

· 临床研究 ·

风湿性二尖瓣疾病合并心房颤动患者心房纤维化相关微小RNA-647及预测靶基因研究

韩丹 罗超迪 闫炆

【摘要】目的:明确风湿性二尖瓣疾病合并心房颤动(房颤)患者心房组织的主要病理变化,生物信息学分析并筛选与风湿性二尖瓣疾病房颤患者心房纤维化相关的微小RNA(miRNA)及其靶基因。**方法:**收集在西安交通大学第一附属医院行心脏外科手术的30例风湿性二尖瓣疾病患者(窦性心律组10例,房颤组20例)的临床资料及心房样本。苏木精-伊红染色、Masson染色、免疫组织化学染色后观察心房组织病理变化;实时定量聚合酶链反应及Western blot法检测纤维化相关蛋白和通路在心房组织中的表达;生物信息学分析并筛选出与风湿性二尖瓣疾病房颤发病机制相关的miR-647及其预测靶基因PRKCA;进一步应用双荧光素酶报告基因确定miR-647的靶基因为PRKCA。**结果:**相较于窦性心律组患者,房颤组患者左房组织具有典型的心房肌肥大、间质纤维化、心房肌细胞坏死等病理改变;房颤组患者左房纤维化蛋白及通路表达水平显著高于窦性心律组(P 均 <0.05);生物信息学筛选出风湿性二尖瓣疾病房颤相关miR-647及其纤维化相关的下游靶基因PRKCA;房颤组左房组织中miR-647明显下调,PRKCA表达则明显升高(P 均 <0.05);双荧光素酶报告基因实验验证miR-647对靶基因PRKCA具有明显的抑制作用($P<0.05$)。**结论:**miR-647靶向作用于PRKCA基因,与风湿性二尖瓣疾病房颤患者的心房纤维化有关。

【关键词】 心房颤动;心房纤维化;生物信息学;微小RNA-647;PRKCA基因

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2022.04.010

Atrial fibrosis-related miR-647 and its predictive target genes in patients with rheumatic mitral valve disease and atrial fibrillation HAN Dan¹, LUO Chaodi², YAN Yang¹. 1. Department of Cardiovascular Surgery, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061; 2. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

【Abstract】 Objective: To identify the main pathological changes of atrial tissue in patients with rheumatic mitral valve disease (RMVD) and atrial fibrillation (AF), and to analyze and screen miRNAs and their target genes associated with atrial fibrosis in patients with rheumatic mitral valve disease and atrial fibrillation. **Methods:** The clinical data and atrial samples of 30 patients with rheumatic mitral valve disease (10 in the sinus rhythm group and 20 in the atrial fibrillation group) who underwent cardiac surgery in the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University were collected. Hematoxylin-eosin staining, Masson staining and immunohistochemical staining were used to observe the pathological changes of atrial tissue. Real-time quantitative polymerase chain reaction and western blot were used to detect the expression levels of fibrosis-related proteins and pathways in atrial tissue. MiR-647 and its predicted target gene PRKCA related to the pathogenesis of rheumatic mitral valve disease atrial fibrillation were screened out by bioinformatics analysis. The dual luciferase reporter gene was further used to determine the target gene of miR-647 as PRKCA. **Results:** Compared with the sinus rhythm group, the left atrial tissue of the AF group had typical pathological changes such as atrial muscle hypertrophy,

基金项目:陕西省自然科学基金研究计划(2021JQ-394)

作者单位:710061 西安交通大学第一附属医院心血管外科(韩丹,闫炆);710061 西安交通大学第一附属医院心血管内科(罗超迪)

通信作者:闫炆, E-mail: yyang376@126.com

interstitial fibrosis, atrial myocyte necrosis, and the expression levels of left atrial fibrosis proteins and pathways were significantly increased in the AF group (all $P < 0.05$). Bioinformatics screened the rheumatic mitral valve disease atrial fibrillation-related miR-647 and its fibrosis-related downstream target gene *PRKCA*. MiR-647 was significantly down-regulated in the left atrial tissue of the AF group, while the expression of *PRKCA* was significantly increased (all $P < 0.05$). The dual-luciferase reporter gene experiment verified that miR-647 had a significant inhibitory effect on the target gene *PRKCA* ($P < 0.05$). **Conclusion:** MiR-647 targets the *PRKCA* and is associated with atrial fibrosis in patients with rheumatic mitral valve disease atrial fibrillation.

【Keywords】 Atrial fibrillation; Atrial fibrosis; Bioinformatics; MiR-647; *PRKCA* gene

心房颤动(房颤)与心房电重构和结构重构有关,心房结构重构的重要病理基础是间质纤维化^[1]。微小 RNA (miRNA) 是基因转录后调控的重要分子,在多种疾病的发病中起关键作用^[2]。研究发现,miRNA 参与调节心脏重构,尤其在房颤心房纤维化过程中发挥重要作用^[3]。大多数房颤相关 miRNA 如 miR-26、miR-29、miR-133、miR-590 等在心房组织中表达下调,活化相关通路,促进心房肌间质发生纤维化^[4-6]。本研究旨在明确有单纯二尖瓣病变的风湿性心脏病(风湿性二尖瓣疾病)患者心房组织的主要病理变化,并通过生物信息学分析筛选与风湿性二尖瓣疾病房颤心房纤维化相关的 miRNA 及其靶基因。

1 对象与方法

1.1 研究对象

纳入 2019 年 1 月至 2021 年 1 月于西安交通大学第一附属医院就诊的 30 例风湿性二尖瓣疾病患者,根据患者心电图结果,分为窦性心律组 10 例,房颤组 20 例。所有患者均在我院心脏外科进行单纯二尖瓣瓣膜置换手术及房颤迷宫手术,术中取左心耳组织。记录患者的临床资料,术中收集的心耳组织标本用于病理学、分子生物学检测及生物信息学分析。本研究经西安交通大学第一附属医院伦理委员会批准,批件号:2021 伦审科字第(025)号(No.XJTU1AF2021LSK-025),所有入选者均签署知情同意书。

1.2 苏木精-伊红染色

将新鲜左心耳组织于 4% 多聚甲醛中固定,梯度乙醇脱水,脱水后浸泡于二甲苯中进行透明化处理,石蜡包埋、切片、烘干、脱蜡、脱水,苏木素-伊红(HE)染色后脱水、封片。显微镜下观察心房组织的心房肌结构、脂肪浸润等现象。

1.3 Masson 染色

将脱水后的左心耳组织石蜡切片依次放入铁苏木素、丽春红、磷钼酸、苯胺蓝中染色,冰醋酸冲洗,梯度酒精脱水,二甲苯浸泡,中性树脂封片。显微镜下观察心房组织的纤维化程度,ImageJ 软件计算间质纤维化程度。

1.4 免疫组织化学染色

将左心耳石蜡切片依次放入二甲苯和梯度酒精中脱蜡, H_2O_2 浸泡,柠檬酸缓冲液蒸煮, PBS 冲洗, BSA 封闭,加入 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)一抗于 4 °C 过夜,冲洗后加入二抗于 37 °C 孵育 0.5 h,冲洗后依次加入链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(SABC)、显色剂,苏木精复染,脱水、封片。显微镜下观察 α -SMA 表达情况,ImageJ 软件计算 α -SMA 相对表达量。

1.5 实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)

Trizol 法提取左心耳组织中总 RNA,纯化并定量。反转录获取 cDNA。PCR 反应体系:2 μ L cDNA, 1 μ L 上游引物, 1 μ L 下游引物, 10 μ L SYBR Green Master Mix, 6 μ L dd H_2O 。PCR 反应条件:95 °C 10 min ;95 °C 15 s, 60 °C 1 min,共 40 个循环;95 °C 15 s, 60 °C 15 s, 95 °C 15 s。 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算 mRNA 的相对表达水平。qRT-PCR 中使用的引物序列见表 1。

1.6 Western blot 检测

RIPA 裂解液提取左心耳组织总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,取等量蛋白进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转移至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶封闭,分别加入 I 型胶原(Collagen I)、III 型胶原(Collagen III)、 α -SMA、蛋白激酶 C α (PRKCA)、转化生长因子 β 1(TGF β 1)、转化生长因子 β II 型受体(TGF β RII)、磷酸化

Smad2 (P-Smad2)、磷酸化 Smad3 (P-Smad3)、Smad2、Smad3、 β -actin 的一抗, 4 °C 过夜, 洗膜后

加入对应的二抗, 室温孵育 1 h。ECL 法曝光, 成像, Quantity One 分析软件测定目的蛋白相对表达水平。

表1 qRT-PCR中使用的引物序列

基因	引物序列
<i>GAPDH</i>	上游引物 5'-TCAAGAAGGTGGTGAAGCAGG-3'
	下游引物 5'-GCGTCAAAGGTGGAGGAGTG-3'
<i>miR-647</i>	上游引物 5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGGAAGGAAG-3'
	下游引物 5'-ACACTCCAGCTGGGGTGGCTGCACTCACT-3'
<i>U6</i>	上游引物 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'
	下游引物 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'
<i>URP</i>	下游引物 5'-TGGTGTCTGGAGTCG-3'
<i>PRKCA</i>	上游引物 5'-CTGTGGGTCACTGCTCTATGGA-3'
	下游引物 5'-GGATGGTTTTGGTTTTTTGCTT-3'
<i>TGFβ1</i>	上游引物 5'-CAGCAACAATTCCTGGCGATACCT-3'
	下游引物 5'-CGCTAAGGCGAAAGCCCTCAAT-3'
<i>TGFβR II</i>	上游引物 5'-AAAAAAACAGTGGGAAGACC-3'
	下游引物 5'-AACTCCATAAATACGGGCAT-3'
<i>Smad2</i>	上游引物 5'-GTCTCCAGGTATCCCATCG-3'
	下游引物 5'-TTAGGATCTCGGTGTGTCGG-3'
<i>Smad3</i>	上游引物 5'-ACGACTACAGCCATTCCATCCC-3'
	下游引物 5'-CATCTGGTGGTCACTGGTTTCTC-3'
<i>COL1A1</i>	上游引物 5'-AAAGATGGACTCAACGGTCTC-3'
	下游引物 5'-ACCAGCTTCACCAGGAGATC-3'
<i>COL3A1</i>	上游引物 5'-AAAAGGGGAGCTGGCTACTT-3'
	下游引物 5'-GAATTTCTGGGTGGGGCAG-3'
<i>α-SMA</i>	上游引物 5'-TCATGGTCTGGTATGGGTCAG-3'
	下游引物 5'-CGTTGTAGAAGGTGTGGTGC-3'

注: PRKCA为蛋白激酶C α ; TGF β 1为转化生长因子 β 1; TGF β R II为转化生长因子 β II型受体; COL1A1为 I型胶原 α 1链; COL3A1为 III型胶原 α 1链; α -SMA为 α -平滑肌肌动蛋白

1.7 双荧光素酶报告基因实验

分别构建与 miR-647 结合的 *PRKCA* 基因野生型 3'UTR 区目的质粒 (*PRKCA*-wt) 及 *PRKCA* 基因突变型 3'UTR 区目的质粒 (*PRKCA*-mut), miR-647 拟似物 (miR-647) 及阴性对照拟似物 (NC mimics)。将 10 μ L DMEM 与 0.16 μ g *PRKCA*-wt 或 *PRKCA*-mut 目的质粒及 5 pmol/L miR-647 或 NC mimics 充分混匀后 (溶液 A) 室温放置, 之后将 10 μ L DMEM 与 0.3 μ L 的转染试剂 (浓度为 0.8 mg/mL) 充分混匀后 (溶液 B) 室温放置 5 min。

将溶液 A 与溶液 B 充分混匀后加入 293T 细胞中, 于 37 °C, 5%CO₂ 培养箱中培养。转染 6 h 后换取新鲜培养基, 转染 48 h 后收集细胞, 使用 Promega Dual-Luciferase System 试剂盒进行检测。将细胞裂解液于 4 °C, 12 000 转 /min 离心 10 min, 取上清; 96 孔板中加入 100 μ L Luciferase Assay Reagent II 工作液与 20 μ L 细胞裂解液, 混匀并测定记录萤火虫荧光素酶值, 此值为内参值。上述 96 孔板中继续加入 100 μ L Stop & Glo[®] Reagent, 混匀并测定记录海肾荧光素酶值, 此即为报告基因发光值。

1.8 统计学分析

数据采用 Prism 7.0 统计软件进行分析。计量资料以均数 ± 标准差表示, 两组间比较采用 Student's *t* 检验。计数资料组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组临床基线资料比较

2 组患者在性别构成、纽约心脏病协会 (NYHA) 心功能分级、收缩压、舒张压、左室射血分数 (LVEF)、右心房直径 (RAD) 等的差异无统计学意义。房颤组的年龄、房颤持续时间、左房直径 (LAD) 显著高于窦性心律组 (P 均 < 0.01), 见表 2。

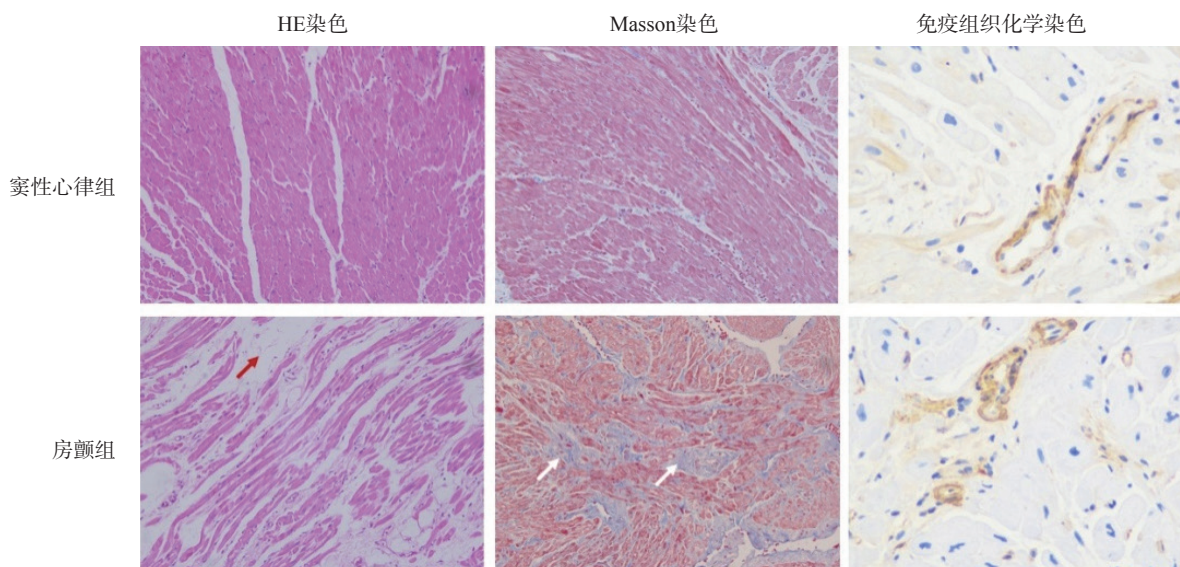
2.2 2组患者左心房组织形态学比较

HE 染色显示, 窦性心律组心房肌组织排列整齐, 脂肪浸润少, 房颤组心房肌组织结构破坏、细胞间脂肪浸润现象更明显。Masson 染色显示, 窦性心律组心房肌组织间质纤维化程度轻, 胶原容积分数 (CVF) 为 11.75 ± 1.54 , 房颤组心房肌组织间质纤维化程度高, CVF 为 33.52 ± 1.41 , 2 组 CVF 比较有显著性差异 ($P < 0.01$)。免疫组织化学染色显示房颤组心房肌组织纤维化表型相关蛋白

α -SMA 的平均光密度 (AOD) 显著高于窦性心律组 (0.39 ± 0.01 对 0.23 ± 0.01 , $P < 0.01$)。见图 1。

表2 窦性心律组与房颤组临床基线资料比较

组别	窦性心律组 (<i>n</i> = 10)	房颤组 (<i>n</i> = 20)	<i>P</i>
年龄/岁	52.1 ± 2.5	63.8 ± 5.6	0.02
女性/例 (%)	3 (30.0)	6 (30.0)	0.24
心功能分级/例 (%)			0.75
I ~ II 级	1 (10.0)	1 (5.0)	
III 级	7 (70.0)	15 (75.0)	
IV 级	2 (20.0)	4 (20.0)	
房颤持续时间/年	0	4.7 ± 3.2	< 0.01
血压			
收缩压/mmHg	132.4 ± 13.1	141.6 ± 14.8	0.54
舒张压/mmHg	81.5 ± 9.8	84.6 ± 10.9	0.29
LVEF/%	61.8 ± 8.2	59.4 ± 6.9	0.15
LAD/mm	47.5 ± 7.3	53.9 ± 6.4	< 0.01
RAD/mm	35.6 ± 2.8	36.7 ± 5.2	0.47



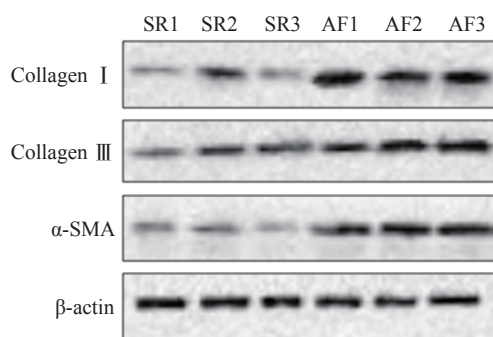
注: HE染色中红色箭头示脂肪浸润; Masson染色中白色箭头示间质纤维化; 免疫组织化学染色中棕色示 α -SMA

图1 2组患者左心房组织形态学比较 ($\times 200$)

2.3 2组纤维化相关基因表达水平比较

房颤组左心房组织 Collagen I、Collagen III、

α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达水平显著高于窦性心律组 (P 均 < 0.01)。见图 2、表 3。



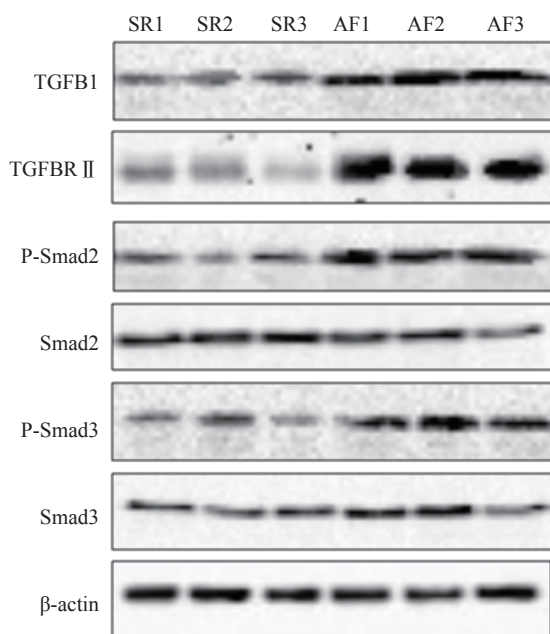
注: SR为窦性心律组, AF为房颤组

图2 2组患者左心房纤维化相关蛋白表达情况

表3 2组患者左心房纤维化相关基因mRNA及蛋白表达水平比较

组别	Collagen I		Collagen III		α-SMA	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
窦性心律组	1.11 ± 0.09	0.15 ± 0.01	0.93 ± 0.06	0.27 ± 0.01	0.92 ± 0.08	0.25 ± 0.01
房颤组	2.59 ± 0.15 ⁽¹⁾	0.74 ± 0.04 ⁽¹⁾	1.76 ± 0.11 ⁽¹⁾	0.61 ± 0.01 ⁽¹⁾	2.18 ± 0.24 ⁽¹⁾	0.61 ± 0.04 ⁽¹⁾

注: 与窦律组比较, ⁽¹⁾P<0.01



注: SR为窦性心律组, AF为房颤组

图3 2组患者左心房TGFβ1/Smad纤维化通路蛋白表达情况

步通过靶点预测软件 TargetScan 和 Tarbase 数据库分析可能与房颤相关的靶基因。筛选到的靶基因有 10 个, 对应的 miRNA 为 19 个。既往文献调查显示 *PRKCA* 基因与组织纤维化进程有关, 且未有该基因在房颤相关研究中的报道, *PRKCA* 对应的

2.4 2组TGFβ1/Smad纤维化相关通路表达水平比较

房颤组左心房组织 TGFβ1/Smad 纤维化通路中 *TGFβ1*、*TGFβR II*、*Smad2*、*Smad3* 的 mRNA 及蛋白表达水平显著高于窦性心律组 (P 均<0.01)。见图 3、表 5。

2.5 差异表达的miRNA及其靶基因预测

前述结果提示心房纤维化是风湿性二尖瓣疾病房颤发病的主要病理改变。为了研究 miRNA 及其靶基因在房颤心房纤维化中的作用, 本研究进一

miR-647 的预测分值较高 (91 分), 且 qRT-PCR 及 Western blot 验证房颤患者心房组织中 miR-647 及 *PRKCA* 的表达符合理论上应有的变化趋势, 说明 *PRKCA* 基因及其对应的 miR-647 与风湿性二尖瓣疾病房颤发病机制相关。见图 4、表 5。

2.6 双荧光素酶报告基因实验验证miR-647靶向作用于PRKCA基因

双荧光素酶报告基因实验结果显示, NC mimics+*PRKCA*-mut 的相对荧光强度为 1.00 ± 0.02 , miR-647+*PRKCA*-mut 的相对荧光强度为 1.01 ± 0.02 , NC mimics+*PRKCA*-wt 的相对荧光强度为 1.00 ± 0.02 , miR-647+*PRKCA*-wt 的相对荧光强度为 0.64 ± 0.01 , miR-647 显著下调 *PRKCA*-wt 的荧光强度 ($P<0.01$), 提示 miR-647 与 *PRKCA*-wt 相互结合, miR-647 可靶向抑制 *PRKCA* 的表达, 其结合位点如图 5 所示。

3 讨论

在房颤心房重构过程中, 心房组织表现为间质纤维化、炎性细胞浸润、心房肌细胞坏死、脂肪浸润、淀粉样变性和心房肌细胞肥大等, 对这些患者进行早期干预, 可延缓纤维化进展, 减轻心房和心室结构重构, 对房颤治疗起积极作用^[7]。Haemers 等^[8]研究发现, 多数房颤患者出现心外膜下脂肪组

表4 2组患者左心房TGFβ1/Smad纤维化通路基因mRNA及蛋白表达水平比较

组别	TGFβ1		TGFβR II		Smad2		Smad3	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
窦性心律组	1.25±0.16	0.23±0.01	1.02±0.17	0.27±0.01	1.02±0.05	0.21±0.01	0.94±0.03	0.28±0.01
房颤组	2.10±0.12 ⁽¹⁾	0.40±0.03 ⁽¹⁾	1.79±0.27 ⁽¹⁾	0.55±0.02 ⁽¹⁾	2.05±0.05 ⁽¹⁾	0.56±0.02 ⁽¹⁾	1.90±0.02 ⁽¹⁾	0.57±0.02 ⁽¹⁾

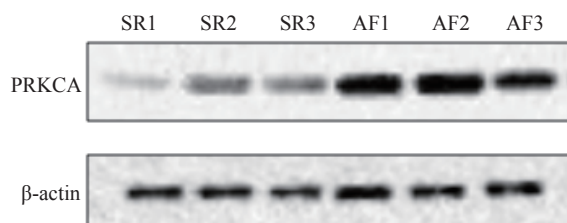
注：与窦性心律组比较，⁽¹⁾P<0.01

图4 2组PRKCA蛋白表达情况

表5 2组左心房组织PRKCA及miR-647表达水平比较

组别	miR-647	PRKCA	
		mRNA	蛋白
窦性心律组	3.47±1.24	0.62±0.17	0.17±0.01
房颤组	0.76±0.19 ⁽¹⁾	1.54±0.52 ⁽¹⁾	0.99±0.06 ⁽¹⁾

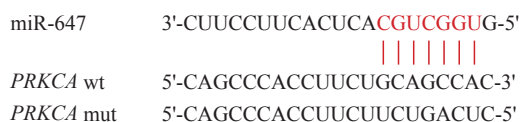
注：与窦性心律组比较，⁽¹⁾P<0.01

图5 miR-647与PRKCA作用靶点示意图

组织浸润，其中间质纤维化和脂肪浸润在持续性房颤患者心房组织中最为常见。本研究对风湿性二尖瓣疾病患者心房组织样本进行HE和Masson染色，结果显示房颤患者的左心房组织中可见典型的心房肌肥大、脂肪浸润、心房肌细胞坏死以及大量的间质纤维化等病理改变，与既往研究结果一致，证实左心房组织纤维化是风湿性二尖瓣病房颤发病的重要病理基础。

房颤心房纤维化的分子机制复杂，TGFβ1/Smad信号通路活化、Collagen I和III的表达和沉积、纤维化表型相关α-SMA的表达在房颤心房纤维化中发挥重要作用^[9]。本研究在风湿性二尖瓣病房颤患者的左心房组织中发现，与TGFβ1/Smad信号通路相关的TGFβ1、TGFβR II、

P-Smad2、P-Smad3表达水平升高，纤维化相关基因Collagen I、Collagen III、α-SMA的表达水平也显著升高，这些纤维化相关的通路及基因激活后促进了房颤的发生发展。

蛋白激酶C（PKC）作为G蛋白耦联信号转导通路的关键酶，在细胞内信号转导过程中发挥重要作用，且与多种离子通道的表达和功能有密切联系^[10]。蛋白激酶Cα（PKCα）是PKC的一种亚型，在人类基因组中由PRKCA基因编码，参与调控机体多种生理功能，包括细胞增殖、凋亡、分化、迁移，并且在心律失常、心肌梗死、心力衰竭、高血压等多种心脏疾病中发挥重要作用^[11]。Li等^[12]研究人心房肌组织PRKCA突变与心脏疾病的关系，结果发现携带rs9909004等位基因突变影响PRKCA在心脏中的表达，且与心力衰竭的发生和预后密切相关，可能影响心力衰竭的治疗效果^[13]。既往研究表明，心房肌肥大时PKCα表达水平明显上调，且PRKCA基因活化可引起QRS间期延长，说明PKCα可能同时参与心脏的结构重构和电重构。

研究发现，对miRNA进行检测可能会发现新的发病机制及潜在治疗靶点。本研究通过对风湿性二尖瓣疾病窦性心律及房颤患者进行生物信息学预测分析，筛选出与风湿性二尖瓣病房颤发病相关的miR-647及其靶基因PRKCA进行研究。通过回顾文献，发现关于miR-647的报道仅限于肿瘤研究。Rawlings-Goss等^[14]采用全基因组测序法对14个人群（包括欧洲、亚洲和非洲）中69个不相关个体的1524个miRNA进行研究，确定了7个与肿瘤生物标志物或诊断相关的miRNA，其中包括miR-647。Liu等^[15]研究结直肠癌中与细胞增殖和迁移相关的miRNA，结果发现miR-647和miR-1914表达升高，抑制miR-647及miR-1914可以抑制结直肠癌细胞的增殖和迁移能力。此外，miR-647在前列腺癌复发、卵巢癌预后中起重要作用^[16-17]。

既往研究显示 *PRKCA* 基因与组织纤维化进程有关, 但尚无该基因与房颤相关的研究报道。本研究发现房颤患者心房组织中 miR-647 及 *PRKCA* 的表达符合理论上应有的变化趋势, 故选择 miR-647 及 *PRKCA* 作为研究对象。

本研究明确了心房纤维化是风湿性二尖瓣疾病合并房颤患者心房组织的主要病理变化, 并对风湿性二尖瓣疾病房颤病理状态下 miR-647 及 *PRKCA* 的表达情况及靶向作用关系作进行初步分析, 发现 miR-647 靶向作用于 *PRKCA* 基因, 与房颤心房纤维化相关。miR-647 及 *PRKCA* 调控心房纤维化的具体机制有待进一步研究探索。

参 考 文 献

- [1] Lau DH, Linz D, Sanders P. New findings in atrial fibrillation mechanisms[J]. Card Electrophysiol Clin, 2019, 11(4):563-571.
- [2] Chen L, Heikkinen L, Wang C, et al. Trends in the development of miRNA bioinformatics tools[J]. Brief Bioinform, 2019, 20(5):1836-1852.
- [3] Komal S, Yin JJ, Wang SH, et al. MicroRNAs: emerging biomarkers for atrial fibrillation[J]. J Cardiol, 2019, 74(6):475-482.
- [4] Luo X, Pan Z, Shan H, et al. MicroRNA-26 governs profibrillatory inward-rectifier Potassium current changes in atrial fibrillation[J]. J Clin Invest, 2013, 123(5):1939-1951.
- [5] Van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(35):13027-13032.
- [6] Shan H, Zhang Y, Lu Y, et al. Downregulation of miR-133 and miR-590 contributes to nicotine-induced atrial remodelling in canines[J]. Cardiovasc Res, 2009, 83(3):465-472.
- [7] Sohns C, Marrouche NF. Atrial fibrillation and cardiac fibrosis[J]. Eur Heart J, 2020, 41(10):1123-1131.
- [8] Haemers P, Hamdi H, Guedj K, et al. Atrial fibrillation is associated with the fibrotic remodelling of adipose tissue in the subepicardium of human and sheep atria[J]. Eur Heart J, 2017, 38(1):53-61.
- [9] Wijesurendra RS, Casadei B. Mechanisms of atrial fibrillation[J]. Heart, 2019, 105(24):1860-1867.
- [10] 范学慧, 李涛, 毛亮, 等. 人心房肌蛋白激酶C表达下调参与心房颤动发病机制[J]. 泸州医学院学报, 2014(1):42-46.
- [11] Haddad G, Coleman BR, Zhao A, et al. Regulation of atrial contraction by PKA and PKC during development and regression of eccentric cardiac hypertrophy[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 288(2):H695-H704.
- [12] Li L, Zhang L, Binkley PF, et al. Regulatory variants modulate protein kinase C α (PRKCA) gene expression in human heart[J]. Pharm Res, 2017, 34(8):1648-1657.
- [13] Niemeyer A, Rinne A, Kienitz MC. Receptor-specific regulation of atrial GIRK Channel activity by different Ca^{2+} -dependent PKC isoforms[J]. Cell Signal, 2019, 64:109418.
- [14] Rawlings-Goss RA, Campbell MC, Tishkoff SA. Global population-specific variation in miRNA associated with cancer risk and clinical biomarkers[J]. BMC Med Genomics, 2014, 7:53.
- [15] Liu S, Qu D, Li W, et al. miR-647 and miR-1914 promote cancer progression equivalently by downregulating nuclear factor IX in colorectal cancer[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(6):8189-8199.
- [16] Kim YW, Kim EY, Jeon D, et al. Differential microRNA expression signatures and cell type-specific association with Taxol resistance in ovarian cancer cells[J]. Drug Des Devel Ther, 2014, 8:293-314.
- [17] Long Q, Johnson BA, Osunkoya AO, et al. Protein-coding and microRNA biomarkers of recurrence of prostate cancer following radical prostatectomy[J]. Am J Pathol, 2011, 179(1):46-54.

(收稿:2021-05-10 修回:2022-06-05)

(本文编辑:胡晓静)