miRNA-1 与糖尿病心肌病心肌细胞肥大相关性的初步探讨

李雯琦[1]，刘书雷[1]，徐明彤[2]，黄 辉[1]，陈筱潮[1,3*]，王景峰[1,3]
（中山大学附属孙逸仙纪念医院 1.心内科；2.内分泌科，广东 广州 510120；3.广东省心电生理和心律失常重点实验室，广东 广州 510120）

摘 要 【目的】观察糖尿病大鼠动物模型心脏及大鼠离体心肌细胞在高糖诱导下 miRNA-1 的表达水平，测定心肌细胞的大小、蛋白含量以及 ANP 和 BNP 的表达，并探讨其相关性。【方法】STZ 诱导建立糖尿病大鼠模型(模型组 15 只，对照组 10 只)，在成模后 8 周进行心功能、心肌肥大相关基因 ANP 和 BNP mRNA、miRNA-1 的检测。并分离原代乳鼠心肌细胞进行培养，在 24 h、48 h 和 72 h 时间点动态观察正常糖浓度(5 mmol/L)和高糖浓度(30 mmol/L)心肌细胞 miRNA-1 表达的差异，并分析比较不同葡萄糖浓度培养下心肌细胞的直径、蛋白质含量以及心肌细胞肥大基因的表达，统计分析高糖浓度培养心肌细胞 miRNA-1 表达与心肌细胞肥大相关指标的相关性。【结果】糖尿病大鼠模型 8 周末显示心功能障碍，miRNA-1 较对照组明显下降，ANP 及 BNP mRNA 明显升高，组间差别均有统计学意义。高糖诱导大鼠离体心肌细胞 miRNA-1 的总量随时间呈先升后降趋势并有统计学意义($F = 15.109$，$P = 0.001$)；高糖刺激使心肌细胞直径、心肌细胞蛋白含量随培养的时间延长而逐步增高，并明显大于正常糖浓度培养下的心肌细胞；高糖刺激时心肌细胞 ANP 及 BNP mRNA 表达变化趋势与 miRNA-1 表达一致，ANP mRNA 表达与 miRNA-1 存在线性相关($r = 0.990$，$P = 0.01$)。【结论】糖尿病大鼠心肌组织及高糖培养诱导原代乳鼠心肌细胞 miRNA-1 发生明显改变，乳鼠心肌细胞 miRNA-1 表达与心肌细胞肥大变化相一致，与心肌细胞 ANP 的表达变化呈线性相关。

关键词：糖尿病心肌病；miRNA-1；心肌肥大；ANP
中图分类号：R363 **文献标志码**：A **文章编号**：1672-3554(2013)02-0170-06

Association of miRNA-1 Expression and Cardiomyocyte Hypertrophy in Diabetes

LI Wen-qi[1], LIU Shu-lei[1], XU Ming-Tong[2], HUANG Hui[1], CHEN Xiao-chao[1,3 *], WANG Jing-feng[1,3]
(1.Department of Cardiology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China; 2.Department of Endocrinology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China; 3. Laboratory of Cardiac Electrophysiology and Arrhythmia in Guangdong Province, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】 To investigate the relationship between expression of miRNA-1 and cadiomyocyte hypertrophy in diabetic rats in vivo and in vitro. 【Methods】 The cardiac function, ANP mRNA, BNP mRNA, and miRNA-1 in the hearts of STZ induced diabetic rats 8 weeks after the establishment of model were observed respectively (nDCM = 15, nNC =10). Neonatal rat cardiomyocytes were isolated and cultured in 5 mmol/L glucose (normal glucose, NG) or 30 mmol/L glucose (high glucose, HG) for 24, 48, and 72 hours. The expression of miRNA-1 was examined on each time point, so as to the cellular diameters, protein level, ANP mRNA and BNP mRNA. The relationship between miRNA-1 and hypertrophic effect caused by high glucose was analyzed. 【Results】 After 8 weeks of diabetes, diabetic rats showed cardiac dysfunction, decrease of miRNA-1 and increase of ANP and BNP mRNA. The expression of miRNA-1 in HG group increased at first and decreased afterwards ($F = 15.109$, $P = 0.001$). The changes of cellular diameters and protein level in HG group were gradually increased with cultured time and significantly higher than those in NG group. The expressive tendency of ANP and BNP mRNAs in HG group were similar with the expression of miRNA-1. Particularly, the expression of ANP mRNA positively correlated with the expression of miRNA-1 ($r = 0.990$, $P = 0.01$). 【Conclusion】 High glucose induced the alteration of miRNA-1 expression in neonatal rat cardiomyocytes and diabetic rats. This alteration of miRNA-1 in neonatal rat cardiomyocytes was accompanied by increase of cardiomyocyte diameter and cellular protein level. The expression of ANP mRNA was related with the expression of miRNA-1 positively.

Key words: diabetic cardiomyopathy; microRNA-1; hypertrophy; ANP
[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2013, 34(2): 170-175]

收稿日期：2012-11-20
基金项目：国家自然科学基金(81270915)；广东省自然科学基金(S2011010001614)；广州市科技计划重点项目(12C21121666)
作者简介：李雯琦，硕士，E-mail：lwq_1009@163.com；* 通信作者：陈筱潮，博士，教授，博士生导师，E-mail：chenxch@mail.sysu.edu.cn

糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy，DCM)最早由 Rubler 等[1]于 1972 年报道，指独立于高血压和冠状动脉粥样硬化，而由糖尿病直接导致心肌损害的一种临床疾病，心力衰竭是其基本临床指征[2]。其发病机制目前尚未完全明确，研究显示心肌肥大是其主要的病理特征之一[3]。microRNAs(miRNAs) 可以通过调节转录水平影响蛋白的产生从而参与心肌肥大的形成[4]，其中miRNA-1 参与不同的心脏病理生理过程，在多种病因引起的心肌肥大中均发挥了重要的调节作用[5]。但在糖尿病心肌病的发生发展过程中，miRNA-1 的作用少有报道。本研究通过建立糖尿病动物模型，观察在糖尿病所致心肌肥大的大鼠心肌组织中 miRNA-1 的变化，并在体外培养的乳鼠心肌细胞中，通过测定心肌细胞直径、蛋白含量以及心肌肥大基因的表达变化，进一步观察高糖诱导的心肌细胞肥大随时间的变化规律，并同步测定 miRNA-1 表达情况，初步探讨在高糖刺激下，miRNA-1 表达与心肌肥大的相关性。

1　材料与方法

1.1　材　料

1.1.1　*实验动物*　25 只雄性 Sprague-Dawley 大鼠，体质量 200 g ± 20 g；随机分为糖尿病模型组(DCM 组，n = 15)和正常对照组(NC 组，n = 10)。1 ~ 3 d 龄的 SD 乳鼠，性别不限。所有动物由中山大学动物实验中心提供。

1.1.2　*主要试剂*　DMEM 培养基、胎牛血清、2.5 g/L 胰酶、Ⅰ型胶原酶购自 Gibco 公司；链脲佐菌素(streptozocin，STZ)、小鼠抗 α-actinin 购自 sigma 公司；小鼠抗 prolyl 4-hydroxylase (ACRIS)；Dylight488 二抗 (ROCKLAND)；RNAiso Plus、PrimeScript® RT reagent Kit With gDNA Eraser、SYBR® Premix Ex Taq™II 购自 TaKaRa 公司；RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自江苏碧云天公司。其余均为国产分析纯。

1.2　方　法

1.2.1　*糖尿病动物模型建立*　STZ 溶解在枸橼酸盐缓冲溶液中，使用前临时配置。模型组大鼠连续 3 日腹腔内注射 STZ(30 mg/kg)诱导糖尿病模型，在第 1、4、7 日尾静脉取血测随机血糖，以血糖≥ 16.7 mmol/L 确认建模成功。对照组小鼠等量腹腔注射枸橼酸盐缓冲溶液。

1.2.2　*心脏功能检测*　于建模后第 8 周末，对所有大鼠实施超声心动图测量。将大鼠固定仰卧略向左倾斜位后获取胸骨旁短轴切面 M 型超声图像，测量射血分数(ejection fraction，EF)，左心室短轴缩短率 (fractional shortening，FS)，左室舒张末期内径 (1eft ventricular internal dimensions at end diastole，LVIDd) 和左室收缩末期内径 (1eft ventricular internal dimensions at end systole，LVIDs)。

1.2.3　*乳鼠心肌细胞培养与分组*　取出生 1 ~ 3 d 的 SD 乳鼠，无菌条件下分离心脏，经 0.6 g/L Ⅰ型胶原酶消化制成细胞悬液，以差速贴壁法去除非心肌细胞，收集的心肌细胞以 1 ~ 2 × 10^5 cells/mL 接种于 6 孔板，置于 37 ℃恒温培养箱中培养，隔天更换培养基，以不同糖浓度培养基进行培养，其中正常组糖浓度为 5 mmol/L，高糖组糖浓度 30 mmol/L (HG)。根据培养时间不同各组分别分为 24、48 和 72 h 三个亚组。

1.2.4　*心肌细胞免疫荧光染色*　心肌细胞以 5 × 10^4/mL 的密度接种于 12 孔板，贴壁 48 h 后经固定、可渗透化处理及封闭后，加入 α-actinin(1∶400)或 prolyl 4-hydroxylase(P4HB 1∶400) 4 ℃孵育过夜，加入 Dylight488 二抗室温孵育 1h，DAPI 染核。在 200 × 莱卡荧光倒置显微镜拍片，Image-Pro Plus6.0 软件计算心肌细胞纯度。每孔随机选择视野，计算每个视野所有细胞，每组不少于 100 个细胞。

1.2.5　*心肌细胞直径测定*　参照文献[6]所述的方法，消化并收集各组心肌细胞悬液注入一细胞室内，在 200 × 倒置显微镜下拍照并用 Image-Pro Plus6.0 软件计算心肌细胞直径。每孔随机选择视野，计算每个视野的所有细胞，每组不少于 100 个细胞。

1.2.6　*心肌细胞蛋白质含量测定*　收集各组心肌细胞进行计数，而后加入 50 μL RIPA 蛋白裂解液，冰上孵育 30 min 充分裂解细胞后，以 12 000 ×g，4 ℃离心 30 min，取上清液按 BCA 蛋白检测试剂盒说明书操作，检测并计算单位细胞蛋白含量。

1.2.7　*心肌 ANP、BNP 基因 mRNA 表达测定*　用 Trizol 提取总 RNA，按照说明书操作进行逆转录反应，利用 SYBR Green 法在 LightCycler480 荧光定量 PCR 仪(Roche Diagnostics 公司)上采用完成心房钠脲肽(atrial natruiretic peptide，ANP)和脑钠肽

(brain natruiretic peptide,BNP)mRNA 表达的检测。各基因引物采用 Prmier3.0 设计（表 1),以 GAPDH 为内参,$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值（Ct 值为荧光强度到达阈值时的循环数)为统计参数,相对定量法进行结果的分析处理。

表 1 RT-PCR 引物序列

Table 1 Oligonucleotide sequences for RT-PCR

Gene	Sequence
ANP	5′GGCTCCTTCTCCATCACCAA 3′
	5′GCTCCAATCCTGTCAATCCTAC 3′
BNP	5′ATCGGCGCAGTCAGTCGCTT 3′
	5′AGCCGCAGGCAGAGTCAGAA 3′
GAPDH	5′GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG 3′
	5′ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA 3′

1.2.8 心肌 miRNA-1 测定 用 Trizol 提取总 RNA，按照说明书进行逆转录反应，利用 SYBR Green 法进行 miRNA 表达的检测。miR-1 及 U6 逆转录及 PCR 引物由广州锐博生物科技有限公司合成,以 U6 为内参,$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值为统计参数,相对定量法进行结果的分析处理。

1.3 统计学分析

每组实验重复 3 次,数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 13.0 统计学软件处理,多组正态分布且方差齐性定量资料比较采用方差分析,其他多组定量资料采用 Kruskal-Wallis 检验,两两比较采用 Bonferroni 检验。miRNA-1 与各指标关联性采用 Pearson 相关分析。$P < 0.05$ 提示所检验的差别有统计学意义。

2 结 果

2.1 糖尿病大鼠模型相关指标实验结果

至建模后第 8 周末，模型组与对照组大鼠生存率分别为 73.3%和 100%。心脏功能检测指标表明，模型组 EF 和 FS 明显低于对照组,LVIDd 和 LVIDs 明显大于对照组(表 2)。

与对照组相比,糖尿病大鼠成模后 8 周,心肌肥大相关的 ANP 和 BNP 基因 mRNA 的表达均有明显升高,ANP mRNA 表达量 11.5 ± 3.8 vs 1.0(P = 0.008),BNP mRNA 表达量 7.1 ± 0.3 vs 1.0（P = 0.027,图 1A、B)。而心肌组织 miRNA-1 的表达明显降低（0.66387 ± 0.00007 vs 1.0,P = 0.019;图 1C)。

表 2 两组大鼠生存率及心脏功能比较

Table 2 Survival rate and cardiac function of rats in two groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	Survival rate (%)	EF(%)	FS(%)	LVIDd (mm)	LVIDs (mm)
NC(n=10)	10(100)	64.6 ± 4.0	36.6 ± 3.3	7.6 ± 0.3	4.8 ± 0.1
DCM(n=15)	11(73.3)	50.8 ± 2.6[1)]	27.0 ± 1.6[1)]	8.3 ± 0.4[2)]	6.1 ± 0.4[2)]

DCM group vs NC group: 1)$P < 0.01$, 2)$P < 0.05$.

2.2 心肌细胞鉴定及纯度

贴壁 48 h 后,心肌细胞聚集成簇,并出现同步化搏动。此时进行心肌细胞免疫荧光染色，计算 α-actinin 阳性细胞比率。本实验方法培养的心肌细胞纯度在 85% ~ 90%(图 2)。

2.3 高糖刺激诱导乳鼠心肌细胞进行性肥大,并引起 miRNA-1 的动态变化

在乳鼠心肌细胞接受 30 mmol/L 葡萄糖刺激后的 24、48 和 72 h，高糖培养的心肌细胞直径均较同时间正常糖浓度组增加。在正常糖浓度组中,不同时间组心肌细胞直径组间比较略有差异(F = 3.193,P = 0.042),但 Bonferroni 法进行两两比较,各时间组间的差异未达到统计学意义($P > 0.05$)。在高糖浓度培养组中，不同的培养时间组间存在显著差异(F = 40.324,$P < 0.001$),其中 48 h 组显著高于 24 h 组,至 72 h 组逐渐平稳,但仍高于 24 h 组(表 3,图 3)。

表 3 高糖刺激对心肌细胞直径的影响

Table 3 Effect of high glucose on the cell size of cultured cardiomyocytes (μm,$\bar{x} \pm s$)

	24 h	48 h	72 h
NG	13.2 ± 2.2	13.8 ± 2.7	13.9 ± 2.5
HG	14.0 ± 1.9[1)]	16.9 ± 2.8[1)2)]	16.3 ± 3.0[1)2)]

HG groups vs NG group in the same time: 1)$P < 0.01$; vs 24 h in the same group: 2)$P < 0.01$.

乳鼠心肌细胞蛋白含量在正常糖浓度不同时间亚组之间(F = 733.676,$P < 0.001$)和与高糖培养不同时间亚组之间（F = 310.766,$P < 0.001$)均呈现差异,两种浓度中 48 和 72 h 组的细胞蛋白含量均高于各自浓度的 24 h 亚组。在相同的时间

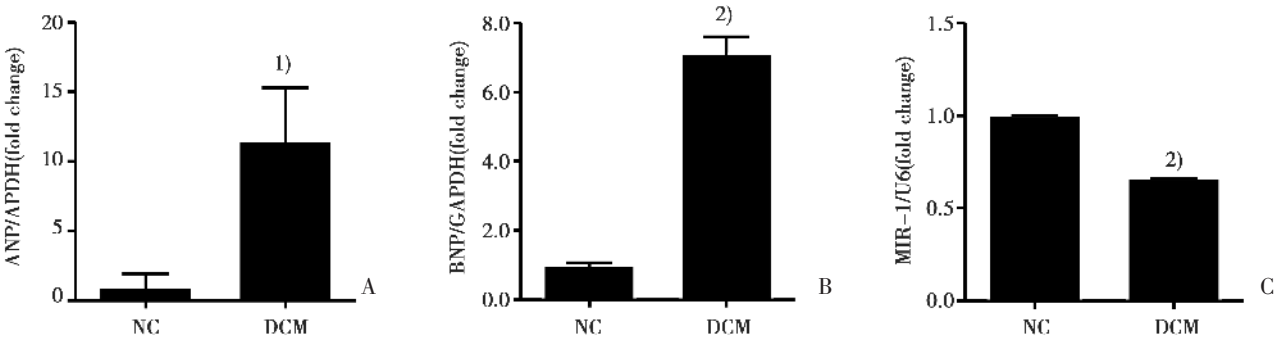


图 1　STZ 诱导糖尿病大鼠在成模的 8 周末发生心肌肥厚及 miRNA-1 下调

Fig.1　STZ-induced diabetic rats after 8 weeks of diabetes showed up-regulation of ANP（A）and BNP（B）and down-regulation of miRNA-1（C）compared to controls

Each value was expressed as the relative to the control, and the value of control was set to 1. DMC group vs NC group: 1)$P < 0.01$, 2)$P < 0.05$.

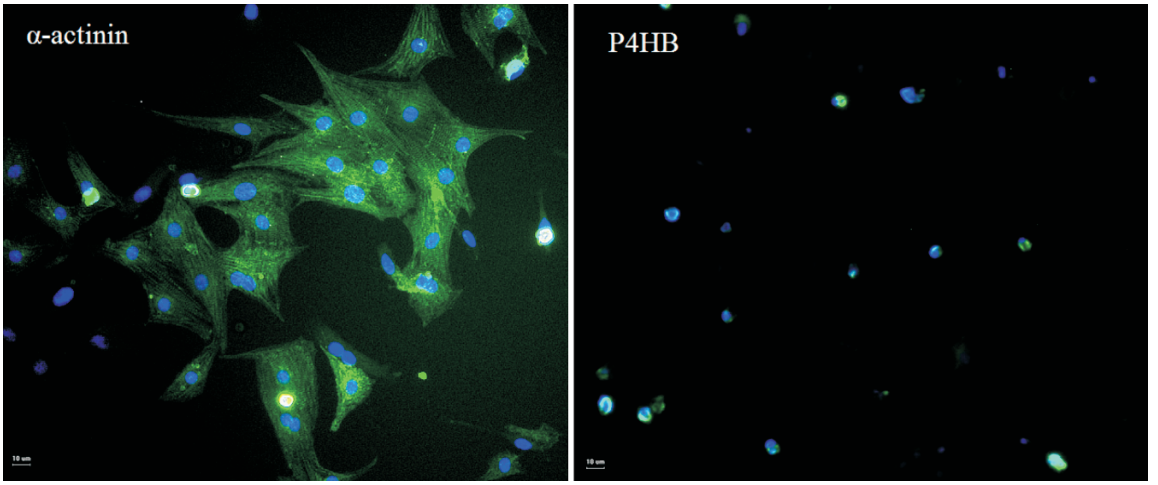


图 2　心肌细胞免疫荧光染色

Fig.2　Cardiomyocytes immunochemistry and purity identify（48 h after attachment, × 200）

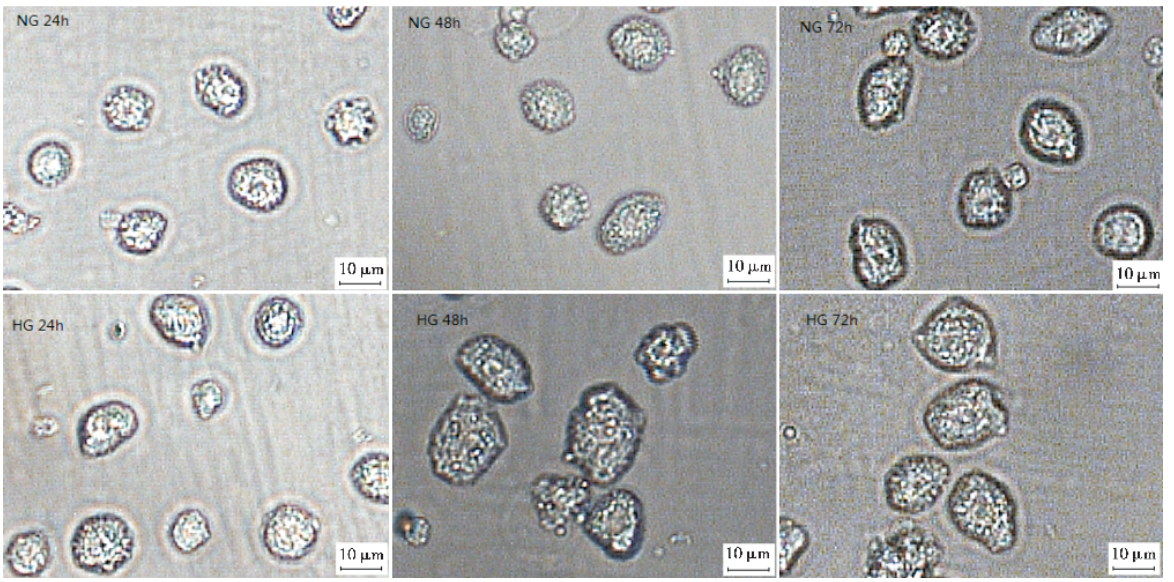


图 3　高糖刺激对心肌细胞直径的影响

Fig.3　Effect of high glucose on the cell size of cultured cardiomyocytes（24 h, 48 h and 72 h after exposed to NG or HG, × 200）

点，高糖培养 24 h 亚组细胞蛋白含量明显高于正常糖浓度培养 24 h 亚组($P < 0.01$)，其余各时间点两种不同糖浓度之间无显著差异(表 4)。

表 4 高糖刺激对心肌细胞蛋白含量的影响

Table 4 Effect of high glucose on the protein level

($\mu g/10^5$cells. $\bar{x} \pm s$)

	24 h	48 h	72 h
NG	10.8 ± 0.4	22.8 ± 0.2[2)]	18.6 ± 0.5[2)3)]
HG	16.2 ± 0.41)	22.9 ± 0.2[2)]	19.2 ± 0.4[2)3)]

HG vs NG in the same time: 1) $P < 0.01$ vs 24 h in the same group; 2) $P < 0.01$ vs 48 h in the same group; 3) $P < 0.01$.

在高糖培养不同时间点，与心肌肥大相关的 ANP 和 BNP 基因 mRNA 的表达存在差异(ANP: $\chi^2 = 10.348$, $P = 0.016$; BNP: $\chi^2 = 8.556$, $P = 0.036$)，呈现随时间先上升后下降趋势，两种 mRNA 表达均在 48 h 时达到较高水平，至 72 h 则呈现回落的趋势(图 4)。

相应的，在接受高糖刺激的 24、48 和 72 h，miRNA-1 的表达量分别 1.11 ± 0.16 vs 1.0、1.31 ± 0.08 vs 1.0 和 0.77 ± 0.08 vs 1.0，三者之间存在显著差异($F = 15.109$, $P = 0.001$)。高糖刺激后 24 h、48 h 呈逐步升高的趋势，至 72 h 亚组表达回落并低于正常组糖浓度培养组(图 5)。

2.4 miRNA-1 表达与心肌细胞肥大指标相关性分析

高糖培养下，心肌细胞大小与 miRNA-1 的表达趋势一致，但目前数据尚不能证明存在线性相关关系($r = 0.130$, $P = 0.870$)。

高糖培养下，心肌细胞蛋白含量变化趋势与 miRNA-1 表达一致，但目前数据尚不能证明存在线性相关关系($r = 0.400$, $P = 0.600$)。

ANP mRNA 表达与 miRNA-1 表达存在正相关 ($r = 0.990$, $P = 0.010$)，BNP mRNA 表达趋势虽与 miRNA-1 一致，但线性相关系数无统计学意义 ($r = 0.923$, $P = 0.077$)。

3 讨 论

本研究以 STZ 多次腹腔注射建立糖尿病大鼠模型，在血糖升高后第 8 周末心脏超声检查显示

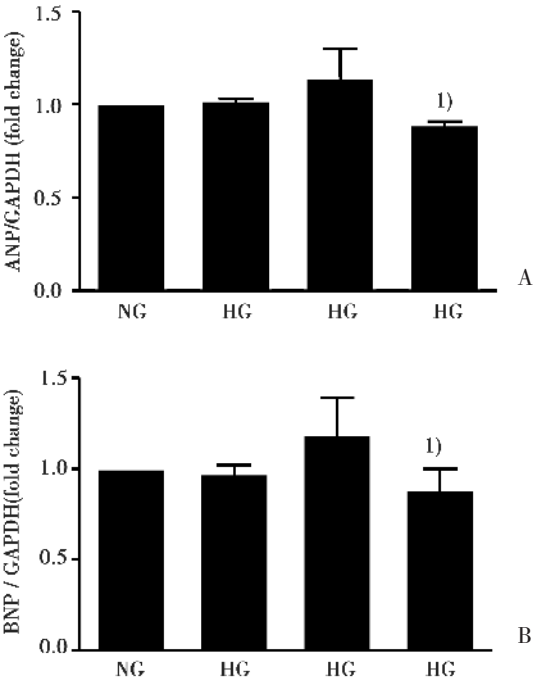


图 4 高糖刺激对乳鼠心肌肥大基因的影响

Fig.4 qRT-PCR analyses of cardiac hypertrophic marker genes in neonatal rat cardiomyocytes incubated in high glucose

ANP (A) and BNP (B) mRNA expression was detected in cardiomyocytes exposed to 30 mmol/L glucose (HG) for 24, 48, and 72 h. Each value was expressed as the relative to the control, and the value of control was set to 1. HG 72 h group vs HG 48 h group: 1) $P < 0.01$.

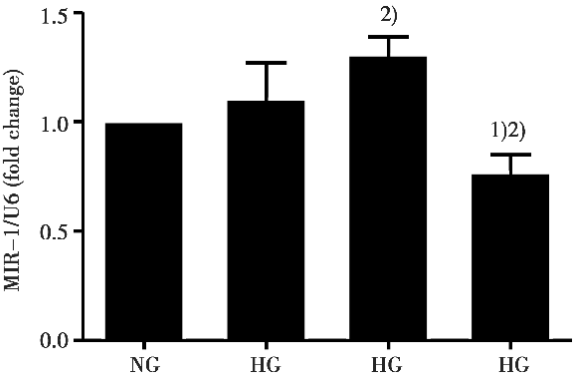


图 5 高糖刺激对心肌细胞 miRNA-1 水平的影响

Fig.5 qRT-PCR analyses of miRNA-1 in neonatal rat cardiomyocytes incubated in high glucose

miRNA-1 expression was detected in cardiomyocytes exposed to 30 mmol/L glucose (HG) for 24 h, 48 h, and 72 h. Each value was expressed as the relative to the control, and the value of control was set to 1. HG groups vs NG group: 2) $P < 0.05$; HG 72 h group vs HG 48 h group: 1) $P < 0.01$.

左心室增大、左室射血分数下降，符合糖尿病心肌病的病理特征[2]，提示在糖尿病早期即出现心脏结构和功能的变化，同步检测心肌细胞肥大相关基因的表达水平，显示出表达上调的结果，进一步证实了心肌细胞肥大参与糖尿病心肌病疾病发生发展的过程。本研究同时对体外培养的乳鼠心肌细胞进行高糖刺激，无论从心肌细胞形态的大小、蛋白含量的多少等方面，均提示高糖刺激导致心肌细胞肥大的迹象或趋势，心肌细胞肥大相关基因ANP 和 BNP 的表达结果测定也显示两者的表达有上升趋势并随培养时间不同而有动态的差异，符合在体动物研究糖尿病心肌病早期心肌细胞肥大的病理特征及心肌病理变化的动态过程[3]。

miRNA-1 作为心肌细胞表达最丰富的 miRNA，约占所心脏 miRNAs 总量的 40%[7]，参与心脏生长发育以及病理生理过程中的多个环节，对心肌细胞肥大过程中的多个基因具有调节作用，但其表达的特性，在不同病因导致的心肌肥大过程中，其表达变化也各有差异[8-10]。在本研究中，我们观察到在糖尿病成模后的第八周这个时间点，大鼠心肌组织中 miRNA-1 表达是明显低于正常对照组的。通过观察分析体外培养的乳鼠心肌细胞在 30 mmol/L 葡萄糖刺激下，24-72 h 时段内 miRNA-1 的表达变化，发现 miRNA-1 的表达是先上升后下降的，其在 48 h 表达达到高峰，而后下降至正常水平以下。这个结果提示 miRNA-1 只是在高糖诱导的乳鼠心肌细胞肥大过程的初期呈现短暂的上升。这一短暂上升的过程是否启动或参与相关靶基因表达的调整、在糖尿病心肌病心肌肥大的过程中起何作用，则尚未见相关文献阐述。从时间的动态性而言，本研究提示高糖刺激诱导的心肌细胞肥大相关指标与 miRNA-1 表达的变化在时间上呈现了变化的同步性，而且 miRNA-1 的表达与 ANP 基因的表达水平呈线性相关，提示 miRNA-1 与糖尿病心肌病过程中相关基因的表达调控有一定的关联。此外，糖尿病心肌病的发生发展是一个相对漫长且复杂的过程，本研究仅从糖尿病大鼠模型成模后 8 周末时点及体外细胞培养的 72 小时的观察，未必能够反映疾病的全部过程，通过连续监测糖尿病大鼠模型血糖升高后，心肌组织病理生理及 miRNA 指标变化，或许对阐明糖尿病心肌病发展过程及 miRNA 参与情况更具有说服力。

miRNAs 通过对靶基因表达的调节并引发下游一系列的节联反应导致疾病的发生发展，本文仅对 miRNA-1 与两个心肌细胞肥大相关基因的相关性进行初步的分析，课题组正在对 miRNA-1 在糖尿病心肌病心肌细胞肥大过程中相关靶基因进行筛选与验证，并以对 miRNAs 的干预作为新的治疗靶点延缓或阻断糖尿病心肌病的发生发展过程，希望能在不久的将来得到很好的诠释。

参考文献：

[1] Rubler S, Dlugash J, Yuceoglu YZ, et al. New type of cardiomyopathy associa-ted withdiabetic glomerul-osclerosis[J]. Am J Cardiol, 1972, 30(6): 595-602.

[2] Galderisi M. Diastolic dysfunction and diabetic cardiomyopathy: evaluation by Doppler echocardiography [J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 48(8): 1548-1551.

[3] Hayat SA, Patel B, Khattar RS, et al. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms, diagnosis and treatment [J]. Clin Sci (Lond), 2004, 107(6): 539 - 557.

[4] Shen E, Diao X, Wei C, et al. MicroRNAs target gene and signaling pathway by bioinformatics analysis in the cardiac hypertrophy [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 397(3): 380-385.

[5] Port JD, Sucharov C. Role of microRNAs in cardiovascular disease: therapeutic challenges and potentials[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2010, 56(5): 444-453.

[6] Simpson P, McGrath A, Savion S. Myocyte hypertrophy in neonatal rat heart cultures and its regulation by serum and by catecholamines[J]. Circ Res, 1982, 51(6): 787-801.

[7] Rao PK, Toyama Y, Chiang HR, et al. Loss of cardiac microRNA -mediated regulation leads to dilated cardiomyopathy and heart failure[J]. Circ Res, 2009, 105(6): 585-594.

[8] Li Q, Song XW, Zou J, et al. Attenuation of microRNA -1 derepresses the cytoskeleton regulatory protein twinfilin-1 to provoke cardiac hypertrophy[J]. J Cell Sci, 2010, 123(14): 2444-2452.

[9] Shan ZX, Lin QX, Deng CY, et al. miR-1/miR-206 regulate Hsp60 expression contributing to glucose -mediated apoptosis in cardiomyocytes [J]. FEBS Lett, 2010, 584(16): 3592-600.

[10] Yu XY, Song YH, Geng YJ, et al. Glucose induces apoptosis of cardiomyocyt-es via microRNA-1 and IGF-1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 376(3): 548-552.

（编辑　孙慧兰）