

# 基于TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路探讨lncRNA H19对慢性心力衰竭大鼠的影响

王凌燕\*, 曹国军, 梅洋, 张彬, 周诗晶

湖北六七二中西医结合骨科医院, 湖北武汉 430079

\* 通信作者: 王凌燕, E-mail: j8y190@163.com

收稿日期: 2022-12-05; 接受日期: 2023-03-05

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2023.06008

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



**摘要** **目的:** 基于转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)/Smad同源物3(Smad3)信号通路探讨长链非编码RNA H19(lncRNA H19)和微小RNA(miRNA)-200a对慢性心力衰竭大鼠心功能及心肌纤维化的影响。**方法:** 选择清洁级成年健康雄性SD大鼠60只, 采用随机数字表法分为假手术组和模型组, 分别12、48只。采用结扎法构建心力衰竭模型大鼠, 造模成功后, 按随机数字表法分为心力衰竭组、lncRNA H19阴性对照组(阴性对照组)、lncRNA H19过表达组(过表达组)、lncRNA H19过表达+miRNA-200a过表达组(联合过表达组), 每组12只。阴性对照组、过表达组和联合过表达组分别于第1、4、7、10、13、16天在大鼠尾部通过静脉注射lncRNA H19阴性对照质粒5 mL/(kg·d)、lncRNA H19质粒5 mL/(kg·d)、lncRNA H19质粒5 mL/(kg·d)和miRNA-200a质粒2 mL/(kg·d); 心力衰竭组、假手术组仅注射等剂量生理盐水, 1次/d。末次注射2 d后, 采用心脏彩色多普勒超声仪检测大鼠心功能指标[左心室心脏射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)、左心室收缩末期内径(LVESD)、左心室舒张末期内径(LVEDD)]; 采用Masson染色法检测大鼠心肌纤维化情况, 测定胶原容积分数(CVF); 采用实时荧光定量PCR法检测大鼠心肌组织lncRNA H19、miRNA-200a转录水平; 采用Western blot法检测大鼠心肌组织TGF- $\beta$ 1、Smad3蛋白表达水平。**结果:** 与假手术组比较, 其余4组LVEDD、LVESD和TGF- $\beta$ 1、Smad3蛋白表达水平及miRNA-200a转录水平均明显升高, LVFS、LVEF和lncRNA H19转录水平均明显降低( $P < 0.05$ ); 与心力衰竭组、阴性对照组比较, 过表达组和联合过表达组LVEDD、LVESD和TGF- $\beta$ 1、Smad3蛋白表达水平及miRNA-200a转录水平均明显降低, LVFS、LVEF和lncRNA H19转录水平均明显升高( $P < 0.05$ ); 与过表达组比较, 联合过表达组LVEDD、LVESD和TGF- $\beta$ 1、Smad3蛋白表达水平及miRNA-200a转录水平均明显升高, LVFS、LVEF均明显降低( $P < 0.05$ ), lncRNA H19转录水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。假手术组大鼠心肌组织仅有少量胶原分布, 组织细胞排列紧密无明显缝隙; 与假手术组比较, 心力衰竭组大鼠心肌组织出现大量增生的胶原, 细胞排列不均匀, CVF明显升高( $P < 0.05$ ); 与心力衰竭组、阴性对照组比较, 过表达组大鼠心肌组织胶原增生明显缓解, 细胞整齐分布, CVF明显降低( $P < 0.05$ ); 与过表达组比较, 联合过表达组大鼠心肌组织仍有大量胶原分布, 细胞间隙扩大, CVF明显升高( $P < 0.05$ )。**结论:** lncRNA H19过表达可减轻心肌纤维化和心脏损伤程度, 改善心功能, 可能与调控TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路, 抑制miRNA-200a表达有关。

**关键词** 心力衰竭; 长链非编码RNA H19; 微小RNA-200a; TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路; 心功能; 心肌纤维化

慢性心力衰竭是一种常见的心脏疾病, 往往会造造成患者心功能受损, 导致心肌纤维化<sup>[1]</sup>。心肌纤

维化是心力衰竭的重要标志之一<sup>[2]</sup>。慢性心力衰竭发病原因多种多样, 可受电解质紊乱、贫血症状、心

引用格式: 王凌燕, 曹国军, 梅洋, 等. 基于TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路探讨lncRNA H19对慢性心力衰竭大鼠的影响[J]. 康复学报, 2023, 33(6): 528-534.

WANG L Y, CAO G J, MEI Y, et al. Effect of lncRNA H19 on rats with chronic heart failure based on TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathway [J]. Rehabil Med, 2023, 33(6): 528-534.

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2023.06008

律失常等多种因素诱发<sup>[3]</sup>。目前该疾病主要通过药物缓解或外科手术进行治疗,但外科手术较为昂贵,药物治疗效果不一。近年来,心力衰竭患者数量逐步增多,开发具有针对性的治疗药物成为当前研究的重点<sup>[4]</sup>。有研究显示,微小RNA(micro RNA, miRNA)可参与包括调控心脏内稳态和病理结构重塑在内的多种生理活动<sup>[5]</sup>。在心肌损伤引发的心力衰竭过程中,miRNA-23a高表达,加速心肌细胞凋亡,加剧心力衰竭<sup>[6]</sup>;miRNA-133a则可以促进心肌组织纤维化,进一步抑制心脏功能恢复<sup>[7]</sup>;miRNA-200a在心力衰竭患者体内高表达,很可能在疾病进展中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一种长度较长、不参与编码蛋白质的RNA,可在多个层面调控生理活动,被证实参与影响多种心脏功能<sup>[9]</sup>。lncRNA H19作为常见的lncRNA,在多种心血管疾病中发挥重要作用,可减少促炎因子含量,缓解炎症反应,是治疗心脏相关疾病的重要靶点之一<sup>[10]</sup>。lncRNA H19可抑制miRNA-200a表达,在肺癌疾病中发挥重要作用<sup>[11]</sup>。本研究以心力衰竭大鼠为实验对象,探究lncRNA H19是否通过调控miRNA-200a参与影响慢性心力衰竭大鼠心功能和心肌纤维化。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

选择清洁级成年健康雄性SD大鼠60只,体重(230 $\pm$ 10)g,由河南环宇康禾生物科技有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(豫)2020-0004。大鼠自由饮水、进食,饲养室温度23~25 $^{\circ}$ C,照明以12 h/12 h明暗交替进行。本实验研究方案经湖北六七二中西医结合骨科医院实验动物伦理委员会审批通过(审批号:XZ20221019)。

### 1.2 主要实验试剂与仪器

lncRNA H19质粒、lncRNA H19阴性对照、miRNA-200a质粒均由吉玛生物科技有限公司参与设计并合成;Lipofectamine 2000转染试剂(产品批号:11668030)购于ThermoFisher公司;Masson染色试剂盒(产品批号:JA1001)购于佳维斯(武汉)生物医药有限公司;心脏彩色多普勒超声仪(江苏大为医疗有限公司,型号:DW-T6);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(产品批号:ab9485)、转化生长因子 $\beta$ 1蛋白(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)抗体(产品

批号:ab215715)、Smad同源物3(Smad3)抗体(产品批号:ab40854)购于英国Abcam公司;荧光定量PCR仪(美国ABI公司,型号:7500);凝胶成像系统[生物工程(上海)股份有限公司,型号:HE-120]。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 实验动物模型制备和分组** 采用随机数字表法将60只SD大鼠分为假手术组和模型组,分别为12只和48只。假手术组、模型组根据体质量(0.3 mL/100 g)注射1%戊巴比妥钠麻醉,固定于操作台上,腹部朝上,常规备皮。手术刀剖开胸腔,暴露心脏部位。于肺动脉和左心耳处进针穿线,深度1.5 mm。假手术组穿线后不结扎,其余4组结扎后观察到心室前壁发白,心脏跳动明显变缓即可,缝合伤口后,消毒处理。20 d后检测模型组大鼠心功能,左心室心脏射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF) $<$ 50.00%即造模成功。造模成功的模型组大鼠按随机数字表法分为心力衰竭组、lncRNA H19过表达组(过表达组)、lncRNA H19阴性对照组(阴性对照组)和lncRNA H19过表达+miRNA-200a过表达组(联合过表达组),每组12只。

**1.3.2 干预方法** 阴性对照组大鼠尾部通过静脉注射给予lncRNA H19阴性对照质粒5 mL/(kg $\cdot$ d);过表达组大鼠尾部通过静脉注射给予lncRNA H19质粒5 mL/(kg $\cdot$ d);联合过表达组大鼠尾部通过静脉注射给予lncRNA H19质粒5 mL/(kg $\cdot$ d)和miRNA-200a质粒2 mL/(kg $\cdot$ d);心力衰竭组、假手术组大鼠尾部静脉注射等剂量的生理盐水。分别于分组后第1、4、7、10、13、16天进行注射,1次/d。

### 1.4 观察指标

**1.4.1 大鼠心功能指标** 末次注射2 d后,麻醉、固定各组大鼠,采用心脏彩色多普勒超声仪检测大鼠心功能指标,主要指标如下:LVEF、左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)、左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic dimension, LVESD)、左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVEDD)。

**1.4.2 心肌组织纤维化情况观察** 心功能评估后,迅速处死各组大鼠,剖开胸腔暴露心脏,解剖获取心肌组织,部分剪碎后,液氮处理研磨至粉,冻存备用。剩余组织置于4%多聚甲醛中固定,24 h后常规脱水透明,制作石蜡切片。按照Masson染色试剂盒说明书方法进行常规染色。在Masson染色切片中,心肌细胞被染成红色,而胶原纤维被染成蓝色。每个样品选择3个视野,用Image-Pro Plus 6.0软件分析每个显微视野中胶原纤维染成蓝色的区域面积占总面积的百分比,即胶原容积分数(collagen

volume fraction, CVF)。

$$CVF = \text{心肌胶原纤维面积} / \text{所测视野面积} \times 100\%$$

**1.4.3 心肌组织 lncRNA H19、miRNA-200a 转录水平检测** 采用实时荧光定量 PCR 法检测心肌组织 lncRNA H19、miRNA-200a 转录水平。取出冻存备

用的心肌组织粉末少许,按照 TRIzol 法提取 RNA,检测 RNA 浓度,反转录至 cDNA,上机检测 lncRNA H19、miRNA-200a 的转录水平。引物序列通过软件 Primer 3.0 设计,由北京擎科生物科技有限公司合成。引物序列见表 1。

**表 1 lncRNA H19 和 miRNA-200a 引物序列**  
**Table 1 lncRNA H19 and miRNA-200a primer sequence**

基因	扩增引物序列	扩增产物大小/bp
GAPDH	上游:5'-TTGATTTTGGAGGGATCTCGCTC-3'	89
	下游:5'-GAGTCAACGGATTTGGTCGTATTG-3'	
U6	上游:5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'	113
	下游:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	
lncRNA H19	上游:5'-GTCCGGCCTTCCTGAACACCTT-3'	275
	下游:5'-GCTTCACCTCCAGAGCCGAT-3'	
miRNA-200a	上游:5'-CCTACGCCACCATTAACAAGCC-3'	194
	下游:5'-GCCGTCTAACACTGTCTGGTA-3'	

**1.4.4 心肌组织 TGF-β1、Smad3 蛋白表达水平检测** 采用 Western blot 法检测心肌组织 TGF-β1、Smad3 蛋白表达水平。取出冻存备用的心肌组织粉末少许,加入少量蛋白裂解液,充分振荡混匀,加入蛋白提取液少许,充分震荡后静置片刻,4 °C 8 000 r/min 离心 5 min,取上层清液干燥片刻后,加入上样缓冲液,混合加热变性,加入凝胶板孔道中,电泳跑胶后转膜,5% 脱脂奶粉封闭 2 h,加入一抗(GAPDH 抗体、TGF-β1 抗体、Smad3 抗体,1:1 500),4 °C 孵育过夜。弃封闭液,TBST 反复清洗 3 次。加入二抗(1:1 000),常温孵育 40 min,TBST 缓冲液反复清洗 3 次。将发光液倒于膜上,浸泡片刻,吸水纸吸净多余液体,置于 Syngene 光密度扫描系统上,进行条带灰度分析。

**1.5 统计学方法**

采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析。计量资料服从正态分布采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 5 组心功能指标比较**

与假手术组比较,其余 4 组 LVEDD、LVESD 均明显升高,LVFS、LVEF 均明显降低( $P < 0.05$ );与心力衰竭组、阴性对照组比较,过表达组 LVEDD、LVESD 均明显降低,LVFS、LVEF 均明显升高( $P < 0.05$ );与过表达组比较,联合过表达组 LVEDD、LVESD 均明显升高,LVFS、LVEF 均明显降低,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

**表 2 5 组心功能指标比较( $\bar{x} \pm s$ )**

**Table 2 Comparison of cardiac function indicators in five groups ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	<i>n</i>	LVEDD/mm	LVESD/mm	LVFS/%	LVEF/%
假手术组	12	3.52±0.26	3.29±0.37	49.63±2.63	75.52±2.62
心力衰竭组	12	6.92±0.52 <sup>1)</sup>	6.35±0.68 <sup>1)</sup>	19.63±3.26 <sup>1)</sup>	35.63±3.56 <sup>1)</sup>
阴性对照组	12	6.86±0.26 <sup>1)</sup>	6.62±0.72 <sup>1)</sup>	18.83±2.63 <sup>1)</sup>	34.79±3.25 <sup>1)</sup>
过表达组	12	4.58±0.48 <sup>1)2)3)</sup>	4.37±0.52 <sup>1)2)3)</sup>	40.52±2.62 <sup>1)2)3)</sup>	65.25±2.38 <sup>1)2)3)</sup>
联合过表达组	12	5.67±0.38 <sup>1)2)3)4)</sup>	5.32±0.23 <sup>1)2)3)4)</sup>	32.52±2.36 <sup>1)2)3)4)</sup>	53.63±2.63 <sup>1)2)3)4)</sup>

注:与假手术组比较,1)  $P < 0.05$ ;与心力衰竭组比较,2)  $P < 0.05$ ;与阴性对照组比较,3)  $P < 0.05$ ;与过表达组比较,4)  $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the sham surgery group, 1)  $P < 0.05$ ; compared with the heart failure group, 2)  $P < 0.05$ ; compared with the negative control group, 3)  $P < 0.05$ ; compared with the overexpression group, 4)  $P < 0.05$ .

## 2.2 5组心肌组织病理学变化比较

假手术组大鼠心肌组织仅有少量胶原分布,组织细胞排列紧密无明显缝隙;与假手术组比较,心力衰竭组大鼠心肌组织出现大量增生的胶原,细胞排列不均匀,CVF明显升高( $P<0.05$ );与心力衰竭

组、阴性对照组比较,过表达组大鼠心肌组织胶原增生明显缓解,细胞间整齐分布,CVF明显降低( $P<0.05$ );与过表达组比较,联合过表达组大鼠心肌组织仍有大量胶原分布,细胞间间隙扩大,CVF明显升高( $P<0.05$ )。见图1、表3。

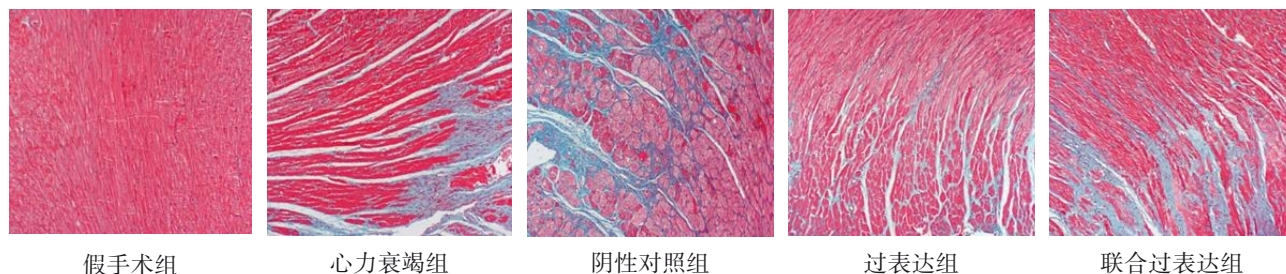


图1 5组大鼠心肌组织病理变化(×400)

Figure 1 Pathological changes of myocardial tissue in five groups (×400)

表3 5组心肌组织CVF比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Comparison of CVF of myocardial tissue in five groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	CVF/%
假手术组	12	5.25±0.62
心力衰竭组	12	36.63±3.74 <sup>1)</sup>
阴性对照组	12	37.73±3.63 <sup>1)</sup>
过表达组	12	14.52±1.63 <sup>1)2)3)</sup>
联合过表达组	12	23.32±1.74 <sup>1)2)3)4)</sup>

注:与假手术组比较,1)  $P<0.05$ ;与心力衰竭组比较,2)  $P<0.05$ ;与阴性对照组比较,3)  $P<0.05$ ;与过表达组比较,4)  $P<0.05$ 。

Note: Compared with the sham surgery group, 1)  $P<0.05$ ; compared with the heart failure group, 2)  $P<0.05$ ; compared with the negative control group, 3)  $P<0.05$ ; compared with the overexpression group, 4)  $P<0.05$ .

## 2.3 5组心肌组织lncRNA H19、miRNA-200a转录水平比较

与假手术组比较,其余4组大鼠心肌组织lncRNA H19转录水平明显降低,miRNA-200a转录水平明显升高( $P<0.05$ );与心力衰竭组、阴性对照组比较,过表达组和联合过表达组lncRNA H19转录水平明显升高,miRNA-200a转录水平明显降低( $P<0.05$ );与过表达组比较,联合过表达组大鼠心肌组织miRNA-200a转录水平明显升高( $P<0.05$ ),lncRNA H19转录水平差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表4。

表4 5组心肌组织lncRNA H19、miRNA-200a转录水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 4 Comparison of lncRNA H19 and miRNA-200a transcription level of myocardial tissue in five groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	lncRNA H19	miRNA-200a
假手术组	12	1.06±0.07	1.07±0.09
心力衰竭组	12	0.21±0.03 <sup>1)</sup>	2.36±0.21 <sup>1)</sup>
阴性对照组	12	0.23±0.05 <sup>1)</sup>	2.32±0.23 <sup>1)</sup>
过表达组	12	0.79±0.08 <sup>1)2)3)</sup>	1.33±0.15 <sup>1)2)3)</sup>
联合过表达组	12	0.74±0.05 <sup>1)2)3)</sup>	1.75±0.14 <sup>1)2)3)4)</sup>

注:与假手术组比较,1)  $P<0.05$ ;与心力衰竭组比较,2)  $P<0.05$ ;与阴性对照组比较,3)  $P<0.05$ ;与过表达组比较,4)  $P<0.05$ 。

Note: Compared with the sham surgery group, 1)  $P<0.05$ ; compared with the heart failure group, 2)  $P<0.05$ ; compared with the negative control group, 3)  $P<0.05$ ; compared with the overexpression group, 4)  $P<0.05$ .

## 2.4 5组心肌组织TGF-β1、Smad3蛋白表达水平比较

与假手术组比较,其余4组大鼠心肌组织TGF-β1、Smad3蛋白表达水平均明显升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );与心力衰竭组、阴性对照组比较,过表达组、联合过表达组大鼠心肌组织TGF-β1、Smad3蛋白表达水平均明显降低,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );与过表达组比较,联合过表达组大鼠心肌组织TGF-β1、Smad3蛋白表达水平均明显升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表5、图2。

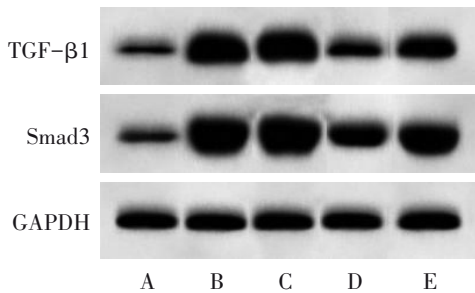
表5 5组心肌组织TGF-β1、Smad3蛋白表达水平比较(̄x±s)

**Table 5 Comparison of TGF-β1 and Smad3 protein expression level of myocardial tissue in five groups (̄x±s)**

组别	n	TGF-β1/GAPDH	Smad3/GAPDH
假手术组	12	0.37±0.12	0.41±0.11
心力衰竭组	12	1.68±0.22 <sup>1)</sup>	2.23±0.32 <sup>1)</sup>
阴性对照组	12	1.72±0.18 <sup>1)</sup>	2.31±0.26 <sup>1)</sup>
过表达组	12	0.76±0.19 <sup>1)2)3)</sup>	1.22±0.21 <sup>1)2)3)</sup>
联合过表达组	12	1.17±0.20 <sup>1)2)3)4)</sup>	1.75±0.16 <sup>1)2)3)4)</sup>

注:与假手术组比较,1) P<0.05;与心力衰竭组比较,2) P<0.05;与阴性对照组比较,3) P<0.05;与过表达组比较,4) P<0.05。

Note: Compared with the sham surgery group, 1) P<0.05; compared with the heart failure group, 2) P<0.05; compared with the negative control group, 3) P<0.05; compared with the overexpression group, 4) P<0.05.



注:A为假手术组;B为心力衰竭组;C为阴性对照组;D为过表达组;E为联合过表达组。

Note: A is the sham surgery group; B is the heart failure group; C is the negative control group; D is the overexpression group; E is the combined overexpression group.

图2 5组TGF-β1、Smad3蛋白条带图

Figure 2 Protein band figure of TGF-β1 and Smad3 in five groups

### 3 讨论

#### 3.1 lncRNA H19 过表达可降低心脏损伤程度,改善心脏功能

心肌纤维化是慢性心力衰竭的主要病理基础,心肌组织中胶原纤维的过度沉积可导致心功能障碍,甚至出现心力衰竭<sup>[12-13]</sup>。心功能和心肌纤维化程度是判断心力衰竭疾病程度的重要指标<sup>[14]</sup>。CVF是评估心肌纤维化情况的重要指标<sup>[15]</sup>。本研究心力衰竭大鼠模型心肌组织出现大量胶原增生,细胞间排列松散, CVF明显升高,出现明显的心肌纤维化病变。本研究结果显示,与心力衰竭组、阴性对

照组比较,过表达组LVEDD、LVESD均明显降低, LVFS、LVEF均明显升高;与过表达组比较,联合过表达组LVEDD、LVESD均明显升高, LVFS、LVEF均明显降低;与心力衰竭组、阴性对照组比较,过表达组大鼠心肌组织胶原增生明显缓解,细胞间整齐分布, CVF明显降低,提示lncRNA H19过表达后可减缓心肌组织内胶原增生,抑制心肌纤维化,减轻心肌损伤程度,从而改善心肌功能。因此,本研究推测lncRNA H19可调控多个靶基因的表达,在慢性心力衰竭疾病发生、发展进程中发挥重要作用<sup>[16]</sup>。与马成龙等<sup>[17]</sup>和呼静飞<sup>[18]</sup>研究结果相似。

#### 3.2 lncRNA H19 过表达改善心力衰竭可能与调控TGF-β1/Smad3信号通路、抑制miRNA-200a表达有关

本研究结果显示,与心力衰竭组、阴性对照组比较,过表达组、联合过表达组大鼠心肌组织TGF-β1、Smad3蛋白表达水平和miRNA-200a转录水平明显降低, lncRNA H19转录水平明显升高;与过表达组比较,联合过表达组大鼠心肌组织TGF-β1、Smad3蛋白表达水平和miRNA-200a转录水平明显升高,提示lncRNA H19过表达改善心力衰竭可能与调控TGF-β1/Smad3信号通路、抑制miRNA-200a表达有关。可能与以下因素有关:① TGF-β1/Smad3信号通路在调控心肌纤维化、改善心肌功能中发挥重要作用。TGF-β1/Smad3信号通路与心肌纤维化密切相关, TGF-β1是组织纤维化的基础, TGF-β1的高表达可促进胶原合成,减缓细胞外基质的降解<sup>[19]</sup>。TGF-β1可进一步上调Smad3表达,启动纤维化相关因子表达,调控纤维化过程<sup>[20]</sup>。本研究lncRNA H19过表达可降低慢性心力衰竭大鼠心肌组织中TGF-β1/Smad3信号通路相关蛋白的表达,进一步证实lncRNA H19对心肌纤维化的抑制作用。② lncRNA H19改善心力衰竭可能与调控miRNA-200a有关。有研究显示,miRNA可调节心力衰竭相关基因的表达,在心力衰竭中发挥重要作用<sup>[21]</sup>。miRNA-129、miRNA-212、miRNA-200a高表达可引发心力衰竭,造成心肌细胞过度肥大,引发左心室重塑,导致心脏功能障碍。有研究证实,miRNA-200a是lncRNA H19的靶基因<sup>[11]</sup>。本研究lncRNA H19过表达,慢性心力衰竭大鼠心肌组织miRNA-200a明显降低。因此,推测lncRNA H19可能通过调控miRNA-200a,从而改善心力衰竭。为进一步验证这种假设,本研究在lncRNA H19过表达的同时上调miRNA-200a表达,结果发现,上调miRNA-

200a可减弱lncRNA H19过表达对慢性心力衰竭大鼠心功能和心肌纤维化的缓解作用,进一步证实lncRNA H19可能通过调控miRNA-200a,影响心力衰竭进展情况。

#### 4 小 结

lncRNA H19过表达可减轻心肌纤维化和心脏损伤程度,改善心功能,可能与调控TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路、抑制miRNA-200a表达有关。

#### 参考文献

- [1] ALSUMALI A, LAUTSCH D, LIU R Z, et al. Budget impact analysis of vericiguat for the treatment of chronic heart failure with reduced ejection fraction following a worsening event [J]. *Adv Ther*, 2021, 38(5): 2631-2643.
- [2] KOLBL L, ARZT M, STADLER S, et al. Adaptive servo-ventilation in patients with chronic heart failure and sleep disordered breathing: predictors of usage [J]. *Schlaf Atmung*, 2021, 25(2): 1135-1145.
- [3] CHENG H L, WU X D, NI G H, et al. *Citri Reticulatae* Pericarpium protects against isoproterenol-induced chronic heart failure via activation of PPAR $\gamma$  [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(21): 1396.
- [4] LAM P H, PACKER M, FONAROW G C, et al. Early effects of starting doses of enalapril in patients with chronic heart failure in the SOLVD treatment trial [J]. *Am J Med*, 2020, 133(2): e25-e31.
- [5] TREIBER T, TREIBER N, MEISTER G. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(1): 5-20.
- [6] WANG L N, LI Q, DIAO J Y, et al. miR-23a is involved in myocardial ischemia/reperfusion injury by directly targeting CX43 and regulating mitophagy [J]. *Inflammation*, 2021, 44(4): 1581-1591.
- [7] DANOWSKI N, MANTHEY I, JAKOB H G, et al. Decreased expression of miR-133a but not of miR-1 is associated with signs of heart failure in patients undergoing coronary bypass surgery [J]. *Cardiology*, 2013, 125(2): 125-130.
- [8] YANG X M, CHEN G, CHEN Z X. microRNA-200a-3p is a positive regulator in cardiac hypertrophy through directly targeting WDR1 as well as modulating PTEN/PI3K/AKT/CREB/WDR1 signaling [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 74(5): 453-461.
- [9] CHEN L, YAN K P, LIU X C, et al. Valsartan regulates TGF- $\beta$ /Smads and TGF- $\beta$ /p38 pathways through lncRNA CHRF to improve doxorubicin-induced heart failure [J]. *Arch Pharm Res*, 2018, 41(1): 101-109.
- [10] HUANG Y. The novel regulatory role of lncRNA-miRNA-mRNA axis in cardiovascular diseases [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(12): 5768-5775.
- [11] ZHAO Y, FENG C J, LI Y J, et al. lncRNA H19 promotes lung cancer proliferation and metastasis by inhibiting miR-200a function [J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 460(1/2): 1-8.
- [12] BOCCIO E, HAIMOVICH A D, JACOB V, et al. Sepsis fluid metabolic compliance and its impact on outcomes of patients with congestive heart failure, end-stage renal disease or obesity [J]. *J Emerg Med*, 2021, 61(5): 466-480.
- [13] CLELAND J G F, PELLICORI P, GONZÁLEZ A. A novel treatment for heart failure targets myocardial fibrosis [J]. *Nat Med*, 2021, 27(8): 1343-1344.
- [14] 唐金莉, 李杰. 参附注射液对缺血性心脏病伴急性心力衰竭患者心功能和心肌纤维化的影响[J]. *世界中医药*, 2018, 13(9): 2186-2188, 2192.  
TANG J L, LI J. Randomized controlled trial of Shenfu injection on cardiac function and myocardial fibrosis in patients with ischemic cardiomyopathy and acute heart failure [J]. *World Chin Med*, 2018, 13(9): 2186-2188, 2192.
- [15] 陈俊文, 刘益, 钟伟宏. 西罗莫司对心肌梗死大鼠心肌纤维化的治疗作用及其机制[J]. *山东医药*, 2020, 60(16): 10-13.  
CHEN J W, LIU Y, ZHONG W H. Effect of sirolimus on myocardial fibrosis in rats with myocardial infarction via TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway [J]. *Shandong Med J*, 2020, 60(16): 10-13.
- [16] 张海涛, 林文勇, 王肖龙, 等. lncRNA与心血管疾病的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2018, 15(31): 53-55, 59.  
ZHANG H T, LIN W Y, WANG X L, et al. The research progress of lncRNA and cardiovascular diseases [J]. *China Med Her*, 2018, 15(31): 53-55, 59.
- [17] 马成龙, 刘波, 黄柯冰. lncRNA H19对脂多糖诱导的脓毒症中microRNA-107表达的影响[J]. *川北医学院学报*, 2018, 33(6): 824-827.  
MA C L, LIU B, HUANG K B. The effect of lncRNA H19 on the expression of microRNA-107 in LPS-induced sepsis [J]. *J N Sichuan Med Coll*, 2018, 33(6): 824-827.
- [18] 呼静飞. 在脓毒症中lncRNA H19的表达对炎症反应和心脏功能影响的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2019: 10-12.  
HU J F. Study on the effect of long non-coding RNA H19 expression on inflammatory response and cardiac function in sepsis [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2019: 10-12.
- [19] 应充慧, 朱子诚, 孙思勤, 等. TGF $\beta$ 1-Sp1信号通路靶向调控豚鼠巩膜成纤维细胞分泌与合成胶原表达的研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(5): 677-681.  
YING C H, ZHU Z C, SUN S Q, et al. TGF $\beta$ 1-Sp1 signaling pathway targets regulating secretion and synthetic collagen expression in guinea pig scleral fibroblasts [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2020, 55(5): 677-681.
- [20] LIU Z Y, PAN H W, CAO Y, et al. Downregulated microRNA-330 suppresses left ventricular remodeling via the TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathway by targeting SRY in mice with myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7): 11440-11450.
- [21] 肖乾凤, 谭茗月. 微RNA在心力衰竭中的作用[J]. *医学综述*, 2014, 20(7): 1193-1196.  
XIAO Q F, TAN M Y. The role of miRNA in heart failure [J]. *Med Recapitul*, 2014, 20(7): 1193-1196.

## Effect of lncRNA H19 on Rats with Chronic Heart Failure Based on TGF- $\beta$ 1/Smad3 Signaling Pathway

WANG Lingyan\*, CAO Guojun, MEI Yang, ZHANG Bin, ZHOU Shijing

Hubei 672 Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Orthopaedic Hospital, Wuhan, Hubei 430079, China

\*Correspondence: WANG Lingyan, E-mail: j8y190@163.com

**ABSTRACT Objective:** To explore the effect of long non-coding RNA H19 (lncRNA H19) and microRNA (miRNA)-200a on cardiac function and myocardial fibrosis in rats with chronic heart failure based on transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)/Smad homolog 3 (Smad3) signaling pathway. **Methods:** A total of 60 clean grade adult healthy male SD rats were randomly divided into sham surgery group and model group. The model group were selected to construct rats model of chronic heart failure by ligation. After successful modeling, the model rats were randomly divided into heart failure group, lncRNA H19 negative control group (negative control group), lncRNA H19 overexpression group (overexpression group) and lncRNA H19 overexpression+miRNA-200a overexpression group (combined overexpression group), with 12 rats in each group. At the 1st, 4th, 7th, 10th, 13th and 16th day, the negative control group, the overexpression group and the combined overexpression group were injected intravenously with lncRNA H19 negative control plasmid at 5 mL/(kg·d), lncRNA H19 plasmid at 5 mL/(kg·d), lncRNA H19 plasmid at 5 mL/(kg·d) and miRNA-200a plasmid at 2 mL/(kg·d) in the tails respectively; the heart failure group and the sham surgery group were only injected with equal dose of normal saline, once a day. Two days after the last injection, color Doppler ultrasound was used to detect cardiac function indexes [left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular fractional shortening (LVFS), left ventricular end-systolic dimension (LVESD), left ventricular end-diastolic dimension (LVEDD)]; Masson staining was used to detect myocardial fibrosis and collagen volume fraction (CVF); real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the transcription level of lncRNA H19 and miRNA-200a in myocardial tissue of rats; Western blot method was used to detect the protein expression level of TGF- $\beta$ 1 and Smad3 in myocardial tissue of rats. **Results:** Compared with sham surgery group, the protein expression level of LVEDD, LVESD, TGF- $\beta$ 1, Smad3 and transcription level of miRNA-200a in the other four groups significantly increased, while the protein expression level of LVFS, LVEF and transcription level of lncRNA H19 significantly decreased ( $P<0.05$ ); compared with the heart failure group and the negative control group, the protein expression level of LVEDD, LVESD, TGF- $\beta$ 1, Smad3 and transcription level of miRNA-200a in the overexpression group and the combined overexpression group significantly decreased, while the protein expression level of LVFS, LVEF and transcription level of lncRNA H19 significantly increased ( $P<0.05$ ); compared with the overexpression group, the protein expression level of LVEDD, LVESD, TGF- $\beta$ 1, Smad3 and transcription level of miRNA-200a in the combined overexpression group significantly increased, while LVFS and LVEF significantly decreased ( $P<0.05$ ), and the transcription level of lncRNA H19 was not statistically different ( $P>0.05$ ). In the sham surgery group, only a small amount of collagen was distributed in the myocardium, and the tissue cells were closely arranged without obvious gaps; compared with sham surgery group, there was a large amount of collagen hyperplasia in the myocardial tissue of rats in the heart failure group, the cell arrangement was not uniform, and CVF increased significantly ( $P<0.05$ ); compared with the heart failure group and the negative control group, the myocardial collagen proliferation in the overexpression group relieved significantly, the cells were neatly distributed, and the CVF decreased significantly ( $P<0.05$ ); compared with the overexpression group, there was still a large amount of collagen distribution in the myocardial tissue of rats in the combined overexpression group, the intercellular space was enlarged, and the CVF increased significantly ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Overexpression of lncRNA H19 can reduce the extent of myocardial fibrosis and cardiac injury and improve heart function, which may be related to the regulation of TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathway and the inhibition of miRNA-200a expression.

**KEY WORDS** heart failure; long non-coding RNA H19; microRNA-200a; TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathway; heart function; myocardial fibrosis

**DOI:**10.3724/SP.J.1329.2023.06008