I抗anti-ANP(1:1 000)、anti-β-MHC(1:1 000)、anti-ACTA1(1:1 000)、anti-MEF2D(1:1 000), anti-GAPDH(1:5 000)4℃孵育过夜。TBST洗膜后,置于对应的II抗(1:5 000)4℃孵育2 h。ECL发光试剂盒显影,应用ImageJ软件进行图像分析。

1.2.6 双荧光素酶报告基因实验验证miR-92b-3p与MEF2D 3'UTR的结合作用 参照我们已报道方法^[9],分别构建包含miR-92b-3p潜在结合序列的MEF2D 3'UTR重组质粒pGL3-MEF2D-770-777及包含结合序列突变的重组质粒pGL3-MEF2D-770-777-MUT。HEK293细胞(细胞密度约为1×10⁵个/孔,12孔板)转染200 ng重组质粒,50 nmol/L miR-92b-3p mimic以及10 ng pRL-TK(表达海肾荧光素酶的内参照质粒)。转染后24 h,测定萤火虫荧光素酶(firefly luciferase, FL)及海肾荧光素酶(renilla luciferase, RL)强度,两种荧光强度比值(FL/RL)变化可反映miR-92b-3p与MEF2D 3'UTR结合的能力。

1.3 统计学分析

应用SPSS 21.0统计软件,数据均采用均数±标准误(mean±SEM)表示,两组间比较采用*t*检验;多组间比较采用单因素方差分析(one way ANOVA),并用Bonferroni校正的*t*检验进行组间两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠肥厚心肌中 miR-92b-3p 的表达水平

小鼠心肌WGA染色实验结果显示,与对照组相比,Ang-II灌注后,小鼠心肌细胞表面积明显增大($t=6.557, P=0.0028$;图1A)。Western blot实验结果显示,与空白组相比,Ang-II灌注后,心肌中肥厚相关蛋白ANP、ACTA1和β-MHC水平显著

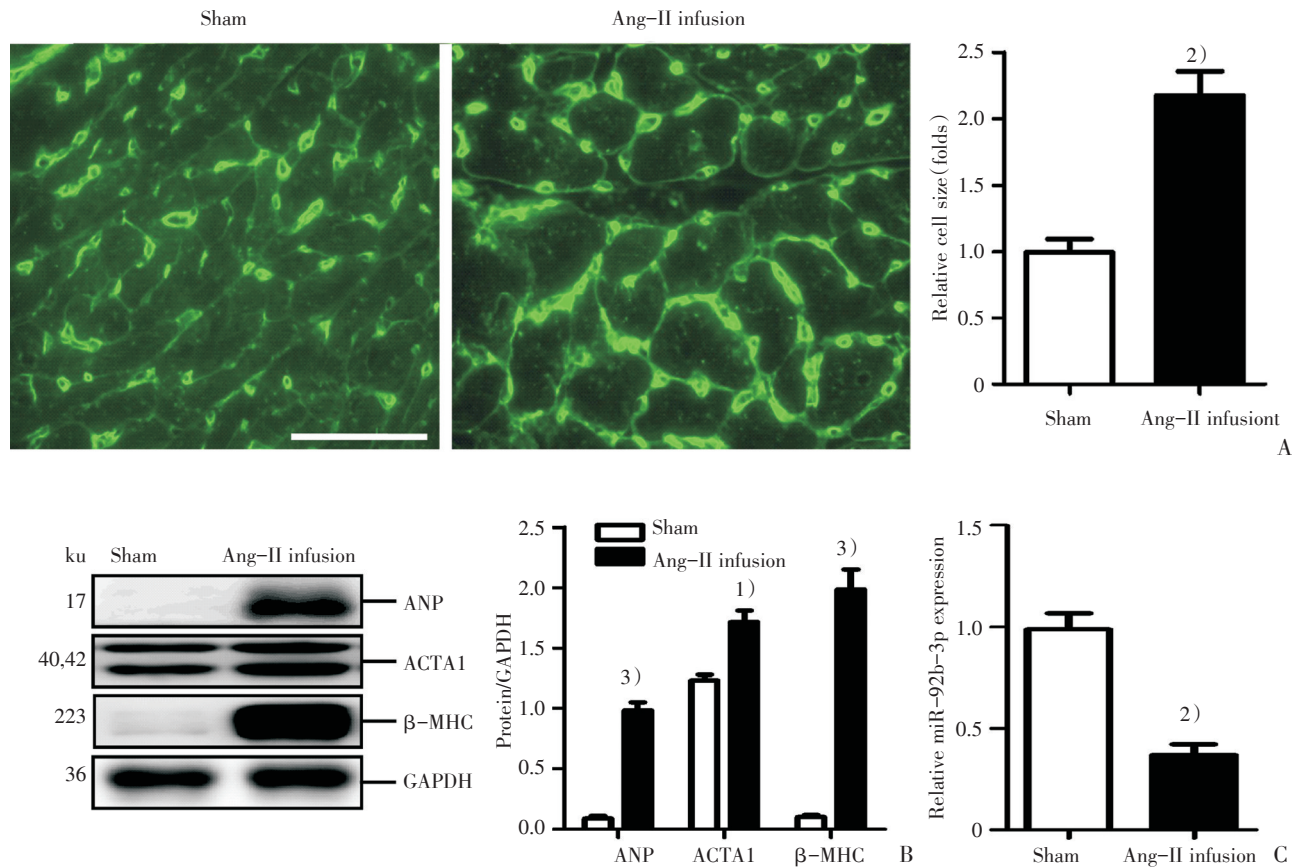
增加(图1B)。同时发现miR-92b-3p在小鼠肥厚心肌中的水平显著降低($t=4.355, P=0.0024$;图1C)。

2.2 miR-92b-3p 对小鼠心肌肥厚的影响

WGA染色实验结果显示,与对照组相比,Ang-II灌注小鼠的心肌细胞表面积明显增大,而增加小鼠心肌中miR-92b-3p水平,可显著抑制Ang-II灌注诱导的小鼠心肌细胞表面积增大(图2A)。Western blot实验结果显示,增加小鼠心肌中miR-92b-3p水平,能明显抑制Ang-II灌注小鼠心肌中肥厚相关蛋白的表达增加(图2B)。

2.3 miR-92b-3p 抑制Ang-II 诱导的小鼠心肌细胞肥大

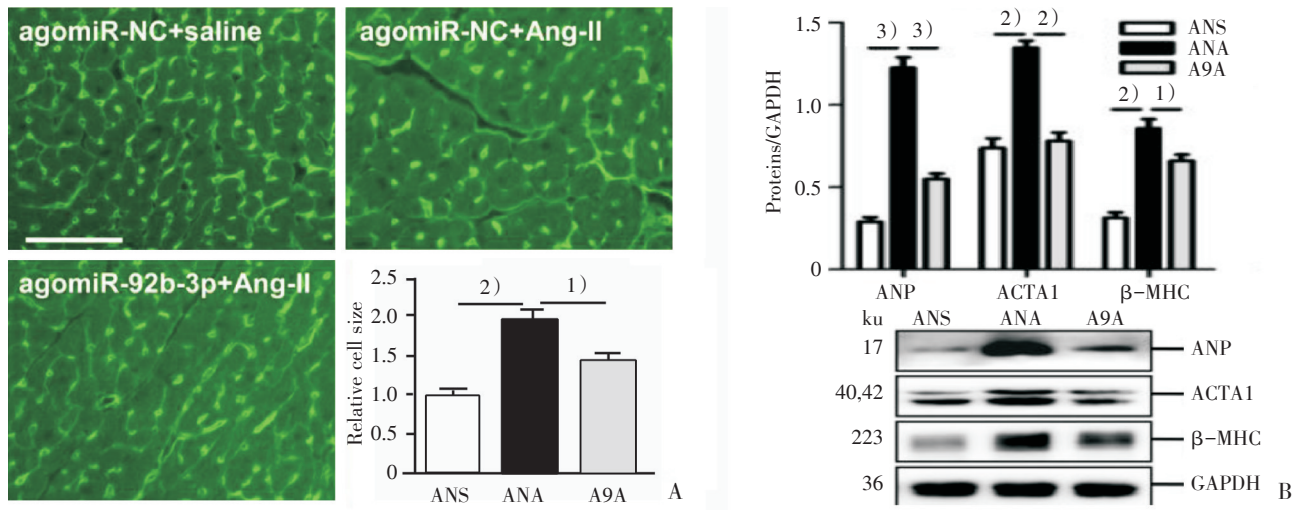
FITC-phalloidin染色结果显示,与空白组相比,10 nmol/L Ang-II处理的乳鼠心肌细胞表面积



A: WGA staining showed that the cell size of cardiomyocyte was significantly increased in the myocardium of the mouse Ang-II infusion model. B: Western-blotting results revealed that the hypertrophy-associated proteins, including ANP, ACTA1 and β-MHC, were markedly increased in the myocardium of the mouse Ang-II infusion model. C: qRT-PCR assay revealed that miR-92b-3p was significantly decreased in the myocardium of the mouse Ang-II infusion model. Data are shown as mean±SEM, 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$, 3) $P < 0.001$ vs healthy control. $n=8$.

图1 miR-92b-3p 在小鼠肥厚心肌中下调表达

Fig.1 Down-regulation of microRNA-92b-3p (miR-92b-3p) in the hypertrophic myocardium



A: The WGA staining revealed that the increase of cell size of cardiomyocyte in mouse myocardium in response to Ang- II infusion, which could be reversed by enforced expression of miR-92b-3p. B: Western-blotting results showed that the increased expression of ANP, ACTA1 and β-MHC in mouse myocardium in response to Ang-II infusion, which also could be reversed by over-expression of miR-92b-3p. ANS: agomiR-NC+saline, ANA: agomiR-NC+Ang- II, A9A: agomiR-92b-3p+Ang- II. Data are shown as mean±SEM, 1) $P<0.05$, 2) $P<0.01$, 3) $P<0.001$. $n=6-8$.

图2 增加小鼠心肌中miR-92b-3p的水平能抑制Ang-II灌注诱导的心肌肥厚效应

Fig.2 Phenotype of cardiac hypertrophy of a mouse Ang- II infusion model with enforced expression of miR-92b-3p

明显增大($t=5.928, P=0.0041$), 过表达 miR-92b-3p 可显著抑制 Ang- II 诱导的乳鼠心肌细胞表面积增加($t=4.317, P=0.0125$) (图 3A)。Western blot 实验结果显示, 与空白组相比, Ang- II 处理的 NMC 中肥厚相关蛋白 ANP、ACTA1 和 β-MHC 显著上调表达, 而过表达 miR-92b-3p 可明显抑制 Ang- II 诱导的 NMC 中 ANP、ACTA1 和 β-MHC 表达增加(图 3B)。

2.4 MEF2D 是 miR-92b-3p 作用靶基因的验证

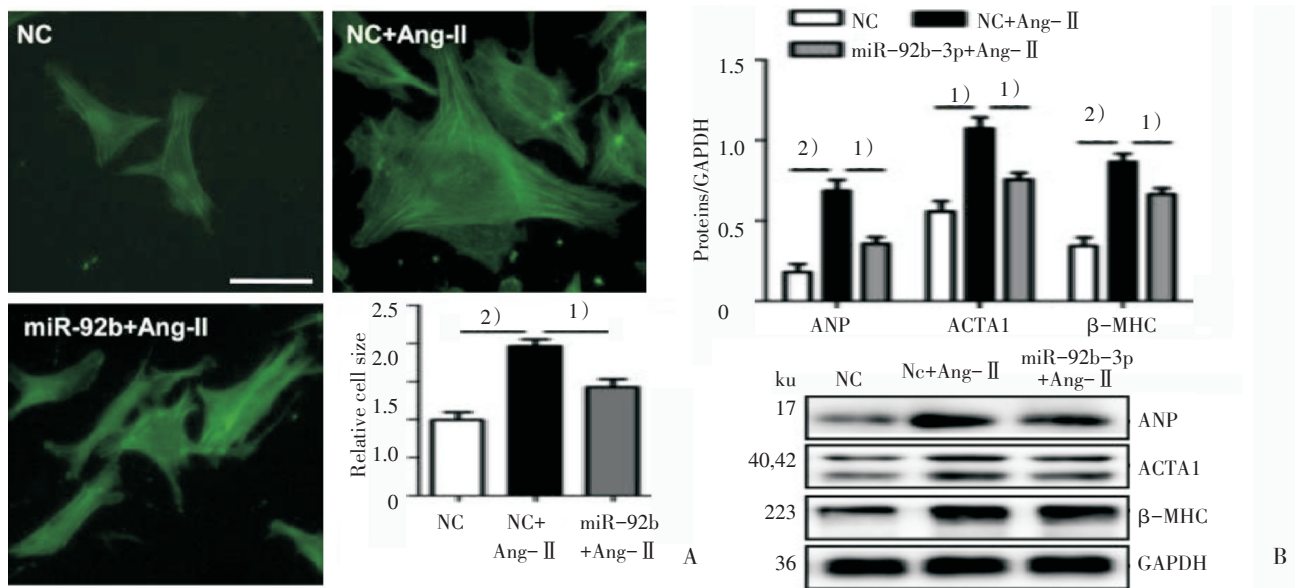
基于 Mirdb 数据库 (www.mirdb.org) 以及 TargetScan-Vert (www.targetscan.org) 的序列分析提示, MEF2D 3' UTR 的 700-777 碱基可能是 miR-92b-3p 潜在的结合位点(图 4A)。双荧光素酶报告基因实验结果显示, 共转染 miR-92b-3p mimic 与重组质粒 pGL3-MEF2D-770-777 后, FL/RL 值降低具有统计学差异, 而共转染 miR-92b-3p mimic 与重组质粒 pGL3-MEF2D-770-777-MUT 后, FL/RL 值改变没有统计学差异($t=3.182, P=0.0335$; 图 4A)。qRT-PCR 和 Western blot 检测结果显示, 增加乳鼠心肌细胞中 miR-92b-3p 的水平后, MEF2D 的 mRNA 和蛋白水平均降低($t=3.233, P=0.0319$; $t=4.249, P=0.0132$; 图 4B)。

2.5 miR-92b-3p 与 MEF2D 对心肌细胞肥大的影响

为从功能上探讨 miR-92b-3p 与 MEF2D 对心肌细胞肥大的影响, 分别将 100 nmol/L miR-92b-3p mimic 和 MEF2D siRNA 转染入 Ang- II 诱导的 NMC。FITC-鬼笔环肽染色和 Western blot 结果显示, 增加 miR-92b-3p 或减少 MEF2D 的水平一致性抑制 Ang- II 诱导的乳鼠心肌细胞表面积增大、肥大相关蛋白及 MEF2D 的上调表达(图 5)。

3 讨论

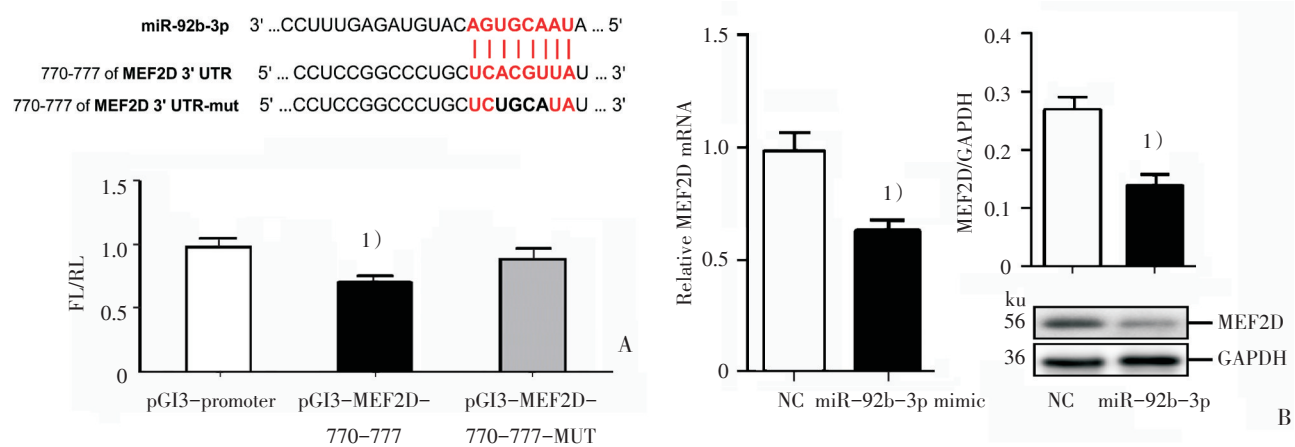
本文发现, miR-92b-3p 在 Ang- II 灌注诱导的小鼠肥厚心肌中的表达水平显著降低, 而我们前期也证实 miR-92b-3p 在心肌肥厚患者心肌中表达也是显著降低(本文未示)。已有研究报道, 慢性心力衰竭患者的外周血中 miR-92b-3p 的表达水平显著升高^[7]。我们的数据发现, 循环血液中 miR-92b-3p 水平的增加可能不是来源于心肌肥厚患者的心肌。我们通过尾静脉注射 miR-92b-3p agomiR 的方式, 以增加小鼠心肌中的 miR-92b-3p 水平, 来证实 miR-92b-3p 对 Ang- II 诱导



A: FITC-phalloidin staining showed that the increase of cell size in Ang- II-induced NMC was significantly suppressed by over-expression of miR-92b-3p. B: Western-blotting demonstrated that the up-regulations of ANP, ACTA1 and β-MHC protein in Ang- II-induced NMC were also reversed by over-expression of miR-92b-3p. Data are shown as mean±SEM, 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$. $n = 3$.

图3 增加乳鼠心肌细胞中 miR-92b-3p 能抑制 Ang- II 诱导的心肌肥大效应

Fig.3 The suppressive effect of miR-92b-3p on expressions of ANP, ACTA1 and β-MHC in Ang- II-induced mouse cardiomyocytes



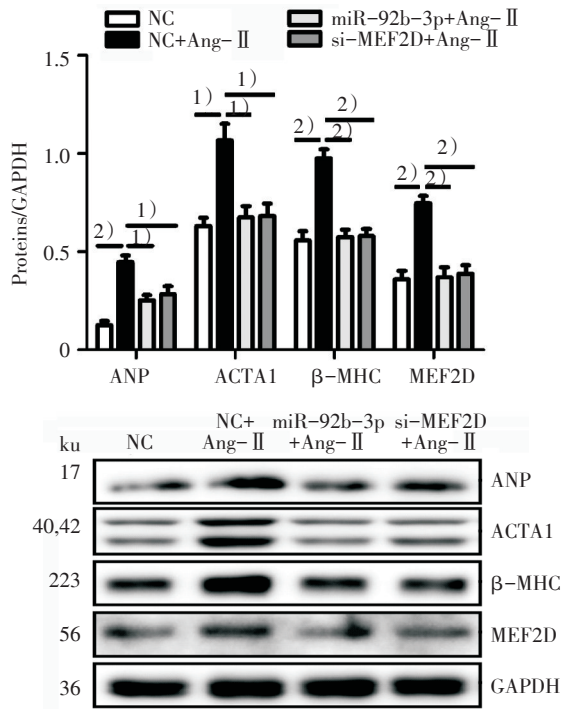
A: The dual luciferase assay demonstrated that miR-92b-3p significantly reduced the luciferase activities through binding the site of 770-777 of MEF2D 3'-UTR. Data are shown as mean ± SEM, 1) $P < 0.05$ vs pGI3-promoter vector control, $n = 3$. B: qRT-PCR and Western-blotting showed that the mRNA and protein expression of MEF2D were significantly decreased in miR-92b-3p-modified NMC. Data are shown as mean±SEM, 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$. $n = 3$.

图4 miR-92b-3p 在转录后水平抑制 MEF2D 的表达

Fig.4 MicroRNA-92b-3p (miR-92b-3p) negatively modulates MEF2D expression

的心肌肥厚的影响。并进一步检测增加乳小鼠心肌细胞中 miR-92b-3p 水平对 Ang- II 诱导的小鼠心肌细胞肥大的影响。我们的结果发现, miR-92b-3p 一致性地体内和体外显著抑制 Ang- II

诱导的小鼠心肌细胞体积增大及肥厚相关蛋白 ANP、ACTA1 和 β-MHC 的表达。因此, 我们的数据证实 miR-92b-3p 能够抑制心肌肥厚, 具有心肌保护作用。



Western blot results showed that the up-regulated expressions of ANP, ACTA1, β -MHC and MEF2D by Ang-II in NMC could be reversed by miR-92b-3p mimic and MEF2D siRNA, respectively. Data are shown as mean \pm SEM, 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$, $n = 3$.

图5 增加乳鼠心肌细胞中 miR-92b-3p 的水平能抑制 Ang-II 诱导的心肌肥大表型

Fig.5 MicroRNA-92b-3p (miR-92b-3p) inhibits hypertrophic phenotype of NMC

肌细胞增强子 2 (myocyte enhancer factor 2, MEF2) 家族蛋白是一类具有调节功能的蛋白, 四种 MEF2 基因分别编码 MEF2A, -2B, -2C 和 -2D 四种蛋白^[10-11]。已有研究表明, 转录因子 MEF2 家族成员在心肌肥厚和心肌重塑过程中发挥重要作用^[12-14]。其中, MEF2D 参与压力负荷和 β -慢性肾上腺素能刺激诱导的心肌重塑过程^[14-15]。同样地, 我们的研究发现, MEF2D 在小鼠 Ang-II 灌注诱导的心肌肥厚模型和 Ang-II 处理的乳鼠肥大心肌中显著上调表达。

本文通过双荧光素酶报告基因实验证实了 miR-92b-3p 可与 MEF2D 3' UTR 具有结合作用。qRT-PCR 结果确证, miR-92b-3p 可在转录后水平抑制 MEF2D 的表达。进一步的功能性研究结果显示, 增加 miR-92b-3p 和减少 MEF2D 的水平可

一致性地抑制 Ang-II 处理的乳鼠肥大心肌细胞中肥大相关蛋白 ANP、ACTA1 和 β -MHC 的上调表达。因此, 上述结果证实 MEF2D 是 miR-92b-3p 的靶基因, 并介导 miR-92b-3p 发挥抑制心肌肥大的作用。

综上所述, miR-92b-3p 在发生肥厚的小鼠心肌中下调表达, 并通过双荧光素酶报告基因实验、靶基因表达和相应功能性实验证实 MEF2D 是 miR-92b-3p 的作用靶基因, 并介导 miR-92b-3p 发挥抑制心肌细胞肥大作用。miR-92b-3p 可能作为治疗心肌肥厚的候选靶点, 通过特异增加心肌中 miR-92b-3p 水平发挥抑制心肌肥厚的作用, 为开辟基于 miRNAs 的心肌肥厚治疗研究提供科学依据和资料。

参考文献:

- [1] Tham YK, Bernardo BC, Ooi JY, et al. Pathophysiology of cardiac hypertrophy and heart failure: Signaling pathways and novel therapeutic targets [J]. Arch Toxicol, 2015, 89(9): 1401-1438.
- [2] Schiano C, Vietri MT, Grimaldi V, et al. Epigenetic-related therapeutic challenges in cardiovascular disease [J]. Trends Pharmacol Sci, 2015, 36(4): 226-235.
- [3] Farh KK, Grimson A, Jan C, et al. The widespread impact of mammalian MicroRNAs on mRNA repression and evolution [J]. Science, 2005, 310(5755): 1817-1821.
- [4] Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [5] Cheng Y, Ji R, Yue J, et al. MicroRNAs are aberrantly expressed in hypertrophic heart: Do they play a role in cardiac hypertrophy? [J]. Am J Pathol, 2007, 170(6): 1831-1840.
- [6] Zhao Y, Ransom JF, Li A, et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2 [J]. Cell, 2007, 129(2): 303-317.
- [7] Goren Y, Kushnir M, Zafrir B, et al. Serum levels of microRNAs in patients with heart failure [J]. Eur J Heart Fail, 2012, 14(2): 147-154.
- [8] Chen Z, Liang S, Zhao Y, et al. MiR-92b regulates Mef2 levels through a negative-feedback circuit during Drosophila muscle development [J]. Development,