

过表达 IDO 骨髓间充质干细胞通过外排体促进移植心脏存活的分子机制研究*

贺继刚¹ 韩金秀¹ 李贝贝¹ 李宏远¹ 撒亚莲¹ 严丹¹ 李洪荣¹

[摘要] 目的:探讨过表达 IDO 大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)通过分泌外排体促进移植心脏存活的分子基础。方法:通过慢病毒载体 GV308 携带 IDO 转染构建过表达 IDO 大鼠 BMSCs,并加入基因开启剂强力霉素(DOX),按照分泌外排体的类型分为 3 组:过表达 IDO-BMSCs-exosome 组(过表达 IDO 组)、空载体-BMSCs-exosome 组(空载体组)、BMSCs-exosome 组(BMSCs 组);然后采用 SBI 公司的 ExoQuick-TC 提取 3 组分泌的外排体,同时建立大鼠腹腔异位移植心脏模型;经尾静脉给予相应细胞分泌的外排体,利用彩色超声心动图检测注射 3 组外排体后 2 d 移植心脏的心功能变化。另将注射吗替麦考(吗替麦考组)及建模未处理(未处理组)的大鼠作为对照。进而采用小 RNA 测序技术检测过表达 IDO 组大鼠 BMSCs 外排体中与免疫相关的 microRNA 表达。结果:心脏彩色超声结果显示:过表达 IDO-BMSCs 分泌的外排体可以有效改善异位移植心脏存活。而根据 KEGG 分析可见前 20 位上调 microRNA 中涉及免疫的有 10 个,其中 miR-540-3p 的差异倍数(FC)值上升幅度最大。前 20 位下调 microRNA 中涉及免疫的有 3 个,其中 miR-338-5p 的 FC 值下降幅度最大。结论:通过采用小 RNA(sRNA)测序技术检测过表达 IDO 组大鼠 BMSC 分泌外排体内与免疫相关的 microRNA,最终确认上调重点 microRNA 为 miR-540-3p,下调重点 microRNA 为 miR-338-5p。

[关键词] IDO;外排体;microRNA;骨髓间充质干细胞

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2018.03.021

[中图分类号] R654.2 **[文献标志码]** A

Molecular mechanism of the overexpression of IDO bone marrow mesenchymal stem cells for the survival of transplanted heart

HE Jigang HAN Jinxiu LI Beibei LI Hongyuan
SA Yalian YAN Dan LI Hongrong

(Cardiovascular Surgery, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming, 650032, China)

Corresponding author: LI Hongrong, E-mail:jiganghe@sina.com

Abstract Objective: To investigate the molecular basis of the overexpression of IDO rat bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) secreted exosomes contribute to the survival of transplanted heart. **Method:** Overexpressed IDO rat BMSCs were constructed using lentiviral vectors (GV308) that carry IDO transfected rat BMSCs, which was then put into gene activators (doxycycline). According to the type of exosome, divided into three groups, each containing three samples. Three groups were: overexpression of IDO-BMSCs-exosome, empty vector-BMSCs-exosome, BMSCs-exosome. The exuQuick-TC of SBI was used to extract the secreted exosomes, and the model of ectopic endothelial cardiac transplantation was created. The secreted exosome was injected through the tail vein. Echocardiography was performed to examine function of transplanted heart after a 2-day treatment with exosome. Simultaneous Mycophenolate mofetil group and untreated group as a control group. MicroRNA sequencing technique was applied to examine immunity-related over-expression IDO rat BMSCs in exosome secretion. **Result:** Doppler ultrasonography showed that the exosome secreted by overexpressed IDO-BMSCs greatly contributed to the survival of ectopic transplanted heart. KEGG analysis showed that among the top 20 up-regulated microRNAs, 10 were involved in immunity. Furthermore, the FC value of microRNA-540-3p increased in a large margin. And top 20 down-regulated microRNAs, 10 were involved in immunity. Furthermore, the FC value of microRNA-338-5p decreased in a large margin. **Conclusion:** Overexpressed IDO rat BMSCs are detected during exosome secretion and immunity-related expression of microRNA. MicroRNA-540-3p is up-regulated, whereas microRNA-338-5p is down-regulated.

Key words indoleamine 2,3-dioxygenase; exosome; microRNA; bone marrow mesenchymal stem cells

* 国家自然科学基金(No: 81460073, 31460298); 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项(No: 2014FB089); 云南省教育厅科学研究基金(No: 2015Z051); 中国博士后科学基金(No: 2015M582764XB); 成都医学院 2015 年度科研项目(No: CYZ15-18); 云南省医学后备人才(No: H-201607)

¹ 云南省第一人民医院心脏大血管外科(昆明, 653200)

通信作者: 李洪荣, E-mail: jiganghe@sina.com

20 世纪以来,由于器官移植技术、移植免疫基础研究以及各种免疫抑制剂的发展,器官移植已成为临床治疗器官功能衰竭的有效治疗手段。目前生物免疫尤其是骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)已经成为促进移植器官存活的研究热点,但目前细胞治疗的安全性仍有疑义。吲哚胺 2,3 双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)是肝脏以外唯一可催化色氨酸沿尿酸途径分解代谢的限速酶,在哺乳动物的组织与细胞,尤其是淋巴组织和胎盘中广泛表达,其可以通过降解色氨酸有效促进移植存活^[1]。本研究团队前期已经证实过表达 IDO-BMSCs 可以更为有效地增强移植心脏的存活。在前期研究的基础上,本研究进一步聚焦于细胞分泌外排体(exosome)。外排体是从细胞上产生的鳞片状脱落的囊泡,具有多种生物学功能,可以使细胞在不直接接触下完成细胞间生物信号的传导^[2]。本研究利用慢病毒携带 IDO 转染大鼠 BMSCs 并提取其分泌的外排体,通过体内采用心脏彩色超声证明过表达 IDO 的 BMSCs 分泌的 exosome 可以增强异位移植的心脏存活;并进一步通过小 RNA(small RNA, sRNA)测序技术检测过表达 IDO 大鼠 BMSCs 外排体中与免疫相关 microRNA 表达,从分子水平对其生物学现象作出探讨。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 4 周龄 SPF 级 SD 大鼠及 Wistar 大鼠各 60 只,均为雄性,由成都达硕实验动物中心提供[动物许可证号为 SCXK(川)2015-030]。所有动物的喂养、观察均按照非临床研究管理规范(GLP)规定执行。其中 45 只 SD 大鼠和 60 只 wistar 大鼠用于心脏移植模型建立,15 只 SD 大鼠用于 BMSCs 的提取。按照分泌外排体的类型将心脏移植模型大鼠分为 3 组:过表达 IDO-BMSCs-exosome 组(过表达 IDO 组)、空载体-BMSCs-exosome 组(空载体组)、BMSCs-exosome 组(BMSCs 组);每组 3 只心脏移植成功大鼠,排除建模不成功者。

1.2 主要试剂和仪器

SD 大鼠 BMSC 培养基(低糖培养基,含 10% 胎牛血清),购自美国 Cyagen Biosciences 公司。CD29、CD44、CD90、CD73、CD45、CD11b、CD34 均购自 BioLegend(美国)。TruSeq Small RNA Sample Prep Kit-Set A 购自美国 Illumina 公司。mirVana™ microRNA Isolation kit 购自美国 Ambion 公司。Bioanalyzer 2100 购自美国 Agilent。心脏彩色超声仪购自美国 PHILIPS EPIQ 7C。

1.3 BMSC 的分离、培养及鉴定

全骨髓培养大鼠 BMSCs,胰酶消化传代至第 7 代。取生长至 P7 代 BMSCs,待细胞融合达 80%~

90% 时。制备单细胞悬液,采用流式细胞检测 CD29、CD44、CD90、CD73、CD45、CD11b、CD34(CD29 单抗 5 μ l 作 1 : 20 稀释至 100 μ l,CD44 单抗 5 μ l 作 1 : 40 稀释至 100 μ l,CD90 5 μ l 作 1 : 20 稀释至 100 μ l,CD73 5 μ l 作 1 : 20 稀释至 100 μ l,CD45、CD11b、CD34 单抗 5 μ l 作 1 : 40 稀释至 100 μ l)。

1.4 慢病毒载体及基因开启技术构建过表达 IDO 大鼠 BMSCs

将已构建成功的 IDO 基因插入慢病毒包装质粒 GV308 中,构建 GV308-IDO 重组慢病毒包装质粒。将构建成功的 GV308-IDO 重组慢病毒包装质粒转染入大鼠 BMSCs,并加入基因开启剂强力霉素(DOX)。转染成功后利用 Q-PCR 方法检测转染 48 h 的 IDO 基因量的表达。

1.5 大鼠腹腔异位移植心脏模型建立

1.5.1 取供体 Wistar 大鼠心脏 开腹后将 50 U/L 的 4℃ 冰肝素盐水 5 ml 经下腔静脉注射,2 min 后剪开腹主动脉及下腔静脉充分放血,剪开胸腔放入盐水冰削,结扎下腔、左右上腔后剪断升主动脉,游离肺动脉后剪断肺动脉,结扎心脏后的肺静脉,取下心脏。

1.5.2 供体心脏吻合到受体 SD 大鼠腹腔主动脉及下腔静脉 将受体开腹后,分离腹主动脉及下腔静脉,套 3-0 丝线,阻断下腔静脉及腹主动脉,剪开腹主动脉及下腔静脉,采用连续单点吻合方法将供体心脏的主动脉及肺动脉与受体心脏的腹主动脉及下腔静脉吻合。

1.6 外排体的提取及检测

首先将血清提前通过超滤离心(150 000 $\times g$, 4℃, 7 h)去除外排体。再将目的细胞在不含外排体血清的培养基中培养至 48 h(过表达 IDO 组和空载体组在培养期间持续加入 DOX)。收集培养基,3 000 $\times g$ 离心 15 min,以去除细胞及细胞碎片。将上清液转移至无菌管中,加入适当体积的 ExoQuick-TC Exosome 沉淀液。冷藏(4℃)过夜。1 500 $\times g$ 离心 ExoQuick-TC/体液混合液,30 min。外排体沉淀位于试管底部,呈浅褐色或白色。

1.7 评估移植心脏的心功能

提取过表达 IDO-BMSCs、空载体-BMSCs、BMSCs 细胞分泌的外排体,经尾静脉注射到大鼠腹腔异位移植心脏术后 3 d 的模型中,每只 400 μ l (800 mg/ml)。并将建模未处理(未处理组)及给予吗替麦考注射的大鼠(吗替麦考组)作为对照。注射后分别喂养 2 d,进行心脏彩色超声评估移植心脏心功能。

1.8 提取外排体中的 RNA

按照 RA800TC-1 seraMir Exosome RNA Amplification kit from Media and Urine 试剂盒说明书,首先将 10 ml 样本中加入 2 ml EXOQUICK-

TC 试剂,在 4℃ 条件下放置过夜,再加入 350 μl 裂解液,旋转 15 s,样本通过过滤柱,2 000 $\times g$ 离心 2 min,可以获得 30~40 μl 外排体 RNA。

1.9 建库实验步骤

Ligate 3' Adapters:将 RNA 3' Adapter(RA3)试剂解冻后置于冰上,取 1 μl 加入样品中,总体积为 6 μl 。再将 EP 管放入 PCR 仪,启动程序 S-70-2M。将 5X HM Ligation Buffer(HML)解冻后置于冰上,取 nuclease-free 的 EP 管在冰上配置。再将 4 μl Ligate 3' Adapter Prepare Mix 转至 0.2 ml 的变性产物样品管内,总体积为 10 μl ;启动程序 S-28-1H。同理完成 Ligate 5' Adapters。反转录,扩增,并进行质检,对质检合格的 RNA 进行建库并质检。芯片清洗及扫描:杂交结束后,先在 42℃ 左右含 0.2% SDS,2 \times SSC 的洗液中洗 5 min,然后在 0.2 \times SSC 的洗液 II 中洗 5 min,玻片甩干后使用 Agilent 芯片扫描仪(G2565CA)对清洗后的芯片进行扫描,得到杂交图片。

1.10 已知 microRNA 的进一步处理

进一步对过表达 IDO 组、空载体组和 BMSCs 组的已知 microRNA 进行以下处理:①按照筛选标准:差异倍数(FC) ≥ 1.5 或 ≤ 0.67 ,且 $P \leq 0.05$,为有显著性差异;明确 3 组组间比较后有显著性差异的 microRNA;②在过表达 IDO 组与 BMSCs 组中去除 BMSCs 组与空载体组比较中有差异的 microRNA,无论这个基因是上调还是下调;③对除去差异基因后的过表达 IDO 组和 BMSCs 组,罗列出前 20 个上调或下调的关键 microRNA;④对上述 microRNA 中上调及下调的前 20 位完成 KEGG 富集,明确上述 microRNA 中涉及免疫相关的 microRNA;⑤根据 KEGG 分析可见上调的免疫相关 microRNA,根据基因预测结果涉及 3 条免疫途径: Intestinal immune network for IgA production (CD80 AICDA CD28 ICOS)、Primary immunodeficiency(AICDA JAK3 ICOS)、Autoimmune thyroid disease(CD80 TSHR RT1-N2 CD28),进而明确涉及免疫的 microRNA;⑥用筛选出的 microRNA 预测其所对应的基因。

1.11 数据提取及分析

使用 Agilent Feature Extraction(v10.7)软件对杂交图片进行分析并提取数据;然后使用 Agilent GeneSpring 软件对数据进行归一化,并采用 GeneSpring 软件进行组间的差异分析,例如 T-test 运用方法进行 2 组间的差异表达基因分析;运用 ANOVA 方法进行多组差异表达基因分析。

2 结果

2.1 BMSCs 表达

使用流式细胞仪鉴定大鼠的 BMSCs,结果显

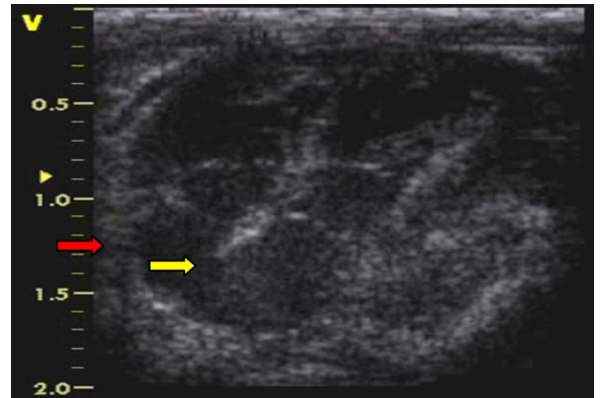
示,超过 90% 的大鼠 BMSCs 表达 CD29、CD44、CD90 及 CD73,但不表达 CD45、CD11b 与 CD34。

2.2 IDO 基因表达

慢病毒转染大鼠 BMSCs 并加入 DOX 48 h 后,过表达 IDO 组大鼠 IDO 的表达量较未过表达 IDO-BMSCs-exosome 的大鼠(阴性对照组)明显增加(过表达 IDO 组的 IDO 基因表达丰度为阴性对照组的 62 906.27 倍, $P < 0.05$)。

2.3 大鼠心脏移植情况

大鼠腹腔异位移植模型建立 48 h 时的心脏彩色超声结果见图 1。

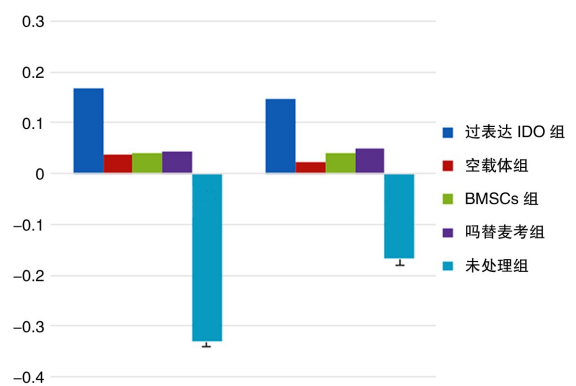


黄色箭头:形成的血栓;红色箭头:移植心脏。

图 1 腹腔异位移植心脏 48 h 后复查心脏彩色超声结果
Figure 1 The result of echocardiography of transplanted heart

2.4 外排体处理后移植心脏的心功能情况

大鼠腹腔异位心脏移植模型建立 3 d 后,经大鼠尾静脉给予各组 BMSCs 分泌的外排体,采用心脏彩色超声评估移植心脏心功能改变。结果显示,IDO-BMSCs-外排体处理后 2 d 移植心脏的射血分数(EF)、短轴缩短率(FS)均有显著提高,与其余各组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。



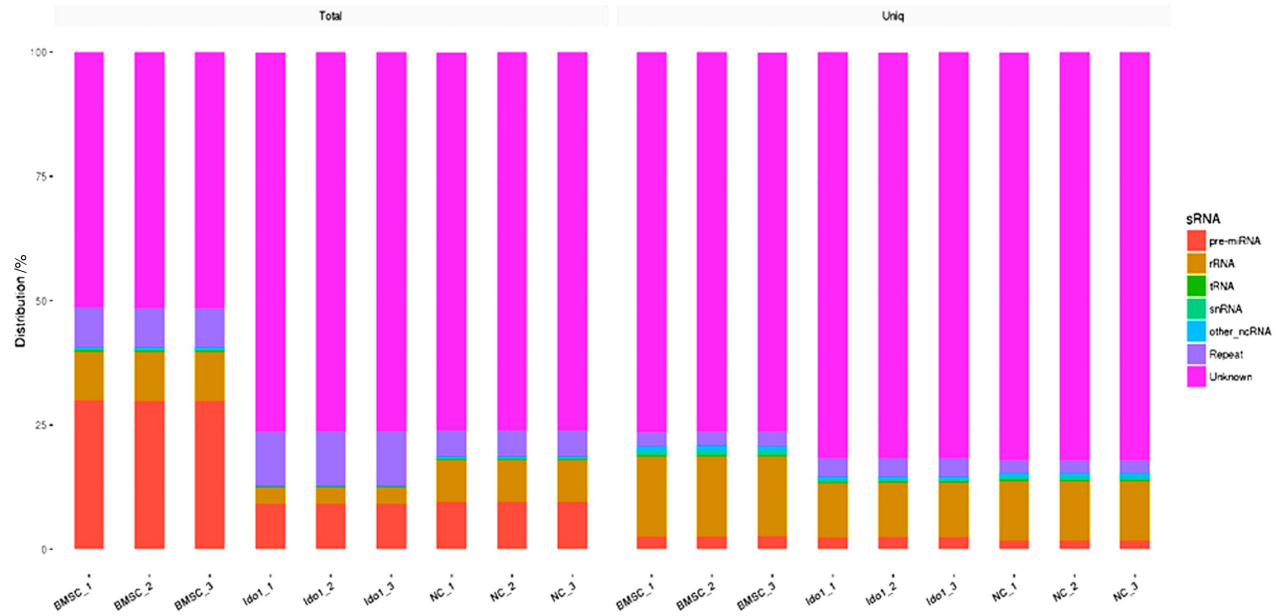
左图:EF;右图:FS。

图 2 外排体处理后 2 d 移植心脏的 EF 与 FS
Figure 2 EF and FS levels of transplanted heart after 2 days of exosome treatment

2.5 与免疫相关的 microRNA

对质检合格样本,上机检测获得原始数据。采用 sRNA 测序技术对过表达 IDO 组、空载体组和

BMSCs 组原始数据中的 sRNA 成分进行分析,可见未知 RNA 占大多数。见图 3。



BMSC:BMSCs 组;Idol:过表达 IDO 组;NC:空载体组。1、2、3 为样本编号。

图 3 3 组数据中的 sRNA 的成分分析

Figure 3 The component analysis of small RNA

2.6 已知 microRNA 的聚类分析

对过表达 IDO 组、空载体组和与 BMSCs 组外排体中已知的 microRNA 进行聚类分析,可见 BMSCs 与空载体组聚类分析相似度高,与过表达 IDO 组有显著差异。见图 4。

RAG2),见表 2。根据 FC 值可见,最终上调重点 microRNA 为 miR-540-3p,下调重点 microRNA 为 miR-338-5p。

3 讨论

本实验结果证明,过表达 IDO-BMSCs 分泌的外排体可以有效提高移植心脏的存活。本实验进一步采用 sRNA 测序技术检测过表达 IDO 大鼠 BMSCs 外排体中与免疫相关 microRNA 的表达。根据实验结果可见:上调重点 microRNA 为 miR-540-3p,下调重点 microRNA 为 miR-338-5p。

由目前的研究结果来看,外排体更像是一种生物载体,其可以携带宿主细胞的生物信号远距离传输至目标细胞。因此可以认为,当 BMSCs 细胞过表达 IDO 后促使过表达 IDO-BMSCs 的免疫调节功能增强(已在前期实验中证实),进而其分泌的外排体携带已发生改变的生物学信息(即强化免疫调节信号),达到移植心脏,使其移植心脏存活时间延长。

据 Lei 等^[3]研究发现,miR-338-5p 在肾小球基底膜组织和各种肾小球基底膜细胞系中下调。miR-338-5p 的低表达可能对肾小球基底膜细胞的生物学行为具有抑制作用。结果表明,上调 miR-338-5p 能抑制肾小球基底膜细胞的增殖、迁移和侵袭,并明显促进肾小球基底膜细胞的凋亡,这与在其他癌症中 miR-338-5p 的肿瘤抑制功能是一致

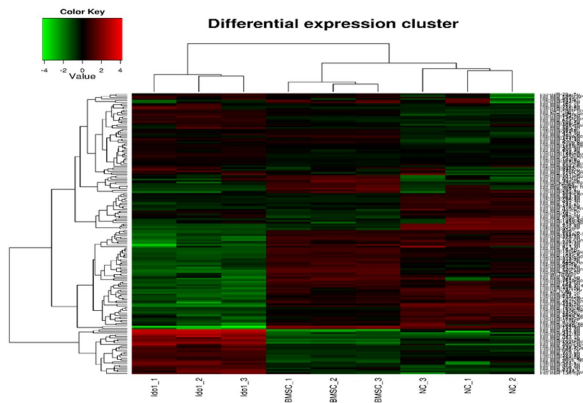


图 4 已知 microRNA 的聚类分析

Figure 4 The cluster analysis of known microRNA

2.7 免疫相关基因的筛选

根据基因预测涉及免疫上调 microRNA 对应的基因见表 1。根据 KEGG 分析下调 microRNA 中免疫相关的 microRNA,可见涉及 2 条免疫途径: Intestinal immune network for IgA production (CXCL12)、Primary immunodeficiency (CD4

表 1 涉及免疫上调 microRNA 对应的基因

Table 1 Up-regulated microRNAs involved in immunity

Mirnaid	FC	log2(FC)	UpDown	genesymbol
rno-miR-136-5p	7.574	2.921	Up_regulate	Cd80
rno-miR-434-3p	32.043	5.002	Up_regulate	aicda
rno-miR-1188-5p	75.819	6.244	Up_regulate	Cd28
rno-miR-431	21.271	4.411	Up_regulate	Icos
rno-miR-434-3p	32.043	5.002	Up_regulate	aicda
rno-miR-540-3p	143.959	7.17	Up_regulate	Jak3
rno-miR-431	21.271	4.411	Up_regulate	Icos
rno-miR-375-3p	7.158	2.840	Up_regulate	Tshr
rno-miR-200a-5p	17.747	4.149	Up_regulate	RT1-N2
rno-miR-1188-5p	75.819	6.244	Up_regulate	Cd28

表 2 涉及免疫下调 microRNA 对应的基因

Table 2 Down-regulated microRNAs involved in immunity

Mirnaid	FC	log2(FC)	UpDown	Genesymbol
rno-miR-466b-5p	0.305	-1.713	Down_regulate	Cxcl12
rno-miR-25-5p	0.290	-1.786	Down_regulate	Cd4
rno-miR-338-5p	0.261	-1.936	Down_regulate	Rag2

的^[4-6]。而 Xing 等^[7]研究证明,与正常胃上皮细胞相比,胃癌干细胞中 miR-338-5p 下调,表明 miR-338-5p 可能作为胃癌发展的抑制剂起作用。在胃癌干细胞和胃癌干细胞引发的肿瘤中 ACBP-3 能诱导 miR-338-5p,ACBP-3 对胃癌干细胞的抑制作用可能是由于 miR-338-5p 表达的上调。以上的研究均证明 miR-338-5p 可以有效抑制肿瘤的发生。根据报道,在多种肿瘤的发生中都存在 miR-338-5p 的下调。目前已知在过表达 IDO-BMSCs 分泌的外排体中 miR-338-5p 虽然是下降的,但到达受体细胞内其实质上应该是增加了受体细胞内的 miR-338-5p。根据基因预测,其对应的基因可能为 RAG2,该基因能编码一种蛋白质,其涉及 B 和 T 细胞发育期间启动 V(D)J 的重组。该蛋白质与相邻重组激活基因 1 的产物形成复合物,并且该复合物可以通过在保守的重组信号序列上切割 DNA 而形成双链断裂。认为重组激活基因 1 的大部分都有催化活性,而重组活化基因 2 的 N 末端被认为在活性核心中六叶螺旋桨,能与 DNA 复合物紧密结合。在与蛋白质组分相互作用时,赖氨酸 4 三聚化组蛋白 H3 中,蛋白质中的 C 末端植物同源结构域的指状基序是必需的^[7]。综上可见 RAG2 是促进免疫反应的,而 miR-338-5p 对 RAG2 可能为一种负调控,从而使移植心脏存活时间延长。

其次本实验可见 miR-540-3p 上调,根据基因预测可见其对应的基因为 JAK3。JAK3 蛋白在造血和上皮细胞中表达,其在细胞信号传导中比其他 JAK 受到更多的限制。其最常见于 T 细胞和 NK

细胞,但也在肠上皮细胞中发现^[8-11]。JAK3 与信号转导受体有关,主要是 I 型细胞因子受体家族 [如白细胞介素(IL)-2R、IL-4R、IL-7R、IL-9R、IL-15R 和 IL-21R)]的常见 γ 链(γc)^[12]。JAK3 功能的突变导致常染色体严重联合免疫缺陷病,如果同时激活 JAK3 突变可导致白血病的发生^[13-14]。除了其在 T 细胞和 NK 细胞中众所周知的作用外,JAK3 还被发现介导 IL-8 刺激人嗜中性粒细胞。IL-8 主要起着诱导嗜中性粒细胞和淋巴细胞趋化作用,JAK3 沉默严重抑制 IL-8 介导的趋化性^[15]。可见 JAK3 为免疫激活蛋白,对免疫排异为促进作用。根据实验推测,miR-540-3p 的上调对 JAK3 的基因是负调控,从而使移植心脏存活延长。未来将对 miR-338-5p 及 miR-540-3p 进一步验证。

参考文献

[1] Zaher SS, Germain C, Fu H, et al. 3-hydroxykynurenine suppresses CD4⁺ T-cell proliferation, induces T-regulatory-cell development, and prolongs corneal allograft survival[J]. Invest J Vis Sci, 2011, 52(5): 2640-2648.

[2] Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives[J]. Oral Dis, 2011, 17(4): 345-354.

[3] Lei D, Zhang F, Yao D, et al. MiR-338-5p suppresses proliferation, migration, invasion, and promote apoptosis of glioblastoma cells by directly targeting EFEMP1[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89: 957-965.

[4] Chen X, Pan M, Han L, et al. miR-338-3p suppresses neuroblastoma proliferation, invasion and migration through targeting PREX2a[J]. FEBS Lett, 2013, 587(22): 3729-3737.

Popdc2 在心脏肥大中的表达及其对病理性心脏肥大的影响*

魏飞宇¹ 吕丽² 张进¹ 王礼琳¹ 丁立群¹ 李颖¹ 范洁¹

[摘要] 目的:探讨心脏胚胎基因——Popdc2 在小鼠心脏肥大中的差异表达,研究 Popdc2 对病理性心脏肥大的保护作用。方法:通过游泳锻炼构建小鼠生理性心脏肥大模型,主动脉缩窄术建立病理性心脏肥大模型,采用异丙肾上腺素(PE)诱导心肌细胞病理性肥大,qRT-PCR 和 Western blot 检测 Popdc2 及相关基因 mRNA 和蛋白表达水平,TUNEL 实验检测各组心肌细胞凋亡比例。结果:成功构建生理性及病理性心脏肥大模型。和对照组相比,生理性心脏肥大中 Popdc2 mRNA(3.64±0.29 : 1.08±0.44, P<0.01)和蛋白(0.52±0.04 : 0.29±0.03, P<0.01)表达升高,而在病理性心脏肥大中 Popdc2 mRNA(0.60±0.05 : 1.05±0.13, P<0.05)和蛋白(0.03±0.01 : 0.07±0.01, P<0.01)表达下降。心肌细胞病理性肥大的过程中 Popdc2 mRNA(0.47±0.05 : 1.04±0.08, P<0.01)和蛋白(0.53±0.11 : 1.22±0.11, P<0.01)表达也下降。过表达 Popdc2 可减少病理性心脏肥大过程中的细胞凋亡(0.95±0.07 : 1.63±0.11, P<0.01)、病理性标志基因心房利钠肽、B 型利钠肽和纤维化蛋白 Collagen I、Collagen II 的 mRNA 表达。结论:Popdc2 在生理性和病理性心脏肥大中呈现出不一致的变化趋势,且 Popdc2 可改善心肌细胞的病理性肥大,可能成为区别 2 种不同心脏肥大分子标志物及成为拮抗病理性心脏肥大、心力衰竭的作用靶点。

[关键词] 心脏肥大;主动脉缩窄术;Popdc2;凋亡

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2018.03.022

[中图分类号] R542.2 **[文献标志码]** A

The expression of Popdc2 in cardiac hypertrophy and its effects on pathological hypertrophy

WEI Feiyu¹ LV Li² ZHANG Jin¹ WANG Lilin¹ DING Liquan¹ LI Ying¹ FAN Jie¹

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81260038,81360039)
¹ 云南省第一人民医院 昆明理工大学附属医院心内科(昆明,650032)
² 昆明医科大学第二附属医院肿瘤科
通信作者:范洁, E-mail:fanj905@163.com

[5] Na H, Wu Z, Li L, et al. MiR-338-3p inhibits epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cells by targeting ZEB2 and MACC1/Met/Akt signaling [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(17):15222-15234.

[6] Sun J, Feng X, Gao S, et al. microRNA-338-3p functions as a tumor suppressor in human non-small-cell lung carcinoma and targets Ras-related protein 14[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(2):1400-1406.

[7] Xing Z, Lan Y, Xian L, et al. Anticancer bioactive peptide-3 inhibits human gastric cancer growth by targeting miR-338-5p[J]. *Cell Biosci*, 2016, 6(1):53.

[8] Leonard WJ, O'Shea JJ. Jaks and STATs: biological implications[J]. *Annu Rev Immunol*, 1998, 16(16):293-322.

[9] Mishra J, Karanki SS, Kumar N. Identification of molecular switch regulating interactions of Janus kinase 3 with cytoskeletal proteins[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(49):41386-41391.

[10] Mishra J, Waters CM, Kumar N. Molecular mechanism of interleukin-2-induced mucosal homeostasis[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 302(5):735-747.

[11] Kumar N, Mishra J, Narang VS, et al. Janus kinase 3 regulates interleukin 2-induced mucosal wound repair through tyrosine phosphorylation of villin[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(42):30341-30345.

[12] Johnston JA, Kawamura M, Kirken RA, et al. Phosphorylation and activation of the Jak-3 Janus kinase in response to interleukin-2 [J]. *Nature*, 1994, 370(6485):151-153.

[13] Fujimoto M, Naka T, Nakagawa R, et al. Defective thymocyte development and perturbed homeostasis of T cells in STAT-induced STAT inhibitor-1/suppressors of cytokine signaling-1 transgenic mice[J]. *J Immunol*, 2000, 165(4):1799-1806.

[14] Degryse S, de Bock CE, Cox L, et al. JAK3 mutants transform hematopoietic cells through JAK1 activation, causing T-cell acute lymphoblastic leukemia in a mouse model [J]. *Blood*, 2014, 124(20):3092-3100.

[15] Henkels KM, Frondorf K, Gonzalezmeija ME, et al. IL-8-induced neutrophil chemotaxis is mediated by janus kinase 3 (jak3)[J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(1):159-166.

(收稿日期:2017-07-19)