

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.06.006
文章编号: 1005-8982 (2023) 06-0030-07

实验研究·论著

MicroRNA-129-5p通过抑制心肌细胞自噬改善心力衰竭大鼠心功能的作用机制研究*

谭莉, 吴健, 熊迪, 张慧, 易瑞兰

(株洲市中心医院 全科医学科, 湖南 株洲 412000)

摘要: **目的** 探讨 miR-129-5p 通过抑制心肌细胞自噬改善心力衰竭(HF)大鼠心功能的作用机制。**方法** 将40只健康雄性Wistar大鼠作为研究对象, 并分为空白对照组、模型组、空载病毒组和miR-129-5p组, 每组10只。模型组腹腔注射阿霉素溶液复制慢性HF模型; 空白对照组腹腔注射等量0.9%生理盐水; 空载病毒组、miR-129-5p组分别通过尾静脉注射空载体病毒、miR-129-5p载体复制HF模型。各组大鼠连续给药6周后, 采用心脏彩色多普勒超声仪检测大鼠左室射血分数(LVEF)、左室舒张末期内径(LVEDd)和左室收缩末期内径(LVEDs)。实时荧光定量聚合酶链反应检测大鼠心肌组织miR-129-5p表达, HE染色观察心肌组织病理形态, Western blotting检测心肌细胞自噬相关蛋白表达。**结果** 模型组、空载病毒组EF较空白对照组降低($P < 0.05$), LVEDd、LVEDs较空白对照组增大($P < 0.05$); 模型组与空载病毒组EF、LVEDd、LVEDs比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); miR-129-5p组EF较模型组升高($P < 0.05$), LVEDd、LVEDs较模型组缩小($P < 0.05$)。模型组、空载病毒组心肌组织miR-129-5p相对表达量较空白对照组低($P < 0.05$), miR-129-5p组较模型组高($P < 0.05$)。模型组和空载病毒组心肌细胞ATG7蛋白相对表达量较空白对照组升高($P < 0.05$), miR-129-5p组较模型组降低($P < 0.05$)。模型组LC3 II/LC3 I、Beclin-1较空白对照组增加($P < 0.05$), P62较空白对照组降低($P < 0.05$)。miR-129-5p组LC3 II/LC3 I、Beclin-1较模型组降低($P < 0.05$), P62较模型组增加($P < 0.05$)。**结论** HF大鼠心肌组织中miR-129-5p表达下调, 可能减弱对ATG7的抑制, 上调miR-129-5p可能通过抑制心肌细胞过度自噬, 从而改善大鼠心功能。

关键词: 心力衰竭; miR-129-5p; ATG7; 自噬; 心肌细胞

中图分类号: R541.6

文献标识码: A

MicroRNA-129-5p improves cardiac function of heart failure rat models by inhibiting autophagy of cardiomyocytes*

Tan Li, Wu Jian, Xiong Di, Zhang Hui, Yi Rui-lan

(Department of General Practice, Zhuzhou Central Hospital, Zhuzhou, Hunan 412000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism by which microRNA-129-5p inhibits autophagy of cardiomyocytes and improves the cardiac function of heart failure rat models. **Methods** Forty male Wistar rats were randomly divided into control group, model group, vector group and microRNA-129-5p group, with 10 rats in each group. The rats in the model group were intraperitoneally injected with doxorubicin to establish the heart failure models, and those in the control group were intraperitoneally injected with the same amount of normal saline. The rats in the vector group and microRNA-129-5p group were also modeled and injected with viruses carrying empty vectors and microRNA-129-5p vectors, respectively. After 6 weeks of injection, the left ventricular ejection fraction

收稿日期: 2022-11-18

* 基金项目: 湖南省自然科学基金(No: 2021JJ41095)

[通信作者] 吴健, E-mail: 447250446@qq.com; Tel: 13973387688

(LVEF), left ventricular end-diastolic diameter (LVEDd) and left ventricular end-systolic diameter (LVEDs) of rats were measured by echocardiography. The expression of microRNA-129-5p was detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The pathological morphology of myocardial tissues was observed by HE staining. Western blotting was used to detect the expression of autophagy-related proteins in myocardial tissues.

Results Compared with the control group, the LVEF of the model group and that of the vector group were decreased ($P < 0.05$), while the LVEDd and the LVEDs of the latter groups were increased ($P < 0.05$). There was no difference in the LVEF, LVEDd, and LVEDs between the model group and the vector group ($P > 0.05$). Compared with the model group, the LVEF of the microRNA-129-5p group was higher ($P < 0.05$), whereas the LVEDd and the LVEDs of the microRNA-129-5p group were lower ($P < 0.05$). The expression of microRNA-129-5p was down-regulated in the model group and the vector group, but was up-regulated in the microRNA-129-5p group compared with the control group ($P < 0.05$). The protein expression of ATG7 in cardiomyocytes was higher in the model group and vector group than in the control group ($P < 0.05$), while that in the microRNA-129-5p group was lower than that in the model group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the LC3II/LC3I ratio and the expression of Beclin-1 were increased ($P < 0.05$), and the expression of P62 was decreased in the model group ($P < 0.05$). In comparison to the model group, the LC3II/LC3I ratio and the expression of Beclin-1 were lower ($P < 0.05$), and the expression of P62 was higher in the microRNA-129-5p group ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression of microRNA-129-5p is down-regulated in myocardial tissues of heart failure rat models, which may weaken the inhibition of ATG7. In contrast, upregulation of microRNA-129-5p could improve cardiac function in rats with heart failure by inhibiting excessive autophagy of cardiomyocytes.

Keywords: heart failure; microRNA-129-5p; ATG7; autophagy; cardiomyocyte

心力衰竭(heart failure, HF)是心脏疾病的终末阶段,随着全球人口老龄化加速,发病率逐年升高^[1]。心肌细胞的存活和死亡主要受凋亡、坏死和自噬3个细胞通路影响,前两者在HF中被广泛研究,而自噬的潜在作用目前尚存争议^[2]。研究表明,在HF的心肌细胞中存在自噬体积累^[3],过度的自噬会使功能正常的蛋白质和细胞器加速降解,抑制心肌细胞存活,导致HF恶化^[4]。microRNA(miRNAs)是自噬的重要调节因子之一,参与自噬启动、囊泡成核、囊泡扩展和自噬体成熟^[5],直接或间接调控多种自噬相关基因。miR-129-5p通过靶向调控自噬相关基因14(autophagy related gene 14, ATG14),抑制过氧化氢诱导的心肌细胞自噬和凋亡^[6],在慢性HF患者血清中miR-129-5p表达降低,高表达miR-129-5p可减少心肌细胞凋亡,并改善心功能^[7-8]。然而,miR-129-5p在HF发展中作用及对自噬表达的影响尚不明确。本研究拟复制大鼠HF模型,探讨miR-129-5p对HF大鼠心功能和自噬水平影响及相关作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物来源和分组

健康雄性Wistar大鼠40只,年龄6~7周,体重

250~280 g,购自菲诺克生物科技(上海)有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2018-0005,实验动物使用许可证号:SYXK(沪)2018-0023]。大鼠分笼饲养,自由喂食、饮水,室温维持在 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照12 h/d。自适应喂养1周后,按照随机数字表法将大鼠分为空白对照组、模型组、空载病毒组和miR-129-5p组,每组10只。

1.2 主要试剂和仪器

慢病毒miR-129-5p mimic、miR-control和慢病毒助转剂HitransG A 25x购自南京科佰生物科技有限公司, RNA 逆转录试剂盒购自英国Abcam公司, TransStart Top Green qPCR Super Mix购自北京全式金生物技术股份有限公司, GAPDH、ATG7、P62、Beclin-1、LC3 II、LC3I抗体购自英国Abcam公司, RNA safety 组织保存液购自美国Thermo Fischer Scientific公司, TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司; 二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒购自上海爱必信生物科技有限公司, 辣根过氧化物标记的羊抗兔二抗、羊抗鼠二抗购自碧云天(上海)生物技术有限公司, RIPA裂解液购自北京索莱宝生物技术有限公司, BCA蛋白定量试剂盒购自上海西唐生物技术有限公司, IE33心脏彩色多普勒超声仪购自荷兰Philips公司, 酶标仪购自美国BIO-

RAD公司,微型垂直电泳槽、转移电泳槽购自上海天能科技有限公司,Image Quant LAS 4000化学发光成像分析仪购自美国通用电气公司,EG1160包埋机和病理切片机购自德国徕卡公司,680全自动酶标仪、PowerPacTM HC电泳仪均购自美国BIO-RAD公司。

1.3 模型复制

miR-129-5p组、空载病毒组大鼠分别于第1天、第8天尾静脉注射慢病毒载体miR-129-5p mimic、miR-Control。除空白对照组大鼠外,其余组大鼠均复制慢性HF模型。注射前将阿霉素溶液用生理盐水配制成浓度为0.8 mg/mL,前3周以3 mg/kg、后3周以2 mg/kg腹腔注射,空白对照组同期腹腔注射等量0.9%生理盐水,每周1次,连续6周。通过心脏超声检测大鼠左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)和各项心功能指标,LVEF < 45%定义为HF大鼠模型复制成功。

1.4 心脏超声检查

饲养6周后各组大鼠腹腔注射戊巴比妥麻醉,仰卧位固定于手术台上进行心脏彩超检查,测定射血分数(ejection fraction, EF)、左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDd)、左室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter, LVEDs),最终测量值取5个心动周期的平均值。根据彩色超声心动图的各项指标,判断各组大鼠的心脏结构和功能。

1.5 心肌组织取材

各组大鼠模型复制成功后继续喂养6周,取标本前1天大鼠禁食、禁水1 d。大鼠腹腔注射过量戊巴比妥钠安乐死后,迅速打开胸腹腔,用生理盐水冲洗心脏,剪切新鲜的心脏成合适大小,编号后用4%甲醛溶液固定,另外部分心脏组织用RNA safety组织保存液保存,4℃冰箱冷藏过夜,置入-80℃冰箱冷冻保存。

1.6 HE、Masson、免疫组织化学染色

1.6.1 HE染色 心肌组织以4%多聚甲醛固定,脱水透明,石蜡包埋,切片,厚度约4 μm。切片70℃焙烧5 min,二甲苯脱蜡,100%乙醇洗涤,梯度乙醇溶液水化,蒸馏水水化备用。用水冲洗15 min,蒸馏水过量冲洗1~2 s,伊红染色10 min。根据颜色深度用80%乙醇进行鉴别;85%乙醇脱水5 min;

95%乙醇浸泡5 min;无水乙醇脱水10 min;二甲苯透明,在石蜡切片中心加入一滴中性胶,用盖玻片盖住密封。显微镜下观察心肌组织变化并拍照。

1.6.2 Masson染色 石蜡切片脱蜡和脱水后,Masson染色溶液染色5 min,然后用0.5%醋酸水溶液洗涤,5%磷钨酸染液染色10 min,0.5%醋酸溶液冲洗,0.5%苯胺蓝染色5 min,0.5%醋酸水溶液洗涤,梯度乙醇脱水:80%乙醇1 min,95%乙醇1 min,无水乙醇1 min;二甲苯透明2 min,切片晾干,中性树胶封片。每组大鼠选取6张切片标本,光镜下观察心肌形态。

1.6.3 免疫组织化学染色 取出冷冻的心肌组织,自然解冻,常规石蜡包埋,行两步免疫组织化学染色法。石蜡切片常规脱蜡,加入3%过氧化氢孵育10 min,再加入0.01 mol/L柠檬酸缓冲液,微波炉高火加热8 min后拿出,冷却至室温。冷却后PBS洗涤3 min×3次,分别滴加ATG7抗体,4℃孵育过夜。将载玻片从冰箱中取出,37℃温箱复温30 min,滴加二抗继续孵育20 min。DAB显色5~10 min,镜下控制反应时间,将显色后的片子蒸馏水洗涤,浸泡于苏木素中复染1~3 min,蒸馏水冲洗,脱水后置于二甲苯10 min×2次,中性树胶封片、显微镜观察。

1.7 实时荧光定量聚合酶链反应

利用TRIzol试剂盒提取心肌组织总RNA, RNA浓度及纯度测定,根据逆转录试剂盒逆转录合成cDNA,实时荧光定量聚合酶链反应检测心脏组织miR-129-5p表达。以U6为内参,正向引物:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',反向引物:5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3',分别为17、20 bp; miR-129-5p正向引物:5'-TCGGCAGGCTTTTTCGGTC-3',反向引物:5'-GTGCAGGTCCTCCAGGT-3',分别为20、16 bp。反应条件:95℃预变性3 min,95℃变性15 s,60℃退火并延长30 s。共40个周期。读取每个延伸阶段的荧光值。实验重复3次,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算miR-129-5p相对表达量。

1.8 Western blotting

取适量心脏组织剪碎,根据细胞量的多少,每管细胞加100~500 μL含PMSF的RIPA裂解液于冰上裂解30 min。4℃下12 000 r/min离心10 min。使用BCA蛋白定量试剂盒对蛋白进行定量,进行十二

烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳。根据目的蛋白分子量大小配置分离胶和5%浓缩胶,并垂直插入Teflon齿梳,室温静置。待胶完全聚合将凝胶置于电泳槽中,加入电泳缓冲液,拔出梳子,每孔加上样液15 μ L(20 μ g总蛋白)。浓缩胶电压为80 V、40 min,分离胶电压120 V、30~50 min。溴酚蓝跑至胶底即可终止电泳。电泳结束后采用半干法转移至PVDF膜:按膜向正极的方向将转移盒放入电转仪中,加入转膜缓冲液,将电转仪置于冰水中,300 mA恒流转膜1 h。转膜结束后,放入5%脱脂奶粉室温封闭1 h。TBST洗膜,分别加入GAPDH、ATG7和自噬相关蛋白(P62、Beclin-1、LC3 II、LC3 I)一抗(1:1 000)4 $^{\circ}$ C孵育过夜,TBST洗膜,二抗(1:10 000稀释)室温孵育60 min,增强化学发光A、B液按1:1体积混合后均匀滴加在膜上,凝胶成像系统成像,Image J软件计算灰度值,分析目的条带与内参蛋白条带光密度比值。

1.9 统计学方法

数据分析采用SPSS 23.0和Graghpad 8.0统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差数($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心功能比较

各组大鼠EF、LVEDd、LVEDs比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。模型组、空载病毒组EF较空白对照组降低($P<0.05$),LVEDd、LVEDs较空白对照组升高($P<0.05$);模型组与空载病毒组EF、LVEDd、LVEDs比较,差异无统计学意义($P>0.05$);miR-129-5p组EF较模型组升高($P<0.05$),LVEDd、LVEDs较模型组降低($P<0.05$)。见表1。

表1 各组大鼠心功能比较 ($n=10$)

组别	EF	LVEDd	LVEDs
空白对照组	66.80 $\pm$ 3.67	4.93 $\pm$ 0.37	2.98 $\pm$ 0.44
模型组	35.58 $\pm$ 1.86	7.06 $\pm$ 0.41	5.14 $\pm$ 0.45
空载病毒组	37.15 $\pm$ 2.26	7.27 $\pm$ 0.36	4.85 $\pm$ 0.57
miR-129-5p组	56.55 $\pm$ 2.90	5.71 $\pm$ 0.53	3.75 $\pm$ 0.50
<i>F</i> 值	303.453	68.920	41.183
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

2.2 各组大鼠心肌组织 miR-129-5p 相对表达量比较

空白对照组、模型组、空载病毒组和miR-129-5p组心肌组织miR-129-5p相对表达量分别为(1.00 $\pm$ 0.23)、(0.40 $\pm$ 0.33)、(0.40 $\pm$ 0.55)和(1.73 $\pm$ 0.11),经方差分析,差异有统计学意义($F=269.276$, $P=0.000$)。模型组、空载病毒组较空白对照组低($P<0.05$),miR-129-5p组较模型组高($P<0.05$)。

2.3 miR-129-5p对HF大鼠心肌组织形态学的影响

HE染色结果显示,空白对照组心肌纤维排列整齐,心肌细胞无肥大,无炎症细胞浸润,细胞核染色正常,无萎缩。模型组和空载病毒组心肌纤维排列紊乱,正常心肌细胞减少,细胞核皱缩深染。miR-129-5p组心肌纤维部分排列紊乱,可见轻度心肌细胞肥厚和少量凋亡心肌细胞,病理损伤程度较模型组、空载病毒组轻。见图1。

Masson染色结果显示,与空白对照组比较,模型组、空载病毒组心肌纤维化程度加重。miR-129-5p组心肌纤维化程度较模型组、空载病毒组轻。见图1。

2.4 大鼠心肌组织ATG7表达

各组大鼠心肌组织ATG7表达免疫组织化学染色结果显示,ATG7阳性表达呈棕黄色颗粒,空白对照组未见明显棕黄色颗粒,模型组、空载病毒组多于空白对照组,而miR-129-5p组与模型组、空载病毒组相比阳性细胞数量减少。见图2。

Western blotting结果显示,空白对照组、模型组、空载病毒组和miR-129-5p组心肌细胞ATG7蛋白相对表达量分别为(0.77 $\pm$ 0.16)、(1.40 $\pm$ 0.11)、(1.34 $\pm$ 0.10)和(0.87 $\pm$ 0.13),经方差分析,差异有统计学意义($F=19.312$, $P=0.001$)。模型组和空载病毒组较空白对照组升高($P<0.05$),miR-129-5p组较模型组降低($P<0.05$)。见图3。

2.5 各组大鼠心肌细胞LC3 II/LC3 I、Beclin-1、P62蛋白相对表达量比较

各组大鼠心肌细胞LC3 II/LC3 I、Beclin-1、P62蛋白相对表达量比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。模型组LC3 II/LC3 I、Beclin-1表达较空白对照组增加($P<0.05$),P62较空白对照组降低($P<$

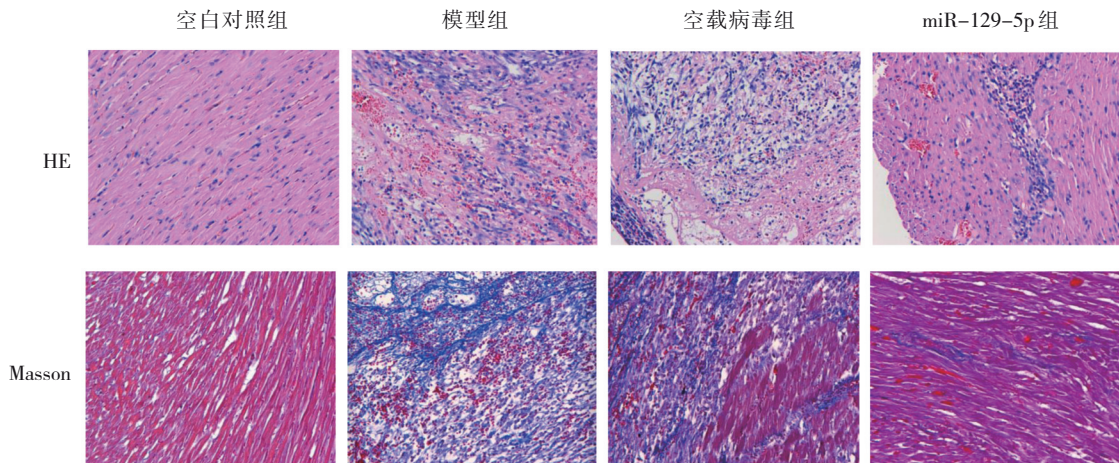


图1 miR-129-5p对HF大鼠心肌组织形态学的影响 (HE × 100, Masson × 100)

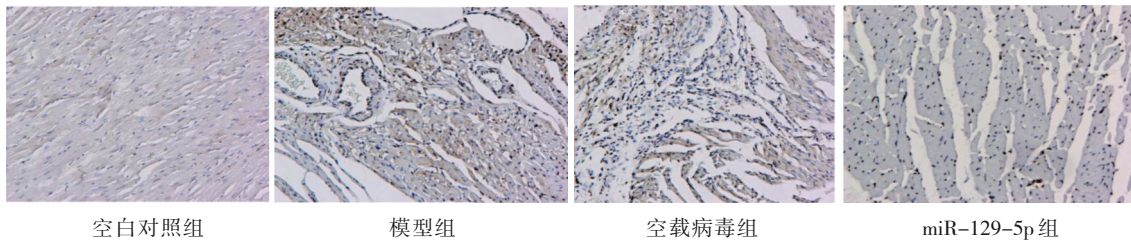
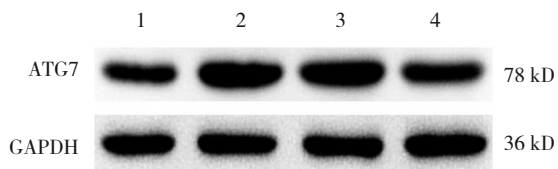


图2 各组大鼠ATG7蛋白表达 (免疫组织化学染色 × 100)



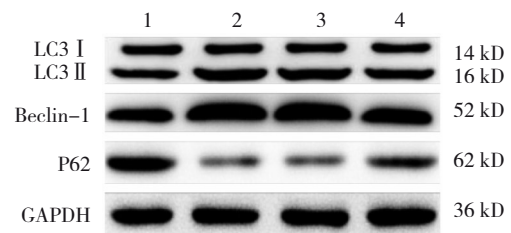
1: 空白对照组; 2: 模型组; 3: 空载病毒组; 4: miR-129-5p 组。

图3 各组大鼠ATG7蛋白条带图

0.05)。miR-129-5p 组 LC3 II/LC3 I、Beclin-1 较模型组降低 ($P < 0.05$), P62 较模型组增加 ($P < 0.05$)。表明 HF 大鼠中心肌细胞自噬相关蛋白表达增加, 过表达 miR-129-5p 可抑制 HF 大鼠心肌细胞过度自噬。见表 2 和图 4。

表 2 各组大鼠 LC3 II/LC3 I、Beclin-1、P62 蛋白相对表达量比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	LC3 II/LC3 I	Beclin-1	P62
空白对照组	0.97 ± 0.11	1.05 ± 0.11	0.89 ± 0.11
模型组	1.37 ± 0.86	1.66 ± 0.06	0.38 ± 0.04
空载病毒组	1.36 ± 0.97	1.65 ± 0.10	0.34 ± 0.05
miR-129-5p 组	1.09 ± 0.02	1.33 ± 0.11	0.71 ± 0.08
F 值	16.394	26.548	38.236
P 值	0.001	0.000	0.000



1: 空白对照组; 2: 模型组; 3: 空载病毒组; 4: miR-129-5p 组。

图4 各组大鼠 LC3 II/LC3 I、Beclin-1、P62 蛋白条带图

3 讨论

HF 是由于心脏结构和(或)功能异常, 导致心室充盈或射血能力受损的一种复杂的临床综合征, 仍然是全世界范围内死亡的主要原因之一, 确诊 5 年后生存率约 53%^[9]。近年来, 生物治疗成为 HF 研究热点, 特别是 miRNAs 作为潜在的基因表达、细胞周期和凋亡的重要调控者, 得到广泛的关注^[10-11]。临床试验研究显示, miR-132 抑制剂 CDR132L 对 HF 患者的心功能和心肌纤维化具有明显改善作用, 且治疗安全性、耐受性良好^[12-13]; miR-129-5p 可降低大动脉平滑肌细胞的迁移能力, 减轻动脉粥样硬化^[14]。CHEN 等^[15]在体外大鼠模型中发现过表达 miR-129-5p 能显著抑制缺氧/复氧诱导的心肌细胞凋亡;

YE^[6]等发现 miR-129-5p 在血管紧张素 II 诱导的肥厚心肌细胞中表达下调,而过表达 miR-129-5p 能有效抑制 HF 大鼠的心肌肥厚和改善心功能。本研究结果发现,miR-129-5p 在 HF 大鼠心肌组织表达低于空白对照组,miR-129-5p 过表达能显著改善 HF 大鼠 EF、LVEDd、LVEDs 心功能指标,降低心肌纤维化和病理损伤程度。

自噬是一种保守的溶酶体降解途径,适度激活可帮助消除蛋白聚集体和受损的细胞器维持细胞质稳态,过度激活使细胞损伤加重,诱导自噬性细胞死亡^[17]。LC3 在细胞内定位于自噬体膜,是 ATG8 的同源物,参与自噬体的形成。其未发生自噬时,LC3 在细胞内被剪切产生可溶性 LC3 I;发生自噬时,LC3 I 经过 ATG7 和 ATG3 的泛素样加工修饰后,形成 LC3 II^[18]。LC3 II 或 LC3 II/LC3 I 可反映细胞自噬的活性。*Beclin-1* 是哺乳动物酵母 Atg6 的同源基因,通过激活囊泡转运蛋白 34 在自噬调节中发挥核心作用,诱导自噬前体的形成,是对自噬具有正调节作用的关键因子,常作为衡量自噬水平的重要指标^[19]。p62 是一种自噬底物,通过与自噬体内膜上的 LC3 II 相互作用,促进折叠异常的蛋白质降解;自噬过程中,P62 在自噬体内不断降解并逐渐减少^[20]。在本研究中,利用 Western blotting 检测大鼠心肌组织自噬相关蛋白 LC3 II/LC3 I、Beclin-1、P62 表达,结果显示在模型组 LC3 II/LC3 I、Beclin-1 表达增加,P62 表达降低,说明 HF 大鼠模型的心肌细胞自噬水平增加。通过转染 miR-129-5p 高表达可降低 LC3 II/LC3 I 和 Beclin-1 表达,提高 P62 蛋白表达,与大鼠心功能损害的改善基本一致,说明 miR-129-5p 可能通过抑制心肌细胞自噬对大鼠 HF 发挥保护作用。

ATG7 是具有泛素化 E1 样酶活性的自噬相关基因,通过催化 ATG12 活化,与 ATG5、ATG16L 结合形成三元体复合物 ATG12-ATG5-ATG16L,定位于自噬体外膜,促进自噬泡的延伸伸长^[21]。ATG7 还参与 LC3 I 活化,促进 LC3 I 蛋白与磷脂酰乙醇胺的脂化作用,生成 LC3 II^[22]。ATG12-ATG5-ATG16L 和 LC3 II/LC3 I 是自噬体膜延伸所需要的 2 个泛素样共轭蛋白系统,共同参与自溶酶体形成过程^[23]。可见,ATG7 是自噬过程中的关键基因。自噬与 HF 的发生、发展密切相关,miRNA 作为自噬的关键调控因

子,其介导的转录和转录后水平调控在 HF 细胞自噬中起着重要作用。miR-129-5p 通过抑制 Beclin-1 减轻内皮细胞自噬,对动脉粥样硬化发挥保护作用^[24]。本研究发现,HF 大鼠心肌组织 miR-129-5p 表达下调,ATG7 蛋白表达上调,自噬水平增加;通过对心肌组织 miR-129-5p 进行过表达,Western blotting 检测和免疫组织化学染色结果均表明 ATG7 上调水平受到抑制,自噬增加程度和心肌损伤程度减轻。说明 miR-129-5p 和 ATG7 之间存在一定的关系,miR-129-5p 可能参与 ATG7 的调控调节自噬。

综上所述,miR-129-5p 过表达可有效减轻心肌细胞自噬,从而改善 HF 大鼠心功能,miR-129-5p 可能是 HF 治疗的潜在新靶点。随着对自噬的深入研究,进一步揭示自噬在 HF 中的作用,有助于为临床防治 HF 提供新的思路和理论依据。

参 考 文 献:

- [1] SCHWINGER R H G. Pathophysiology of heart failure[J]. *Cardiovasc Diagn Ther*, 2021, 11(1): 263-276.
- [2] NIKOLETOPOULOU V, MARKAKI M, PALIKARAS K, et al. Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(12): 3448-3459.
- [3] YAMAGUCHI O. Autophagy in the heart[J]. *Circ J*, 2019, 83(4): 697-704.
- [4] DU J, LIU Y, FU J T. Autophagy and heart failure[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1207: 223-227.
- [5] KALAMPOGIAS A, SIASOS G, OIKONOMOU E, et al. MicroRNAs in the management of heart failure[J]. *Curr Med Chem*, 2021, 28(24): 4863-4876.
- [6] ZHANG H B, ZHANG X Q, ZHANG J. MiR-129-5p inhibits autophagy and apoptosis of H9c2 cells induced by hydrogen peroxide via the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway by targeting ATG14[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506(1): 272-277.
- [7] ZHANG H H, ZHANG N L, JIANG W B, et al. Clinical significance of the long non-coding RNA NEAT1/miR-129-5p axis in the diagnosis and prognosis for patients with chronic heart failure[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(5): 512.
- [8] LI W J, REN Y P, MENG T Y, et al. miR-129-5p attenuates hypoxia-induced apoptosis in rat H9c2 cardiomyocytes by activating autophagy[J]. *J Gene Med*, 2020, 22(8): e3200.
- [9] TOMASONI D, ADAMO M, LOMBARDI C M, et al. Highlights in heart failure[J]. *ESC Heart Fail*, 2019, 6(6): 1105-1127.
- [10] MAJUMDAR G, RAGHOW R. Trichostatin A induces a unique set of microRNAs including miR-129-5p that blocks cyclin-dependent kinase 6 expression and proliferation in H9c2 cardiac myocytes[J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 415(1-2): 39-49.

- [11] KENNEL P J, SCHULZE P C. A review on the evolving roles of MiRNA-based technologies in diagnosing and treating heart failure[J]. *Cells*, 2021, 10(11): 3191.
- [12] FOINQUINOS A, BATKAI S, GENSCHEL C, et al. Preclinical development of a miR-132 inhibitor for heart failure treatment [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 633.
- [13] TÄUBEL J, HAUKE W, RUMP S, et al. Novel antisense therapy targeting microRNA-132 in patients with heart failure: results of a first-in-human Phase 1b randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(2): 178-188.
- [14] JIANG H F, GONG R, WU Y Q. miR-129-5p inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced A7r5 cell viability and migration by targeting HMGB1 and the PI3k/Akt signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(3): 243.
- [15] CHEN Z X, HE D, MO Q W, et al. MiR-129-5p protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via targeting HMGB1[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(8): 4440-4450.
- [16] YE H M, XU G Y, ZHANG D X, et al. The protective effects of the miR-129-5p/keap-1/Nrf2 axis on Ang II-induced cardiomyocyte hypertrophy[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(2): 154.
- [17] SCARRETTA S, MAEJIMA Y, ZABLOCKI D, et al. The role of autophagy in the heart[J]. *Annu Rev Physiol*, 2018, 80: 1-26.
- [18] CAO W Y, LI J H, YANG K P, et al. An overview of autophagy: mechanism, regulation and research progress[J]. *Bull Cancer*, 2021, 108(3): 304-322.
- [19] SHI B H, MA M Q, ZHENG Y T, et al. mTOR and Beclin1: two key autophagy-related molecules and their roles in myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 12562-12568.
- [20] CHU C W, KO H J, CHOU C H, et al. Thioridazine enhances P62-mediated autophagy and apoptosis through Wnt/ β -catenin signaling pathway in glioma cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3): 473.
- [21] COLLIER J J, GUISSART C, OLÁHOVÁ M, et al. Developmental consequences of defective ATG7-mediated autophagy in humans[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(25): 2406-2417.
- [22] WANG Y, LU X G, WANG X P, et al. atg7-based autophagy activation reverses doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. *Circ Res*, 2021, 129(8): e166-e182.
- [23] YOU Z Y, XU Y F, WAN W, et al. TP53INP2 contributes to autophagosome formation by promoting LC3-ATG7 interaction [J]. *Autophagy*, 2019, 15(8): 1309-1321.
- [24] GENG Z H, XU F, ZHANG Y G. MiR-129-5p-mediated Beclin-1 suppression inhibits endothelial cell autophagy in atherosclerosis[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(4): 1886-1894.

(李科 编辑)

本文引用格式：谭莉, 吴健, 熊迪, 等. MicroRNA-129-5p通过抑制心肌细胞自噬改善心力衰竭大鼠心功能的作用机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(6): 30-36.

Cite this article as: TAN L, WU J, XIONG D, et al. MicroRNA-129-5p improves cardiac function of heart failure rat models by inhibiting autophagy of cardiomyocytes[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(6): 30-36.