

扩张型心肌病患者循环中 miR-5196-5p、miR-652-5p 表达的改变及其临床意义

王林林, 吴晓旭, 李翔宇, 黄 进, 戴 剑*

南京市胸科医院心脏科, 江苏 南京 210029

[摘要] **目的:**通过 miRNA Array 芯片技术,了解扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)患者血浆 miRNA 表达谱的差异,探索这种差异与左室舒张末内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVEDd)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)及 N 末端脑钠肽前体(N-terminal of the prohormone brain natriuretic peptide, NT-proBNP)等心衰指标的关系,并预测其作用靶基因。**方法:**入选南京胸科医院心脏科收住的 8 例明确诊断的 DCM 患者,抽提血浆总 RNA,采用 Agilent Human miRNAs Array(V19.0)芯片技术,与 4 例健康对照进行表达谱的差异筛选,对改变最明显的 miRNA 进行 30 例患者的进一步验证。检测两组受检者生化指标、NT-proBNP,测量 LVEDd、LVEF,并进行变量间的相关分析。TargetScan 和 miRBD 数据库预测靶基因。**结果:**与对照组相比,病例组中共发现 36 个有意义的 miRNAs 表达差异,其中 25 个上调的 miRNA 中,miR-5196-5p 上调最明显,下调的 miRNA 中,miR-652-5p 下调最明显。该结果在后续 30 例 DCM 患者的验证中也得到证实。Pearson 线性相关分析显示,miR-5196-5p 上调水平与 LVEDd 呈正相关,miR-652-5p 水平与 LVEDd、NT-proBNP 呈负相关,与 LVEF 呈正相关。靶基因分别预测到 DCM 相关基因 VCL、RBM20 等。**结论:**DCM 患者血浆中 miR-5196-5p 表达明显上调,miR-652-5p 表达下调,并与左室功能、心室重构相关。进一步研究有可能揭示 miR-5196-5p、miR-652-5p 在心衰致病中的机制,并有可能成为评估疾病疗效及预后的新指标或潜在治疗靶点。

[关键词] 扩张型心肌病;微阵列分析;miRNA;靶基因

[中图分类号] R541.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)09-1220-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20180910

Expression changes and clinical significance of miR-5196-5p and miR-652-5p in dilated cardiomyopathy patients

Wang Linlin, Wu Xiaokui, Li Xiangyu, Huang Jin, Dai Jian*

Department of Cardiology, Nanjing Chest Hospital, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** The study aimed to investigate differentially expressed microRNAs (miRNAs) and their association with left ventricular end-diastolic dimension (LVEDd), left ventricular ejection fraction (LVEF), N-terminal of the prohormone brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in human dilated cardiomyopathy (DCM) by miRNAs array, and to predict their target gene. **Methods:** The expression levels of plasma miRNAs of 8 DCM patients and 4 healthy controls were detected by using the Agilent human miRNAs array (V19.0), followed by real-time RT-PCR analysis to validate the expression changes of miRNAs. NT-proBNP, LVEDd and LVEF were measured and analyzed using Pearson linear correlation analysis. The prediction analysis for microarrays (PAM) method was used to identify the differentially expressed miRNAs. **Results:** Thirty-six differentially expressed miRNAs were identified. There were 25 upregulated and 11 downregulated human miRNAs, of which miR-5196-5p and miR-652-5p were the most significant. Pearson linear correlation analysis showed that miR-5196-5p level was positively correlated with LVEDd, whereas miR-652-5p was positively correlated with LVEF values and negatively correlated with NT-proBNP and LVEDd. Moreover, correlative genes such as VCL and RBM20 related with DCM were predicted. **Conclusion:** The screened differentially expressed miRNAs may be involved in the development of DCM. Specific miRNAs, such as miR-5196-5p and miR-652-5p, may be considered as new targets for the diagnosis and treatment of human DCM.

[Key words] dilated cardiomyopathy; microarray analysis; microRNA; target gene

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(09): 1220-1225]

[基金项目] 南京市卫生局重点项目(ZKX13040);南京市卫生局一般项目(YKK17187)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: dj92@sina.com

扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)以左心室或双心室扩张并伴收缩功能障碍为特征,是原发性心肌病中最常见的一种,临床常表现为进行性心力衰竭、心律失常、血栓栓塞和猝死^[1]。DCM猝死率非常高,5年病死率接近50%,尽管近年在治疗和管理方面取得了显著进展,但因病情反复导致的高住院率仍然为家庭及社会带来沉重负担。在人口老龄化的趋势下,这一负担还会增加。循环标志物如脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)及N末端脑钠肽前体(N-terminal of the prohormone brain natriuretic peptide, NT-proBNP)为临床监测及处理心衰提供了便利,发现新的血清标志物,对提高诊断敏感性、预测病情进展及揭示内在发病机制意义重大。近年研究发现,在慢性心衰患者血浆中,有多种microRNA(miRNA)表达异常^[2-4]。miRNA由20~25个核苷酸组成,是一类新的非编码RNA,通过转录后调节影响细胞的基因表达,在多种疾病中发挥重要作用^[5]。近期研究发现miRNA可游离于细胞之外,在循环血中能稳定存在,可以方便快速地进行非侵入性检测,具有重要的临床应用价值,可能成为新的诊断标志物,或作为药物治疗靶点^[6-7]。

研究显示,miRNA在冠心病、慢性心衰等心血管系统疾病的发病中发挥重要作用,在患者血浆中的表达亦与健康对照不同,从而可能成为疾病诊断的标志物^[8]。心衰致病原因多样,虽最终结果均表现为心功能不全,但在发病过程中,不同的致病原因可能有各自的调节机制。目前针对单纯原发性DCM患者的miRNA表达谱芯片检测较少。本研究入选明确诊断的DCM患者,利用miRNA Array技术对2 006个人类相关miRNA进行检测分析,拟明确DCM血浆miRNA表达谱的差异,了解这种差异与心功能分级之间的关系,以发现新的血清标志物并为后续机制研究提供基础。

1 对象和方法

1.1 对象

选取南京胸科医院心脏科2014年1月—2015年8月收住的38例明确诊断的原发性DCM患者,所有患者均符合Framingham诊断标准,心脏彩超提示全心扩大,射血分数(ejection fraction, EF)值<50%,NT-proBNP>1 500 pg/mL,依据纽约心脏病协会(New York Heart Association, NYHA)心功能分级标准评价患者的心功能;排除高血压性心脏病、瓣膜性心脏病、肺源性心脏病等继发性心衰;此外,所有患者均

经冠状动脉造影排除缺血性心肌病。对照组30例为本院健康体检人群,除外心血管病史及其他系统疾病。详细采集患者的临床资料:包括年龄、性别、既往疾病史、肝肾功能、NT-proBNP,测量左室舒张末内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVEDd)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。所有患者均符合伦理学标准并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 miRNA 筛选

对入组的8例原发性DCM患者及4例健康患者,采用Agilent Human miRNAs Array(V19.0)芯片技术进行miRNA筛选。样品总RNA利用NanoDrop ND-2000(Thermo Scientific公司,美国)定量并经Agilent Bioanalyzer 2100(Agilent Technologies公司,美国)检测RNA完整性。RNA质检合格后,参照芯片标准流程进行样本标记、芯片杂交以及洗脱。洗脱后利用Agilent Scanner G2505C(Agilent Technologies公司,美国)扫描得到原始图像。

杂交图片使用Agilent Feature Extraction(v10.7)软件进行分析后获得原始数据,原始数据需经Agilent GeneSpring软件进一步统一化处理,随后即可用SAM v4.0(Significance Analysis of Microarrays, SAM)软件统计分析显著性差异表达的miRNA。 q -value表示该miRNA被选为显著性差异基因的最小错误发生率, q -value<0.05为差异筛选miRNA的标准,0为最严格标准。对差异miRNA进行非监督层次聚类,利用热图形式展示差异miRNA在不同样本间的表达模式。接着,利用3个数据库(TargetScan、miRBD和miRPathDB)共同对差异miRNA进行靶基因预测。

1.2.2 血浆总RNA提取

所有入组者均于入院后从肘静脉抽取静脉血6 mL,置于乙二胺四乙酸(EDTA-K₂)无菌抗凝试管中,以4 000 r/min离心15 min,将上层血浆转移至洁净的2 mL EP管,-80℃冻存备用。取200 μL血浆采用Qiagen miRNeasy RNA extraction kits进行血浆总RNA提取。

1.2.3 RT-PCR反应验证差异表达miRNAs

取8 μL RNA产物进行逆转录反应。设计合成目标miRNA引物,荧光定量PCR验证目标miRNA表达。miR-5196-5p RT-PCR引物序列:5'-GTCCG-TATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGA-TACGACCCCAAC-3';miR-652-5p RT-PCR引物序

列: 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT-CGCACTGGATACGACTGAATG-3',引物均购自上海艾博思生物科技有限公司。反应体系为:2×SYBR Green Master Mix 10 μL,2 μL RT产物,0.2 μmol/L 前向和反向引物,加无菌双蒸水补足至20 μL。反应条件为:95℃变性5 min;95℃15 s,62℃30 s,40个循环。扩增结束后,所得实验结果直接在实时荧光定量PCR操作软件中进行比较分析。

1.3 统计学方法

采用SPSS 12.1数据处理软件。正态分布的计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用*t*检验,不符合正态分布组间比较采用秩和检验,计数资料采用 χ^2 检验。相关分析采用Pearson相关分析及偏相关分析,评价循环miRNA表达量与心衰病程进展的关系。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

本研究共入选DCM患者38例(8例芯片检测,30例后续验证),男30例,女8例,平均年龄(61.3±16.7)岁。按照NYHA心功能分级主要为心功能II~IV级。所有患者均为特发性DCM,经冠状动脉造影排除冠心病,此外无高血压、糖尿病、心脏瓣膜病变等合并症,以排除继发性心衰。根据2014年美国糖

尿病指南诊断标准排除糖尿病患者:糖化血红蛋白 $\geq 6.5\%$;或空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L;或糖耐量试验2 h血糖 ≥ 11.1 mmol/L;有糖尿病典型症状,随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L;无典型症状,应重复检验以证实结果。入组患者中10例合并有房颤。对照组30例为健康体检人群,均无心血管病及其他相关病史。DCM组与对照组肌酐水平无显著差异,两组NT-proBNP、LVEF值、LVEDd差异有统计学意义($P < 0.05$,表1)。

表1 两组主要生化指标及心功能比较

Table 1 Comparison of the main biochemical parameters and cardiac function between two groups

指标	DCM组(n=38)	对照组(n=30)	P值
NT-proBNP(pg/mL)	3 755.36 ± 856.38	169.50 ± 84.39	<0.01
肌酐(μmol/L)	95.36 ± 58.36	73.68 ± 22.99	0.09
LVEF(%)	41.20 ± 5.91	62.80 ± 3.54	<0.01
LVEDd(mm)	64.58 ± 4.40	48.6 ± 3.31	<0.01

2.2 DCM患者miRNA表达谱变化

与对照组相比,病例组共发现36个有意义的miRNA表达差异,其中25个上调,11个下调。而在所有表达差异的miRNA中,miR-5196-5p上调、miR-652-5p下调最明显(图1)。因此选择miR-5196-5p、miR-652-5p在30例DCM患者中做进一步验证。

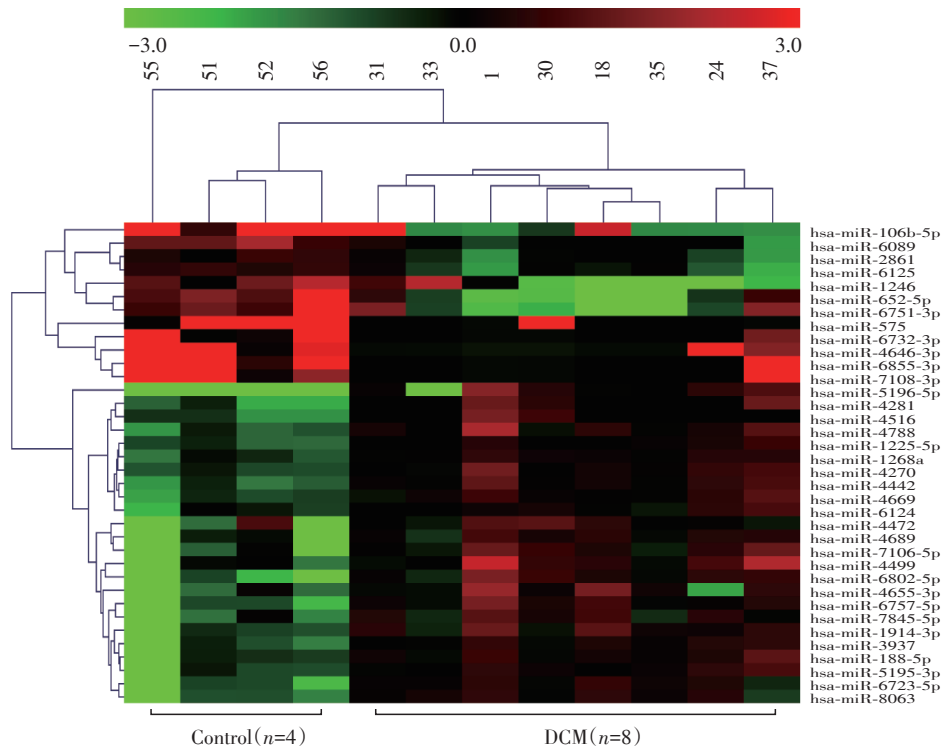
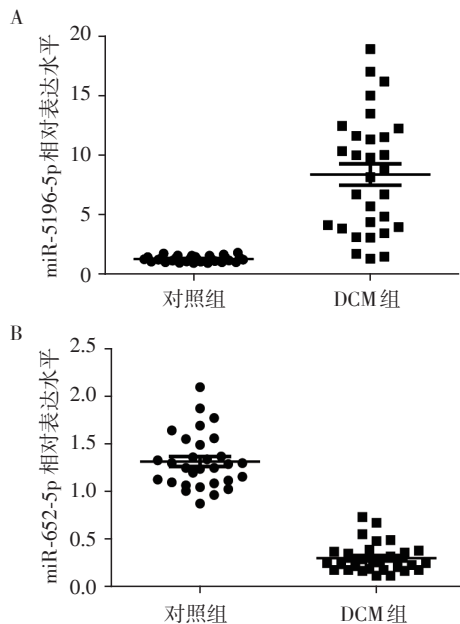


图1 芯片筛选出DCM患者36个miRNA的表达差异

Figure 1 Differential expression of 36 miRNAs in DCM patients from miRNA array

2.3 miR-5196-5p、miR-652-5p 在 DCM 患者中的验证
30 例独立 DCM 患者的验证结果与芯片筛查结果相一致。与健康对照组相比, DCM 患者 miR-5196-5p 表达水平显著升高, miR-652-5p 水平显著下调(图 2)。



A: DCM 患者 miR-5196-5p 表达水平显著升高; B: DCM 患者 miR-652-5p 水平显著下调。

图 2 miR-5196-5p 和 miR-652-5p 在 DCM 组及对照组中的表达水平

Figure 2 Expression levels of miR-5196-5p and miR-652-5p in DCM patients and controls

2.4 miR-5196-5p、miR-652-5p 的表达变化与心功能指标相关性的分析

心功能各指标之间的相关性分析显示, LVEF 值分别与 LVEDd、NT-proBNP 呈负相关, 与既往报道一致(表 2)。Pearson 相关分析显示, miR-5196-5p 上调水平与 LVEDd 呈正相关, miR-652-5p 水平与 LVEDd、NT-proBNP 呈负相关, 与 LVEF 值呈正相关(表 3)。

2.5 靶基因预测

在 TargetScan、miRBD 和 miRPathDB 数据库中

表 2 NT-proBNP、LVEDd、LVEF 值之间的相关分析模型
Table 2 Correlation analysis model between NT-proBNP, LVEDd, and LVEF values

因素		LVEDd	NT-proBNP
LVEF	Pearson 相关性	-0.839**	-0.427*
	显著性(双侧)	< 0.001	0.033

**：在 0.01 水平(双侧)上显著相关; *：在 0.05 水平(双侧)上显著相关。

表 3 miR-5196-5P、miR-652-5P 与 NT-proBNP、LVEDd、LVEF 值的相关分析

Table 3 Correlation analysis of miR-5196-5P, miR-652-5P with NT-proBNP, LVEDd, and LVEF values

因素		NT-proBNP	LVEDd	LVEF
miR-5196-5P	Pearson 相关性	0.092	0.531	-0.224
	显著性(双侧)	0.663	0.006	0.282
miR-652-5P	Pearson 相关性	-0.416	-0.690	0.603
	显著性(双侧)	0.039	< 0.001	0.001

分别预测 miR-5196-5p、miR-652-5p 的靶基因, 结合目前国际上公认的 DCM 相关基因, 分别筛选出 miR-5196-5p 高度相关靶基因 VCL、miR-652-5p 高度相关靶基因 RBM20 等(表 4)。VCL 基因编码的 vinculin 蛋白是一种细胞间及细胞与基质连接相关的细胞骨架蛋白, VCL 的功能缺陷可引起 DCM^[9]。目前已发现该基因的多个剪接转录变体, 但一些变体的生物有效性尚未确定。miR-5196-5p 上调可能通过下调 VCL 表达导致 DCM。RBM20 编码 RNA 结合蛋白 20, 并调节对靶基因的剪接功能。报道显示该基因的突变可导致特发性 DCM, 并与较差预后有关^[10]。miR-652-5p 可能通过调节 RBM20 的表达导致心功能不全。此外, 尚预测到多个与细胞生长、凋亡等相关的靶基因, 根据目前报道, 这些基因可通过调节心肌细胞凋亡、纤维化、心肌重塑等机制影响心衰的发生与发展。

表 4 TargetScan、miRBD 和 miRPathDB 数据库预测 miR-5196-5p、miR-652-5p 相关靶基因

Table 4 Correlative target genes of miR-5196-5p and miR-652-5p predicted by TargetScan, miRBD and miR-PathDB

miRNA	相关靶基因
miR-5196-5p	VCL、CCND1、AKT1、WNT5A、ABL1
miR-652-5p	RBM20、NOTCH4、PTEN、MMP16、MMP2、MAPK8、FGF2

3 讨论

研究发现 miRNA 的表达存在着组织特异性, 心肌组织和骨骼肌存在不同的 miRNA 表达谱。人心衰心肌 miRNA 表达谱由 Ikeda 等^[11]首次报道, 对 57 例心衰患者(包括缺血性心肌病、DCM 和主动脉狭窄所致的心衰), 检测 428 个 miRNA, 与对照组比较, 有 87 个 miRNA 异常表达, 其中 7 个在 3 组中表达相同, 但是 3 组患者心肌中的 miRNA 表达谱各有特点, 这

提示除共同的终末期表现形式以外,不同病因的心衰有其特定的病理基础。Sucharov等^[12]也证实了缺血性心肌病和DCM心衰患者心肌有独特的miRNA表达,因此某些miRNA可能成为表型差异的生物学标记。临床研究中,患者心肌难以获取,而血样本检测对诊断及病情评估更为普遍实用。自miRNA被发现在循环血中可稳定存在,其在肿瘤、血液、心血管、神经系统等疾病的诊断、治疗效果评估等方面的探索就不断深入^[13-15]。研究证明,多种miRNA可在心衰患者血循环中表达升高,其可能机制主要有心肌细胞损伤释放细胞特异性miRNA,如miR-1、miR-133a/b、miR-208、miR-499等;主动性细胞外分泌调节,如miR-423-5p等^[16]。引起心衰的原因很多,虽最终表现为慢性左心功能不全,但其发病过程及发病机制可能存在差异,因此,研究结果可能会因入组标准的不同产生差异。本研究针对特发性DCM患者,排除其他可能导致心衰的原因,如缺血性心肌病、高血压性心脏病、瓣膜性心脏病等,并以miRNA芯片检测作为工具,分析DCM患者的循环miRNA表达特点,加深对DCM的了解,以期在疾病诊断及治疗中发挥作用。

随着研究深入,更多miRNA被发现,研究证实的人类miRNA有2000个左右。尽管不同研究者以健康和病态的心脏为标本,采用多种方法尝试识别其完整的miRNA表达,并筛选出数个较为公认的心肌细胞特异性miRNA,但目前为止,尚无血浆样本与心肌组织的一对一对比研究,而幼儿与成人的心衰表达谱也存在差异^[17],这些问题均说明miRNA在心衰中的表达与作用机制仍不明确,并远比最初认识的复杂。Leptidis等^[18]对7例DCM、5例肥厚性心肌病患者心肌组织小RNA进行高通量深度测序,发现DCM患者心脏miRNA的异常表达多于目前报道数量,并发现了一组新的miRNA表达差异。相对于心肌组织,循环中的miRNA表达有其自身特点,而不同研究也得出有差异的结果。Marques等^[19]对9例充血性心衰患者分别采取动脉及冠状静脉窦血样,对目前认为的84种心脏相关miRNA进行分析,试图探索心衰患者循环中miRNA表达不同的机制。研究发现,15种miRNA在冠状静脉窦和动脉血样中表达有明显差异,其中5种考虑为心肌释放入血,10种表现为心肌吸收。因miRNA分布广泛,作用机制复杂,人体是一个综合的整体,在疾病发生发展过程中,各个器官可能通过外分泌方式互相作用,单纯针对心肌组织丰富的miRNA筛查可能会有所

局限^[20]。本课题利用miRNA Array技术,在8例DCM患者血浆中对人类2000余个miRNA进行检测,发现了36个有意义的miRNA表达差异,其中25个上调,11个下调。而miR-5196-5p上调、miR-652-5p下调最明显。在后续30例DCM患者中做进一步验证,结果符合芯片检测结果。Pearson相关分析显示,miR-5196-5p上调水平与LVEDd呈正相关,miR-652-5p水平与LVEDd、NT-proBNP呈负相关,与LVEF呈正相关,该结果显示了这两种miRNA与心衰病程进展直接相关。

Pillbrow等^[21]对35例急性冠脉综合征患者循环中375个miRNA分析显示,miR-652可作为急性冠脉综合征的诊断及心梗后心衰评估的新的生物标志物。作为同一前体产物,目前尚无miR-652-5p以及miR-5196-5p与心衰关系的相关报道,针对目前国际上公认的DCM相关基因,在TargetScan、miRDB和miRPathDB数据库中分别筛选出DCM相关的靶基因VCL、RBM20等。miR-5196-5p、miR-652-5p表达差异的具体机制是因心肌释放入血增加或是因心肌摄入所致,这两种miRNA通过何种途径影响心衰的发病与发展,其表达水平是否与预后相关等一系列问题,尚需后续研究进一步证实。

本研究通过miRNA芯片技术,对8例特发性DCM血浆miRNA表达谱进行测定,发现了2种新的miRNA表达差异与病程发展相关。预测了这2种miRNA的相关靶基因,并将通过后续研究发现其可能的致病机制。

[参考文献]

- [1] Sanbe A. Dilated cardiomyopathy: a disease of the myocardium[J]. Biol Pharm Bull, 2013, 36(1): 18-22
- [2] Chen MC, Chang TH, Chang JP, et al. Circulating miR-148b-3p and miR-409-3p as biomarkers for heart failure in patients with mitral regurgitation [J]. Int J Cardiol, 2016, 222(1): 148-154
- [3] Li H, Fan J, Yin Z, et al. Identification of cardiac-related circulating microRNA profile in human chronic heart failure[J]. Oncotarget, 2016, 7(1): 33-45
- [4] De Rosa S, Indolfi C. Circulating microRNAs as biomarkers in cardiovascular diseases[J]. EXS, 2015, 106: 139-149
- [5] Vettori S, Gay S, Distler O. Role of microRNAs in fibrosis [J]. Open Rheumatol J, 2012, 6: 130-139
- [6] Schulte C, Westerman D, Blankenberg S, et al. Diagnostic and prognostic value of circulating micro RNAs in heart failure with preserved and reduced ejection fraction [J].

- World J Cardiol,2015,7(12):843-860
- [7] Vegter EL, Van Der Meer P, De Windt LJ, et al. MicroRNAs in heart failure: from biomarker to target for therapy [J]. Eur J Heart Fail, 2016, 18(5): 457-468
- [8] Busch A, Eken SM, Maegdefessel L. Prospective and therapeutic screening value of non-coding RNA as biomarkers in cardiovascular disease [J]. Ann Transl Med, 2016, 4(12): 236
- [9] Olson TM, Illenberger S, Kishimoto NY, et al. Metavinculin mutations alter actin interaction in dilated cardiomyopathy [J]. Circulation, 2002, 105(4): 431-437
- [10] Beqqali A, Bollen IA, Rasmussen TB, et al. A mutation in the glutamate-rich region of RNA-binding motif protein 20 causes dilated cardiomyopathy through missplicing of titin and impaired Frank-Starling mechanism [J]. Cardiovasc Res, 2016, 112(1): 452-463
- [11] Ikeda S, Kong SW, Lu J, et al. Altered microRNA expression in human heart disease [J]. Physiol Genomics, 2007, 31(3): 367-373
- [12] Sucharov C, Bristow MR, Port JD. miRNA expression in the failing human heart: functional correlates [J]. J Mol Cell Cardiol, 2008, 45(2): 185-192
- [13] Zhu HT, Hasan AM, Liu RB, et al. Serum microRNA profiles as prognostic biomarkers for HBV-positive hepatocellular carcinoma [J]. Oncotarget, 2016, 7(29): 45637-45648
- [14] Sisic L, Vallboehmer D, Stoecklein NH, et al. Serum microRNA profiles as prognostic or predictive markers in the multimodality treatment of patients with gastric cancer [J]. Oncol Lett, 2015, 10(2): 869-874
- [15] Molasy M, Walczak A, Szaflik J, et al. MicroRNAs in glaucoma and neurodegenerative diseases [J]. J Hum Genet, 2017, 62(1): 105-112
- [16] Zile MR, Mehurg SM, Arroyo JE, et al. Relationship between the temporal profile of plasma microRNA and left ventricular remodeling in patients after myocardial infarction [J]. Circ Cardiovasc Genet, 2011, 4(6): 614-619
- [17] Stauffer BL, Russell G, Nunley K, et al. miRNA expression in pediatric failing human heart [J]. J Mol Cell Cardiol, 2013, 57(4): 43-46
- [18] Leptidis S, El Azzouzi H, Lok SI, et al. A deep sequencing approach to uncover the miRNOME in the human heart [J]. PLoS One, 2013, 8(2): e57800
- [19] Marques FZ, Vizi D, Khammy O, et al. The transcardiac gradient of cardio-microRNAs in the failing heart [J]. Eur J Heart Fail, 2016, 18(8): 1000-1008
- [20] Murach KA, Micromnas MJ. Heart failure and aging: potential interactions with skeletal muscle [J]. Heart Fail Rev, 2017, 22(2): 209-218
- [21] Pilbrow AP, Cordeddu L, Cameron VA, et al. Circulating miR-323-3p and miR-652: candidate markers for the presence and progression of acute coronary syndromes [J]. Int J Cardiol, 2014, 176(2): 375-385
- [收稿日期] 2017-04-20

(上接第1186页)

- (自然科学版), 2015, 35(2): 155-159
- [11] Caldwell KL, Wang J. Cell-based articular cartilage repair: the link between development and regeneration [J]. Osteoarthritis Cartil, 2015, 23(3): 351-362
- [12] Murphy MK, Huey DJ, Hu JC, et al. TGF- β 1, GDF-5, and BMP-2 stimulation induces chondrogenesis in expanded human articular chondrocytes and marrow-derived stromal cells [J]. Stem Cells, 2015, 33(3): 762-773
- [13] Shtafif B, Dror N, Bar-Maisels M, et al. Growth without growth hormone: can growth and differentiation factor 5 be the mediator? [J]. Growth Factors, 2015, 33(4): 309-318
- [14] Han C, Ren Y, Jia Y, et al. The effective mode of growth and differentiation factor-5 in promoting the chondrogenic differentiation of adipose-derived stromal cells [J]. Cell Tissue Bank, 2016, 17(1): 105-115
- [15] Liu J, Saito K, Maruya Y, et al. Mutant GDF5 enhances ameloblast differentiation via accelerated BMP2-induced Smad1/5/8 phosphorylation [J]. Sci Rep, 2016, 6(6): 23670
- [16] Wu G, Cui Y, Wang YT, et al. Repair of cartilage defects in BMSCs via CDMP1 gene transfection [J]. Genet Mol Res, 2014, 13(1): 291-301
- [17] Uyguner ZO, Kocaoğlu M, Toksoy G, et al. Novel indel mutation in the GDF5 gene is associated with brachydactyly type C in a four-generation Turkish family [J]. Mol Syndromol, 2014, 5(2): 81-86
- [18] Stafford DA, Monica SD, Harland RM. Follistatin interacts with Noggin in the development of the axial skeleton [J]. Mech Dev, 2014, 131(10): 78-85
- [收稿日期] 2017-06-11