

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.21.004

miR-155 下调心肌细胞 ATR1 $\alpha$  表达改善心肌细胞肥大\*杨勇<sup>1</sup>,周勇<sup>2 $\Delta$</sup> ,曹政<sup>1</sup>,吴瑞霞<sup>1</sup>,佟新竹<sup>1</sup>,谢华强<sup>1</sup>

(湖北医药学院附属十堰市太和医院:1.心血管内科;2.肿瘤内科 442000)

**[摘要]** **目的** 研究微小 RNA(miR)-155 对心肌细胞肥大的影响,以及血管紧张素 II(Ang II)受体 1 $\alpha$  亚型(angiotensin II receptor subtype 1 $\alpha$ , ATR1 $\alpha$ )在其中的作用。**方法** Ang II 诱导体外培养大鼠心肌细胞 H9C2(2-1)肥大,将 miR-155 模拟物(mimics)和 miR-155 抑制物(inhibitors)转染入心肌细胞。测量心肌细胞表面积。实验分为对照组、Ang II 组、模拟物组、miR-155 抑制物组、Ang II 加模拟物组、Ang II 加抑制物组。实时荧光定量 PCR 检测心肌细胞 miR-155 的表达。逆转录 PCR 法检测心房钠尿肽(ANP)、 $\beta$ -肌球蛋白重链( $\beta$ -MHC)、ATR1 $\alpha$  mRNA 表达水平。Western blot 法检测 ATR1 $\alpha$  蛋白表达水平。**结果** 与 Ang II 组比较,Ang II 加模拟物组处理可降低心肌细胞 ANP、 $\beta$ -MHC mRNA 及 ATR1 $\alpha$  mRNA 和蛋白表达水平( $P < 0.05$ ),心肌细胞表面积降低( $P < 0.05$ );Ang II 加抑制物组处理 ATR1 $\alpha$  mRNA 和蛋白表达水平增加( $P < 0.05$ ),但 ANP、 $\beta$ -MHC mRNA 表达水平及心肌细胞表面积改变差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),仅 miR-155 mimics 或 miR-155 inhibitors 处理各项指标均改变差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** miR-155 过表达抑制心肌细胞肥大;ATR1 $\alpha$  可能为其负性调控作用靶点。

**[关键词]** 微 RNAs;基因疗法;受体,血管紧张素,1 型;心肌肥大**[中图分类号]** R541.3**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)21-2890-05miR-155 down-regulate cardiomyocyte's ATR1 $\alpha$  receptor to inhibit cardiac hypertrophy\*Yang Yong<sup>1</sup>, Zhou Yong<sup>2 $\Delta$</sup> , Cao Zheng<sup>1</sup>, Wu Ruixia<sup>1</sup>, Tong Xinzhu<sup>1</sup>, Xie Huaqiang<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiology; 2. Department of Medical Oncology, the Affiliated Taihe Hospital of Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effects of microRNA-155(miR-155) on angiotensin II receptor subtype 1 $\alpha$ (ATR1 $\alpha$ ) and it's effects on cardiomyocyte hypertrophy. **Methods** Angiotensin II was used to induce cultured rat myocardial cells H9C2(2-1) to be cardiac hypertrophy. miR-155 mimics (mimics) and miR-155 inhibitor (inhibitors) were transfected into myocardial cells by Liposome transfection method. Myocardial cell surface were measured through Leica phase contrast microscopy image analysis software. There were four groups, including control group, Ang II group, mimics group, miR-155 inhibitors group, Ang II + mimics group, Ang II + inhibitors group. Real-time PCR was used to detect the expression of miR-155 myocardial cells. RT-PCR were used to detect atrial natriuretic peptide (ANP),  $\beta$ -myosin heavy chain ( $\beta$ -MHC) and ATR1 $\alpha$  mRNA expression levels. Western blot assay was used to detect the expression of ATR1 $\alpha$  protein. **Results** Compared with Ang II group, the expression of ANP,  $\beta$ -MHC mRNA and the myocardial cell surface area were significantly lower in Ang II + mimics group ( $P < 0.05$ ). The expression levels of ATR1 $\alpha$  mRNA and protein were significantly lower ( $P < 0.05$ ). In Ang II + inhibitors group, the levels of ATR1 $\alpha$  mRNA and protein were higher than Ang II group ( $P < 0.05$ ), but the expression of ANP,  $\beta$ -MHC mRNA and the myocardial cell surface area have no difference all ( $P > 0.05$ ). There were no difference between control group, mimics group and inhibitors group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** miR-155 may inhibit cardiac hypertrophy through down-regulate the expression of ATR1 $\alpha$ .

**[Key words]** microRNAs; gene therapy; receptor, angiotensin, type 1; cardiomegaly

心肌肥大是老年患者充血性心力衰竭的重要病理生理过程之一,心肌肥大的过程包括心肌细胞体积的增大和蛋白合成的增加。血管紧张素 II(Ang II)主要与 Ang II 1 型受体(AT1R)结合后激活心肌肥大的过程,AT1R 过表达也与心肌肥大关系密切<sup>[1]</sup>。微小 RNA(microRNA, miR)是一类 19~25 个碱基内源性、具有高度保守性的非编码 RNA 序列<sup>[2]</sup>。研究证实,多个 miR(miR-let-7a、miR-21、miR-22、miR-208、miR-206 等)均参与了心肌肥大的发生、发展过程的不同环节<sup>[3]</sup>。miR-155 是一个多功能 miR,在肺、心脏及肾脏表达较丰富<sup>[4]</sup>。Blanco 等<sup>[5]</sup>观察到 miR-155 低表达与心肌肥大及心力衰竭的风险显著升高相关;Zheng 等<sup>[6]</sup>则发现 miR-155 能够和细胞内源性 AT1R mRNA 结合,抑制蛋白的翻译,明显降低 AT1R 的

表达水平。心肌细胞有丰富的 AT1R 的表达,且在啮齿类动物的心脏组织主要分布和表达的为 AT1R 的  $\alpha$  亚型(ATR1 $\alpha$ )<sup>[7]</sup>。因此本研究推测 miR-155 可能通过对心肌细胞 ATR1 $\alpha$  表达的调控进而调节心肌肥大的发生。本研究拟观察 miR-155 表达对大鼠心肌细胞肥大的影响以及对 ATR1 $\alpha$  表达的影响,以探讨 miR-155 作为心肌细胞肥大的调控靶点的可能性。

**1 材料与方**

**1.1 材料** 大鼠心肌细胞株 H9C2(2-1)由武汉大学中国典型培养物保藏中心提供。Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000(Invitrogen 公司,美国)、mirVana PARISTM Kit(Ambion 公司,美国)由王汉琴博士惠赠;Trizol 试剂(Invitrogen 公司,美国);Platinum SYBR

\* 基金项目:湖北省十堰市科技局 2012 年科学技术研究与开发指导项目(ZD2012014)。 作者简介:杨勇(1980—),硕士,主治医师,讲师,主要从事高血压相关基因检测和功能研究。  $\Delta$  通讯作者, Tel:13972474153; E-mail:erdog168@163.com。

表 1 miR-155 和 U6 内参的 RT 及 PCR 引物序列

引物名称	RT 引物序列(5'-3')	PCR 引物序列(5'-3')
U6	CGC TTC ACG AAT TTC CGT GTC AT	上游:CTC GCT TCG GCA GCA CA 下游:AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT
miR-155	CTC AAC TGG TGT CGT GGA GTC GGC AAT TCA GTT GAG ACC CCT AT	上游:ACA CTC CAG CTG GGT TAA TGC TAA TTG TGA T 下游:TGG TGT CGT GGA GTC G

表 2 RT-PCR 各产物的引物序列

引物名称	PCR 引物序列(5'-3')	长度(bp)	退火温度(℃)
ATR1 $\alpha$	上游:TGA GTC CTG TTC CAC CCG 下游:CAC CAC CAA GCT GTT TCC	372	53
$\beta$ -MHC	上游:AGG AAG AAC CTA CTG CGA CTG 下游:CAT CCT TAG GGT TGG GTA GCA C	264	53
ANP	上游:GGC TCC TTC TCC ATC ACC 下游:CTC CAA TCC TGT CAA TCC TAC	412	53
CaNA- $\beta$	上游:CCA TCT GGT AAA AGA AGG TCG 下游:AGG TAT CGT GTA TTA GCA GGT GA	198	53
GAPDH	上游:CAA GGT CAT CCA TGA CAA CTT TG 下游:GTC CAC CAC CCT GTT GCT GTA G	496	58

Green qPCR SuperMix-UDG(Invitrogen Biotechnology 中国公司)。Ang II (Sigma, 美国)、兔抗 ATR1 $\alpha$  多克隆抗体(ABCAM 公司, 英国);兔抗 CaN- $\beta$  多克隆抗体、兔抗 NFATc-4 抗体、兔抗  $\beta$ -actin 多克隆抗体、HRP 标记的羊抗兔 IgG 抗体(Bioworld Technology 公司, 美国);miR-155 RNA 模拟物(mimics)及抑制物(inhibitors)由上海市吉玛生物科技有限公司根据 sanger miRNA 数据库的 miR-155 序列 5'-UUA AUG CUA AUU GUG AUA GGG GU-3' (编号: MIMAT 0030409)设计并合成 miR-155 mimics, 上游序列为: 5'-UUA AUG CUA AUU GUG AUA GGG GU-3', 下游序列为: 5'-CCC UAU CAC AAU UAG CAU UAA UU-3'。miR-155 inhibitors 序列为 5'-ACC CCU AUCA CAA UUA GCA UUA A-3'。

1.2 方法

1.2.1 心肌细胞培养及实验分组 转染 miR-155 mimics 及 inhibitors 的心肌细胞在转染后 24 h 加入  $1 \times 10^{-7}$  mol/L Ang II, 继续作用 48 h 后用于后续检测。实验分对照组, 不加任何药物; Ang II 组, 加入 Ang II, 终浓度为  $1 \times 10^{-7}$  mol/L, 不进行转染; 模拟物组, 转染入 miR-155 mimics 80 nmol/L, miR-155 抑制物组, 转染入 miR-155 inhibitor 80 nmol/L; Ang II 加模拟物组, 转染入 miR-155 mimics 80 nmol/L 并加入 Ang II, 终浓度为  $1 \times 10^{-7}$  mol/L; Ang II 加抑制物组, 转染入 miR-155 inhibitor 80 nmol/L 并加入 Ang II, 终浓度为  $1 \times 10^{-7}$  mol/L。

1.2.2 心肌细胞转染、荧光检测 心肌细胞用含 10% 胎牛血清 DMEM 培养生长至融合后进行传代, 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 调节细胞密度至  $1 \times 10^8$  /L 种细胞于 6 孔板中。培养心肌细胞生长 48 h 至细胞融合达 30%~50% 后, 换无血清培养液并使用脂质体 2000 转染 miR-155 mimics 及 inhibitors 进入心肌细胞。激光共聚焦显微镜下使用蓝色激光激发 FAM 荧光(激发波长 480 nm, 发射波长 520 nm), 拍摄荧光图片和同

一视野中明场细胞照片。

1.2.3 实时荧光定量 PCR 法检测心肌细胞 miR-155 的表达 收集对照组、模拟物组、miR-155 抑制物组细胞, 按照 mir-Vana PARISTM 试剂盒说明书提取并分离小于 100 nt 的小分子 RNA。使用逆转录试剂盒逆转录合成 cDNA, 应用 ABI 7300 Real Time PCR System 在 48 孔 PCR 反应模块中进行定量 PCR 检测 miR-155 表达水平, 反应体系于 50  $^{\circ}$ C 2 min, 95  $^{\circ}$ C 2 min, 95  $^{\circ}$ C 15 s, 然后 60  $^{\circ}$ C 30 s, 共 40 次循环, 最后 20  $^{\circ}$ C 2 min。以 U6 基因为内标基因, 使用 2- $\Delta\Delta$ CT 法计算 miR-155 表达量。逆转录及荧光定量 PCR 引物序列见表 1。

1.2.4 细胞表面积检测 转染 24 h 后, 心肌细胞加 Ang II 继续作用 48 h, 取有心肌细胞生长的盖玻片, 用预冷的 Hank's 液漂洗血清及杂质, 再用 4% 多聚甲醛固定 15 min 后晾干。在相差显微镜下拍照, 采用 Leica 图像分析系统对心肌细胞进行计数并测量单个细胞直径, 每孔取 10 个视野, 每个视野约 20 个细胞。测量细胞表面积, 取平均值。每组重复 3 次。

1.2.5 RT-PCR 法检测心肌肥大标记物 ANP、 $\beta$ -MHC 及 ATR1 $\alpha$  mRNA 表达 细胞处理后, 依据产品说明书用 Trizol 裂解; 氯仿抽提; 4  $^{\circ}$ C, 15 000 r/min 离心 15 min, 上层无色液相用异丙醇沉淀, 加入 DEPC 水溶解沉淀, 紫外分光光度计测定 A 衡量纯度(适当比值在 1.6~2.0)。逆转录反应(RT)合成模板 cDNA。聚合酶链反应后取 PCR 产物 5  $\mu$ L 在 1.2% 琼脂糖凝胶上电泳, 用凝胶成像仪进行分析, 结果以吸光度比值表示。各产物的 PCR 引物序列、片段长度、退火温度见表 2。PCR 反应条件为 94  $^{\circ}$ C、3 min, 94  $^{\circ}$ C、30 s, 72 $^{\circ}$ C、1 min, 循环 35 次, 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

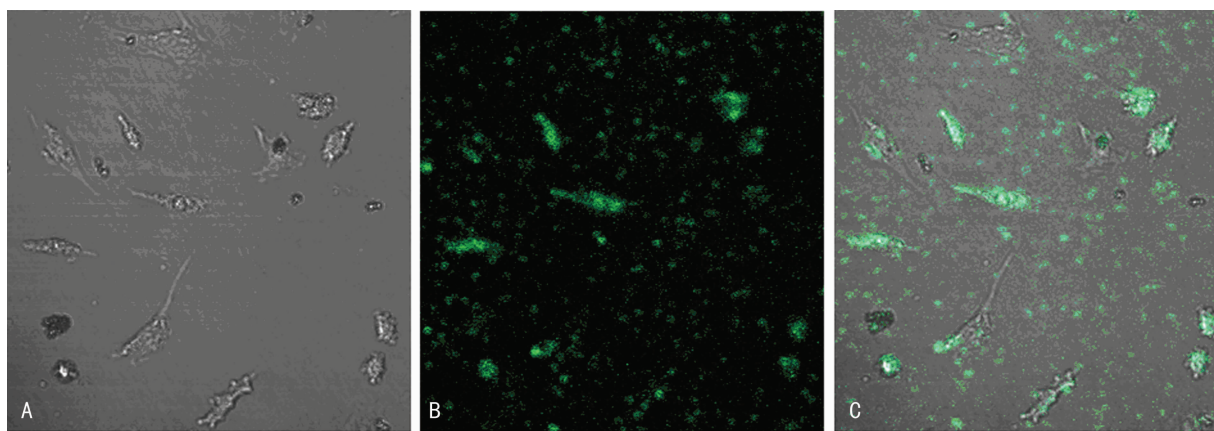
1.2.6 Western bolt 法检测心肌细胞的 ATR1 $\alpha$  表达 提取心肌细胞总蛋白, 4,4-二羧基酸-2,2-二喹啉(BCA)法测定蛋白浓度, 完毕后将其加入 5% 十二烷基环酸钠(SDS)加样缓冲液中煮沸 5 min, 以使蛋白质样品变性, 置于 -80  $^{\circ}$ C 冻存备用。按

每孔上样量 50  $\mu\text{g}$  进行 SDS-PAGE 电泳, 稳压冰浴电转至醋酸纤维素膜上, 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 一抗孵育 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜 (ATR1 $\alpha$  1 : 500), TBST 洗涤后加入荧光的山羊抗兔 IgG (1 : 15 000) 室温孵育 1 h, 采用化学发光法于暗匣中曝光。最后用显影、定影试剂进行显影和定影。将胶片进行扫描存档, Bio-Bad 公司 Quantity-One 软件处理系统分析目标带的光密度值。蛋白表达量用目的蛋白/GAPDH 的吸光度比值表示。

**1.3 统计学处理** 每组进行独立重复 3 次试验, 用 SPSS13.0 统计软件对数据进行分析。数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组之间比较使用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 后以 Tukey's post-test 进行检验, 检验水准  $\alpha = 0.05$ , 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

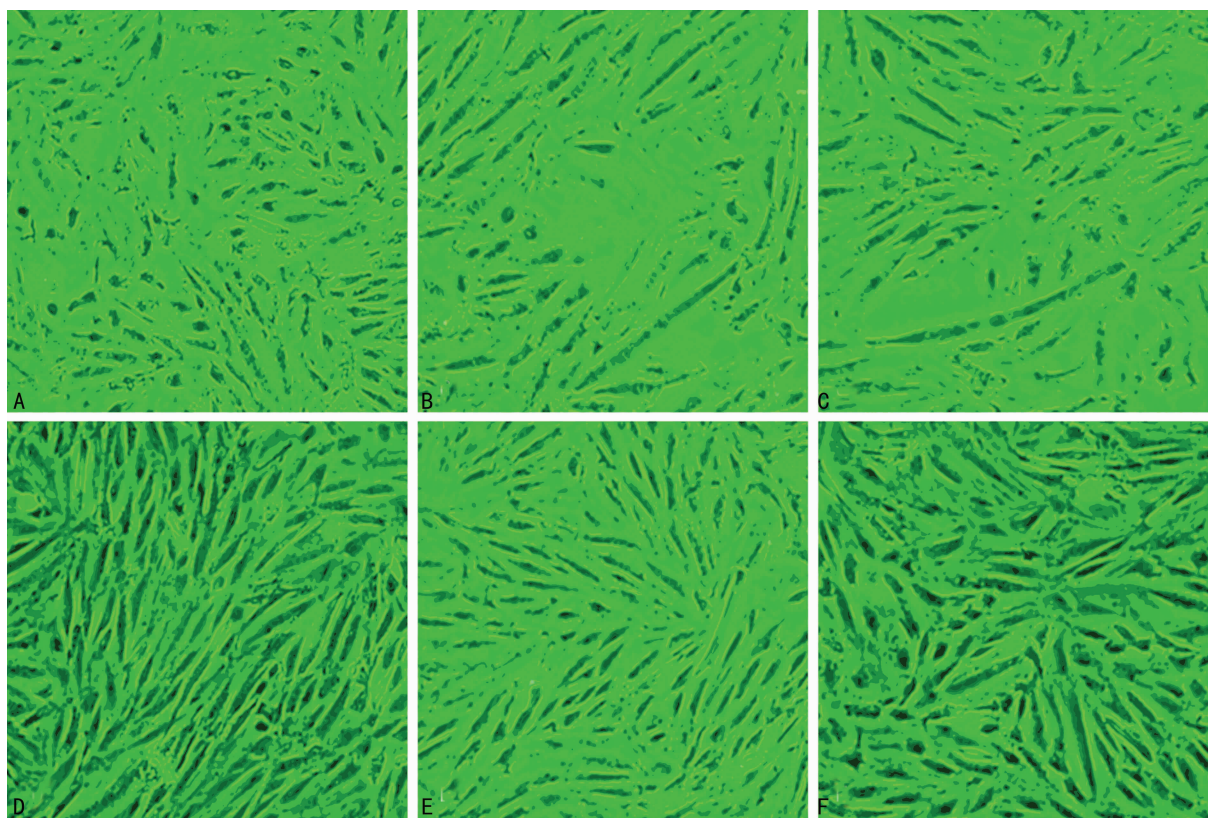
## 2 结果

**2.1 心肌细胞 miR-155 模拟物转染与 miR-155 表达水平** 转染 24 h 后, 在激光共聚焦显微镜的蓝光激发状态下, 可见绿色荧光在视野下成簇分布 (图 1B)。与同一视野下明场细胞照片 (图 1A) 进行融合后发现绿色荧光主要分布在细胞质中 (图 1C)。证实 miR-155 模拟物通过脂质体转染方法成功转染入细胞内。实时荧光定量 PCR 显示, 与 Ang II 组对比, Ang II 加模拟物组心肌细胞 miR-155 水平明显升高达 3~4 倍 [ $(3.58 \pm 0.06)$  vs.  $(1.00 \pm 0.02)$ ,  $P < 0.05$ ]; Ang II 加抑制物组心肌细胞 miR-155 水平下降 [ $(0.46 \pm 0.01)$  vs.  $(1.00 \pm 0.02)$ ,  $P < 0.05$ ]。



A: 转染 miR-155 化合物后白色背景下心肌细胞; B: 转染后可见荧光成簇分布于视野内; C: 将图 A 与 C 融合后可见荧光分布于细胞胞浆内。

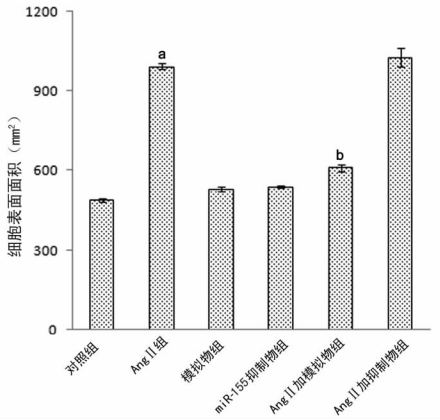
图 1 转染后心肌细胞荧光分布 (荧光显微镜  $\times 400$ )



A: 对照组; B: 模拟物组; C: miR-155 抑制物组; D: Ang II 组; E: Ang II 加模拟物组; F: Ang II 加抑制物组。

图 2 各组心肌细胞图片 ( $\times 200$ )

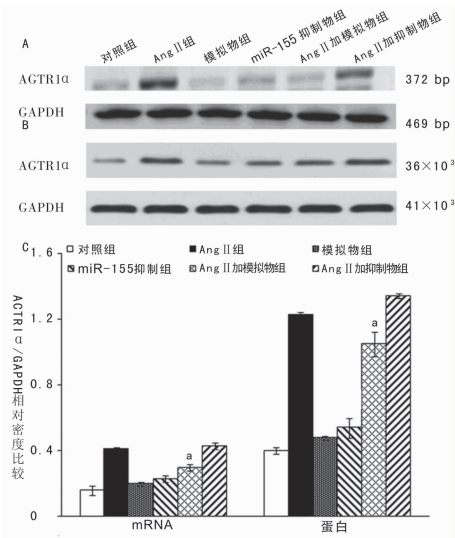
**2.2 心肌细胞表面积改变** 与对照组相比,在 Ang II 作用下,Ang II 组心肌细胞表面积出现扩大( $P < 0.05$ );而模拟物组与抑制物组,心肌细胞表面积仅有增加趋势,但无明显统计学意义( $P > 0.05$ );与 Ang II 组比较,转染 miR-155 模拟物及 miR-155 抑制物入心肌细胞后再给予刺激,Ang II 加模拟物组心肌细胞表面积明显缩小( $P < 0.05$ ),见图 2 和图 3。



<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 Ang II 组比较。

图 3 各组心肌细胞表面积比较

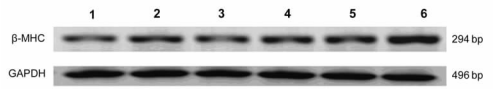
**2.3 ATR1 $\alpha$  mRNA 和蛋白表达** 与对照组相比,模拟物组和 miR-155 抑制物组的 ATR1 $\alpha$  mRNA 和蛋白表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与 Ang II 组对比,Ang II 加模拟物组心肌细胞 ATR1 $\alpha$  mRNA 和蛋白表达水平均下降( $P < 0.05$ ),见图 4。



A: AGTR1 $\alpha$  mRNA 与内参 GAPDH 的 PCR 条带对比; B: AGTR1 $\alpha$  蛋白与内参 GAPDH 的蛋白电泳条带对比; C: AGTR1 $\alpha$  mRNA 及蛋白表达与内参 GAPDH 信使 RNA 及蛋白表达相对比值对比, <sup>a</sup>:  $P > 0.05$ , 与 Ang II 组对比。

图 4 各组细胞 ATR1 $\alpha$  mRNA 和蛋白表达比较

**2.4 心肌肥大标记物  $\beta$ -MHC 及 ANP mRNA 表达** 与对照组相比,模拟物组和 miR-155 抑制物组的  $\beta$ -MHC mRNA 表达水平无明显增加( $P > 0.05$ );与 Ang II 组相比,Ang II 加模拟物组的  $\beta$ -MHC 表达明显减少( $P < 0.05$ )见图 5、6。与对照组相比,模拟物组和 miR-155 抑制物组的 ANP mRNA 表达水平无明显增加( $P > 0.05$ );与 Ang II 组相比,Ang II 加模拟物组的 ANP mRNA 表达明显减少( $P < 0.05$ )见图 7、8。



1: 对照组; 2: Ang II 组; 3: 模拟物组; 4: miR-155 抑制物组; 5: Ang II 加模拟物组; 6: Ang II 加抑制物组。

图 5 各组细胞  $\beta$ -MHC 与 GAPDH PCR 条带密度比较

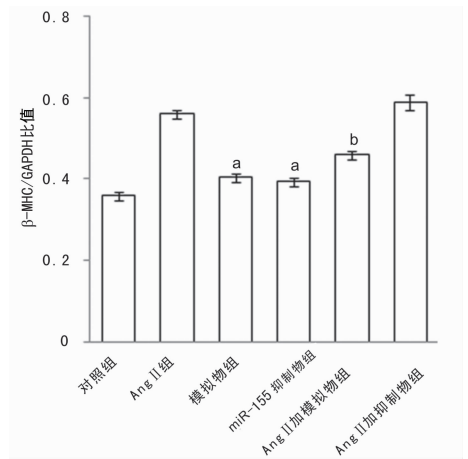
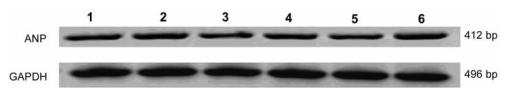
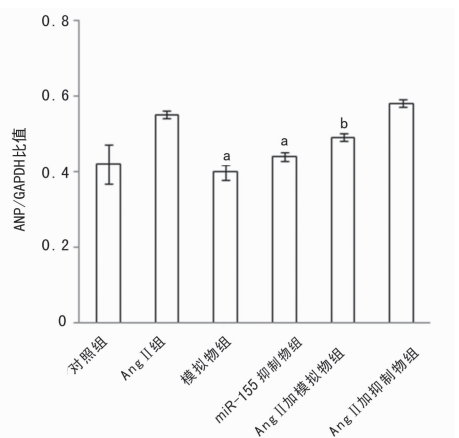


图 6 各组细胞  $\beta$ -MHC 相对表达量分析图



1: 对照组; 2: Ang II 组; 3: 模拟物组; 4: miR-155 抑制物组; 5: Ang II 加模拟物组; 6: Ang II 加抑制物组。

图 7 各组细胞 ANP 与 GAPDH PCR 条带密度比较



<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 Ang II 组比较。

图 8 各组细胞 ANP 相对表达量分析图

### 3 讨论

miR 是一类内源性非蛋白编码的单链小分子 RNA,能在转录后水平抑制靶基因的表达或翻译,可在不同生理和病理状态下调节心肌细胞的增殖、分化及凋亡,对机械重塑、电重塑均有重要影响<sup>[8]</sup>。本研究使用实时荧光定量 PCR 方法成功检测出体外培养心肌细胞株的 miR-155 表达;而在 miR-155 mimics 转入心肌细胞后可明显观察到 miR-155 表达增加到基础水平的 3~4 倍,而 miR-155 inhibitors 可有效抑制 miR-155 表达;提示使用 miR-155 合成物可成功调节细胞内 miR-155 的表达水平,为进一步研究 miR-155 对细胞的影响提供了条件。

miR-155 过表达能够有效抑制 Ang II 诱导的肥大心肌细

胞表面的 ATR1 $\alpha$  基因和蛋白的表达,心肌肥厚的相关基因 ANP、 $\beta$ -MHC 的表达明显减少,心肌细胞表面积也明显减少,提示 miR-155 过表达可能通过下调 ATR1 $\alpha$  表达进而达到改善心肌肥大的作用。Cheng 等<sup>[9]</sup>通过 miR-155 过表达干预严重子痫患者的体外培养脐静脉内皮细胞,观察到 miR-155 过表达可明显下调 AT1R 基因和蛋白水平的表达;这与本研究观察结果是相似的。研究还发现,对于未给以 Ang II 刺激诱导的肥厚心肌细胞,miR-155 过表达或者抑制表达均未表现出对 ATR1 $\alpha$  显著的调节作用,也未表现出显著的改变心肌细胞肥大标记物  $\beta$ -MHC、ANP 表达及改变心肌细胞表面积的作用,提示 miR-155 对正常心肌细胞和肥大心肌细胞 ATR1 $\alpha$ 、 $\beta$ -MHC、ANP 基因的调控具有时间分布的差异。Lunde 等<sup>[10]</sup>使用 miR 基因芯片方法检测主动脉缩窄心肌肥大大鼠模型心肌中 miR 表达时发现在主动脉缩窄造模后的 1~14 d 均不能检测出 miR-155 表达,在 14 d 后心肌肥厚程度较明显时才能检测到 miR-155 表达,与本研究的推测一致;提示 miR-155 主要在心肌肥大的晚期调控中发挥作用。

Heymans 等<sup>[11]</sup>、Seok 等<sup>[12]</sup>发现 miR-155 过表达可通过多种途径促进心肌肥大和心力衰竭发生,沉默 miR-155 则改善心肌肥大,与本研究的结果不一致。分析可能与 miR 对细胞功能的调节过程往往涉及多个信号通路,且多个 miR 参与其中,miR 之间也存在调节网络,其调节受到多因素的调控<sup>[13]</sup>;而动物模型的差异导致不同信号通路的激活不同,得到不一致的结果,本研究拟进一步在不同心肌肥厚的动物模型中验证 miR-155 对心肌肥厚的具体作用及探讨其涉及的调节通路。因此,通过本研究可证实 miR-155 能够有效抑制 ATR1 $\alpha$  基因和蛋白水平的表达,抑制由 Ang II 介导的心肌肥大。因此 miR-155 可作为高血压心肌肥大的调控靶点进一步进行深入研究。

#### 参考文献

- [1] Savoia C, Burger D, Nishigaki N, et al. Angiotensin II and the vascular phenotype in hypertension[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2011, 13: e11.
- [2] Small EM, Olson EN. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology[J]. *Nature*, 2011, 469(7330): 336-342.
- [3] Da Costa Martins PA, De Windt LJ. MicroRNAs in control of cardiac hypertrophy[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93

(4): 563-572.

- [4] Faraoni I, Antonetti FR, Cardone J, et al. miR-155 gene: a typical multifunctional microRNA[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1792(6): 497-505.
- [5] Blanco RR, Austin H, Vest RN, et al. Angiotensin receptor type 1 single nucleotide polymorphism 1166A/C is associated with malignant arrhythmias and altered circulating miR-155 levels in patients with chronic heart failure[J]. *J Card Fail*, 2012, 18(9): 717-723.
- [6] Zheng L, Xu CC, Chen WD, et al. MicroRNA-155 regulates angiotensin II type 1 receptor expression and phenotypic differentiation in vascular adventitial fibroblasts[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 400(4): 483-488.
- [7] Xu Y, Hu X, Wang L, et al. Preconditioning via angiotensin Ttype 2 receptor activation improves therapeutic efficacy of bone marrow mononuclear cells for cardiac repair[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82997.
- [8] Ono K, Kuwabara Y, Han J. MicroRNAs and cardiovascular diseases[J]. *FEBS J*, 2011, 278(10): 1619-1633.
- [9] Cheng W, Liu T, Jiang F, et al. microRNA-155 regulates angiotensin II type 1 receptor expression in umbilical vein endothelial cells from severely pre-eclamptic pregnant women[J]. *Int J Mol Med*, 2011, 27(3): 393-399.
- [10] Lunde IG, Kvaloy H, Austbo B, et al. Angiotensin II and norepinephrine activate specific calcineurin-dependent NFAT transcription factor isoforms in cardiomyocytes[J]. *J Appl Physiol*, 2011, 111(5): 1278-1289.
- [11] Heymans S, Corsten MF, Verhesen W, et al. Macrophage microRNA-155 promotes cardiac hypertrophy and failure[J]. *Circulation*, 2013, 128(13): 1420-1432.
- [12] Seok HY, Chen J, Kataoka M, et al. Loss of microRNA-155 protects the heart from pathological cardiac hypertrophy[J]. *Circ Res*, 2014, 114(10): 1585-1595.
- [13] Wu G, Huang ZP, Wang DZ. MicroRNAs in cardiac regeneration and cardiovascular disease[J]. *Sci China Life Sci*, 2013, 56(10): 907-913.

(收稿日期:2015-01-12 修回日期:2015-04-03)

(上接第 2889 页)

- [11] McInnes GT. Renin inhibition: the holy grail of renin-angiotensin system blockade? [J]. *J Hum Hypertens*, 2007, 21(10): 766-769.
- [12] Barrios V, Escobar C. Aliskiren in the management of hypertension[J]. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2010, 10(6): 349-358.
- [13] Tran HA, Schwartzbard A, Weintraub HS. Role of RAAS Inhibition in the Prevention of Cardiovascular Disease

[J]. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*, 2011, 13(4): 279-288.

- [14] De Silva L, Weir MR. Renin inhibition and microalbuminuria development: meaningful predictor of kidney disease progression[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2010, 19(5): 437-443.

(收稿日期:2015-01-11 修回日期:2015-03-30)