

lncRNA SNHG6 通过调节 miR-26a-5p/CTGF 轴影响心房颤动大鼠心肌纤维化的作用机制

袁孝伟 宣学习 周芃 刘魁智 王豪 朱自强
(郑州市第七人民医院心血管内科,河南 郑州 450016)

【摘要】目的 探讨长非编码 RNA (lncRNA) 核仁小 RNA 宿主基因 6 (SNHG6) 通过调节 miR-26a-5p/结缔组织生长因子 (CTGF) 轴对心房颤动 (AF) 大鼠心肌纤维化的影响。**方法** 验证 lncRNA SNHG6 与 miR-26a-5p、miR-26a-5p 与 CTGF 的关系。构建 AF 模型大鼠,将造模成功的 60 只大鼠随机分为 AF 组、sh-NC 组、sh-lncRNA SNHG6 组、sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC 组、sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-26a-5p 组,每组 12 只。另取 12 只大鼠作为正常组。检测大鼠 AF 持续时间、AF 发生率变化;qRT-PCR 检测心房组织中 lncRNA SNHG6、miR-26a-5p 及 CTGF mRNA 水平;超氧化物阴离子荧光探针二氢乙锭 (DHE) 染色检测心房组织中活性氧 (ROS) 平均荧光强度;试剂盒检测心房组织中丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 水平;Masson 染色检测心房组织中心肌纤维化;蛋白质印迹法检测心房组织中胶原蛋白 I (collagen I)、基质金属蛋白酶 9 (MMP-9)、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、CTGF 蛋白。**结果** lncRNA SNHG6 靶向调节 miR-26a-5p/CTGF 轴。与 AF 组、sh-NC 组比较,sh-lncRNA SNHG6 组心房组织呈蓝染的纤维化面积减少,AF 持续时间、AF 发生率、心房组织中 lncRNA SNHG6 水平、CTGF mRNA 水平、ROS 平均荧光强度、MDA 水平及 collagen I、MMP-9、TGF- $\beta 1$ 、CTGF 蛋白水平降低,心房组织中 miR-26a-5p 水平、SOD 水平升高 ($P < 0.05$);anti-miR-26a-5p 逆转了沉默 lncRNA SNHG6 对 AF 大鼠心肌纤维化的改善作用。**结论** 沉默 lncRNA SNHG6 可能通过调控 miR-26a-5p/CTGF 轴抑制氧化应激进而改善 AF 大鼠心肌纤维化。

【关键词】 长非编码 RNA;核仁小 RNA 宿主基因 6;miR-26a-5p;结缔组织生长因子;心房颤动;心肌纤维化

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2025.02.018

The Mechanism of lncRNA SNHG6 Affecting Myocardial Fibrosis in Rats with Atrial Fibrillation by Regulating the miR-26a-5p/CTGF Axis

YUAN Xiaowei, XUAN Xuexi, ZHOU Peng, LIU Kuizhi, WANG Hao, ZHU Ziqiang

(Department of Cardiovascular Medicine, The 7th People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450016, Henan, China)

【Abstract】Objective To investigate the effect of long non-coding RNA (lncRNA) small nucleolar RNA host gene 6 (SNHG6) on myocardial fibrosis in rats with atrial fibrillation (AF) by regulating the miR-26a-5p/connective tissue growth factor (CTGF) axis. **Methods** The relationship between lncRNA SNHG6 and miR-26a-5p, and between miR-26a-5p and CTGF was validated. The AF model rats were constructed, and the 60 successfully constructed rats were randomly divided into AF group, sh-NC group, sh-lncRNA SNHG6 group, sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC group, and sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-26a-5p group, with 12 rats in each group. Another 12 rats were selected as the normal group. The duration and incidence of AF in rats were detected. QRT-PCR was applied to detect the levels of lncRNA SNHG6, miR-26a-5p, and CTGF mRNA in atrial tissue. Dihydroethidium (DHE) staining was applied to detect the average fluorescence intensity of reactive oxygen species (ROS) in atrial tissue. The reagent kits were applied to detect levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in atrial tissue. Masson staining was applied to detect central muscle fibrosis in atrial tissue. Western blot was applied to detect collagen I, matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), transforming growth factor- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), and CTGF proteins in atrial tissue. **Results** lncRNA SNHG6 targeted and regulated the miR-26a-5p/CTGF axis. Compared with the AF group and sh-NC group, the atrial tissue in the sh-lncRNA SNHG6 group showed a reduction in fibrotic area with blue staining, the duration and incidence of AF, levels of lncRNA SNHG6, CTGF mRNA, ROS average fluorescence intensity, MDA, and the levels of collagen I, MMP-9, TGF- $\beta 1$, and CTGF proteins in atrial tissue decreased, the levels of miR-26a-5p and SOD in atrial tissue increased ($P < 0.05$). Anti-miR-26a-5p reversed the improvement effect of silencing lncRNA SNHG6 on myocardial fibrosis in AF rats. **Conclusion** Silencing lncRNA SNHG6 may inhibit oxidative stress by regulating the miR-26a-5p/CTGF axis, thereby improving myocardial fibrosis in AF rats.

基金项目:2023 年度河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (LHGJ20230738)

通信作者:朱自强, E-mail: 1393946386@qq.com

【Keywords】 Long non-coding RNA; Small nucleolar RNA host gene 6; miR-26a-5p; Connective tissue growth factor; Atrial fibrillation; Myocardial fibrosis

心房颤动 (atrial fibrillation, AF) 是临床上最常见的心律失常之一,也是全球卒中、心力衰竭、猝死和心血管疾病发生的主要原因之一。随着人口老龄化,AF 的发病率和患病率持续上升,社会负担也在增加。据报道^[1],心肌纤维化是导致包括 AF 在内的各种心血管疾病发展的重要因素。因此,靶向心肌纤维化的新型有效分子对 AF 的治疗和管理具有相当重要的意义。长非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 核仁小 RNA 宿主基因 6 (small nucleolar RNA host gene 6, SNHG6) 是在多种疾病中处于失调状态的 lncRNA。已有研究^[2]报道,沉默 lncRNA SNHG6 可减轻博来霉素诱导的小鼠肺纤维化,表明沉默 lncRNA SNHG6 可能具有抑制纤维化的作用。但关于 lncRNA SNHG6 对 AF 大鼠心肌纤维化的影响鲜有报道。相关研究^[3]显示,过表达 miR-26a-5p 可改善大鼠心肌纤维化;结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 的下调改善了 AF 大鼠心肌纤维化^[4]。生物信息学分析表明 lncRNA SNHG6 与 miR-26a-5p、miR-26a-5p 与 CTGF 可结合。但 lncRNA SNHG6 是否可通过调节 miR-26a-5p/CTGF 轴影响 AF 大鼠心肌纤维化尚不可知。基于此,本实验主要探究 lncRNA SNHG6 对 AF 大鼠心肌纤维化的影响及分子机制。

1 材料和方法

1.1 动物及细胞

77 只雄性 SD 大鼠 (体重 230~250 g) 购自广东维通利华实验动物公司,生产许可证号:SCXK (粤) 2022-0063。动物实验获得郑州市第七人民医院动物伦理委员会的批准 (202311007)。大鼠心肌成纤维细胞 RCF 细胞购自上海弘顺生物公司。

1.2 试剂

乙酰胆碱 (纯度 $\geq 99\%$, 默克化工技术有限公司); 氯化钙 (南通巴迪化学品有限公司); lncRNA SNHG6 短发夹 RNA (sh-lncRNA SNHG6) 及其阴性对照 sh-NC 慢病毒、miR-26a-5p 抑制剂 (anti-miR-26a-5p) 及其阴性对照 anti-miR-NC 慢病毒 (英茂盛业生物公司); 超氧化物阴离子荧光探针二氢乙锭 (dihydroethidium, DHE) (上海懋康生物公司); 大鼠丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒 (武汉吉立德生物公司); Masson 染色试剂盒 (南京森贝伽生物公司); 兔源一抗胶原蛋白 I (collagen I)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、转化生长因子 $\beta 1$

(transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、CTGF 及二抗 (英国 abcam 公司)。

1.3 靶向关系验证

分别扩增全长 lncRNA SNHG6、CTGF 的 5' 非翻译区并将扩增后的序列分别克隆到 pmirGLO 萤光素酶载体中,依次命名为 lncRNA SNHG6-WT 和 CTGF-WT。将 lncRNA SNHG6-WT 和 CTGF-WT 分别与 miR-26a-5p mimic 或 miR-NC 共转染于 RCF 细胞,48 h 后裂解细胞,测试相对萤光素酶活性。

1.4 建模、分组及处理

以隔日通过舌下静脉注射 1 次 1 mL/kg 乙酰胆碱 (33.66 mg/L) 和氯化钙 (10 g/L) 的混合液,共注射 14 次的方式构建 AF 模型大鼠,以大鼠心电图呈现出标准 II 导联 AF 心电图作为造模成功标准^[5]。共取 65 只大鼠进行造模,成功造模 60 只大鼠,随机分为 AF 组、sh-NC 组、sh-lncRNA SNHG6 组、sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-NC 组、sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-26a-5p 组,每组 12 只。另取 12 只大鼠通过舌下静脉注射对应体积的生理盐水作为正常组。sh-NC 组、sh-lncRNA SNHG6 组大鼠分别尾静脉注射 sh-NC 慢病毒、sh-lncRNA SNHG6 慢病毒; sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-NC 组大鼠尾静脉注射 sh-lncRNA SNHG6 慢病毒和 anti-miR-NC 慢病毒; sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-26a-5p 组大鼠尾静脉注射 sh-lncRNA SNHG6 慢病毒和 anti-miR-26a-5p 慢病毒; AF 组、正常组大鼠均尾静脉注射等量的生理盐水。每周处理 2 次,持续处理 2 周。

1.5 大鼠 AF 持续时间、AF 发生率的检测

末次处理 24 h 后,麻醉所有大鼠,采用 MedLab4C/501H 生物信号采集系统,用标准 II 导联记录大鼠心电图,记录 AF 持续时间、AF 发生率。

1.6 心房组织中 lncRNA SNHG6、miR-26a-5p 及 CTGF mRNA 水平检测

每组随机选取 6 只大鼠,麻醉并处死后,取心脏收集左心房组织,用 TRIzol 试剂提取大鼠心房组织的总 RNA。取 2 μ g RNA 在聚合酶链反应扩增器中合成 cDNA。使用 ABI 7500 qPCR 仪器进行定量反应。引物序列: lncRNA SNHG6 正向: 5'-ATACTTCTGCTTCGTTACCT-3', 反向: 5'-CTCATTTTCATCATTTGCT-3'; miR-26a-5p 正向: 5'-ACACTCCAGCTGGGTTCAA GTAATCCAGGA-3', 反向: 5'-TGGTGTCGTGGAGTCG-3'; CTGF 正向: 5'-TGTGCCTATTGTTCTTGT-3', 反向:

5'-CAGTCACTCAGGTTACAG-3'; U6 正向: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 反向: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; GAPDH 正向: 5'-AATCCCATCACCATCTTCC-3', 反向: 5'-CATCACGCCACAGTTTCC-3'。

1.7 心房组织中活性氧平均荧光强度的检测

每组取剩余的 6 只大鼠,麻醉并处死后,取心脏收集左心房组织,将部分心房组织制成 5 μm 厚的冰冻切片进行 DHE 染色,通过荧光显微镜观察切片中 DHE 的平均荧光强度即为活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 平均荧光强度。

1.8 心房组织中 MDA、SOD 水平的检测

取 1.6 中的心房组织,按照试剂盒说明检测心房组织匀浆中 MDA、SOD 水平。

1.9 心房组织的 Masson 染色

取 1.7 中的心房组织,用 4% 多聚甲醛固定,包埋在石蜡中,并切成 5 μm 厚的切片。将切片用于 Masson 染色,以观察心肌纤维化的程度,使用光学显微镜观察结果。

1.10 心房组织中 collagen I、MMP-9、TGF- β 1、CTGF 蛋白的检测

取 1.6 中的心房组织,使用放射免疫沉淀法裂解缓冲液提取总蛋白。二喹啉甲酸法定量蛋白质浓度。电泳分离蛋白质样品 (50 μg) 后将蛋白质样品电转印到聚偏二氟乙烯膜上。将含有蛋白质样品的聚偏二氟乙烯膜经封闭处理后,与稀释的一抗在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜,这些一抗分别为 collagen I (1 : 3 000)、MMP-9 (1 : 3 000)、TGF- β 1 (1 : 4 000)、GAPDH (1 : 3 000)、CTGF (1 : 6 000),然后与二抗 (1 : 4 000) 孵育 1 h。使用

Image J 软件通过测量条带强度并归一化为 GAPDH 强度来定量聚偏二氟乙烯膜上的抗体阳性蛋白。

1.11 统计学分析

使用 GraphPad Prism 8.0.1 进行数据分析。测量数据被描述为 $\bar{x} \pm s$ 。单因素方差分析及事后 SNK- q 检验用于多组比较, $P < 0.05$ 表示统计学具有显著性。

2 结果

2.1 靶向关系验证

lncRNA SNHG6 与 miR-26a-5p、miR-26a-5p 与 CTGF 可结合,见图 1。miR-26a-5p mimic 和 lncRNA SNHG6-WT 共转染组 (0.32 \pm 0.03) 的荧光素酶活性低于 miR-NC 和 lncRNA SNHG6-WT 共转染组 (1.04 \pm 0.03) ($P < 0.05$); miR-26a-5p mimic 和 CTGF-WT 共转染组 (0.18 \pm 0.01) 的荧光素酶活性低于 miR-NC 和 CTGF-WT 共转染组 (0.99 \pm 0.06) ($P < 0.05$)。

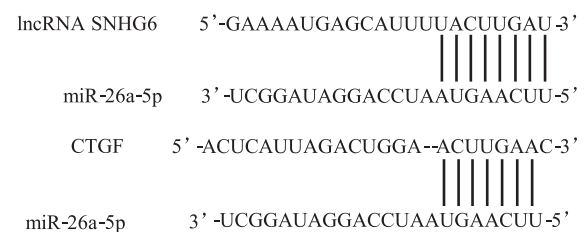


图 1 结合位点图

2.2 各组 AF 持续时间、AF 发生率比较

AF 组 AF 持续时间、AF 发生率高于正常组 ($P < 0.05$); sh-lncRNA SNHG6 组 AF 持续时间、AF 发生率低于 AF 组和 sh-NC 组 ($P < 0.05$); sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-26a-5p 组 AF 持续时间、AF 发生率高于 sh-lncRNA SNHG6 组和 sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-NC 组 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 各组 AF 持续时间、AF 发生率比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	AF 持续时间/s	AF 发生率/%
正常	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
AF	12.78 \pm 0.45 [*]	82.23 \pm 3.72 [*]
sh-NC	12.73 \pm 0.44	81.95 \pm 3.68
sh-lncRNA SNHG6	5.67 \pm 0.19 [#]	43.39 \pm 2.04 [#]
sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-NC	5.71 \pm 0.21	44.73 \pm 2.12
sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-26a-5p	9.88 \pm 0.34 ^{@Δ}	70.75 \pm 3.16 ^{@Δ}

注: * 表示与正常组比较, $P < 0.05$; # 表示与 AF 组比较, $P < 0.05$; Δ 表示与 sh-NC 组比较, $P < 0.05$; @ 表示与 sh-lncRNA SNHG6 组比较, $P < 0.05$; Δ 表示与 sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-NC 组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 各组心房组织中 lncRNA SNHG6、miR-26a-5p 水平及 CTGF mRNA 水平比较

与正常组比较, AF 组 lncRNA SNHG6 水平及 CTGF mRNA 水平升高, miR-26a-5p 水平降低 ($P < 0.05$); 与 AF 组、sh-NC 组比较, sh-lncRNA SNHG6 组

lncRNA SNHG6 水平及 CTGF mRNA 水平降低, miR-26a-5p 水平升高 ($P < 0.05$); 与 sh-lncRNA SNHG6 组、sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-NC 组比较, sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-26a-5p 组 CTGF mRNA 水平升高, miR-26a-5p 水平降低 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 各组心房组织中 lncRNA SNHG6、miR-26a-5p 水平及 CTGF mRNA 水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	lncRNA SNHG6	miR-26a-5p	CTGF mRNA
正常	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
AF	2.69±0.17 [*]	0.26±0.02 [*]	2.01±0.15 [*]
sh-NC	2.71±0.18	0.28±0.02	1.97±0.16
sh-lncRNA SNHG6	1.41±0.11 ^{#&}	0.80±0.07 ^{#&}	1.22±0.10 ^{#&}
sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC	1.43±0.10	0.82±0.07	1.25±0.13
sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-26a-5p	1.42±0.12	0.43±0.03 ^{@Δ}	1.59±0.14 ^{@Δ}

注: * 表示与正常组比较, $P<0.05$; # 表示与 AF 组比较, $P<0.05$; & 表示与 sh-NC 组比较, $P<0.05$; @ 表示与 sh-lncRNA SNHG6 组比较, $P<0.05$; Δ 表示与 sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC 组比较, $P<0.05$ 。

2.4 各组心房组织中 ROS 平均荧光强度及 MDA、SOD 水平比较

与正常组比较, AF 组 ROS 平均荧光强度及 MDA 水平升高, SOD 水平降低 ($P<0.05$); 与 AF 组、sh-NC 组比较, sh-lncRNA SNHG6 组 ROS 平均荧光强度及

MDA 水平降低, SOD 水平升高 ($P<0.05$); 与 sh-lncRNA SNHG6 组、sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC 组比较, sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-26a-5p 组 ROS 平均荧光强度及 MDA 水平升高, SOD 水平降低 ($P<0.05$), 见图 2 和表 3。

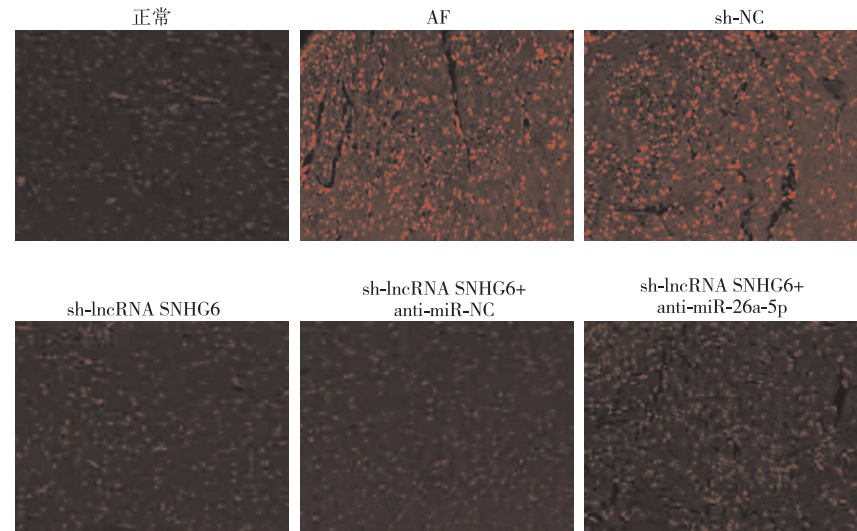


图 2 DHE 染色检测心房组织中 ROS 平均荧光强度($\times 200$)

表 3 各组心房组织中 ROS 平均荧光强度及 MDA、SOD 水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	ROS 平均荧光强度	MDA/($\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$)	SOD/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)
正常	6.12±0.23	2.14±0.11	72.25±3.14
AF	23.79±1.01 [*]	8.35±0.39 [*]	23.36±1.01 [*]
sh-NC	24.22±1.16	8.31±0.35	23.78±1.05
sh-lncRNA SNHG6	10.35±0.41 ^{#&}	3.89±0.12 ^{#&}	60.61±2.83 ^{#&}
sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC	10.46±0.46	3.95±0.13	60.89±2.91
sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-26a-5p	17.72±0.84 ^{@Δ}	5.89±0.16 ^{@Δ}	43.39±2.11 ^{@Δ}

注: * 表示与正常组比较, $P<0.05$; # 表示与 AF 组比较, $P<0.05$; & 表示与 sh-NC 组比较, $P<0.05$; @ 表示与 sh-lncRNA SNHG6 组比较, $P<0.05$; Δ 表示与 sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC 组比较, $P<0.05$ 。

2.5 各组心房组织心肌纤维化程度比较

与正常组比较, AF 组心肌纤维排列无序, 心肌细胞肿胀, 心房组织呈蓝染的纤维化面积增加; 与 AF 组、sh-NC 组比较, sh-lncRNA SNHG6 组心房组织呈蓝

染的纤维化面积减少; 与 sh-lncRNA SNHG6 组、sh-lncRNA SNHG6 + anti-miR-NC 组比较, sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-26a-5p 组心房组织呈蓝染的纤维化面积增加, 见图 3。

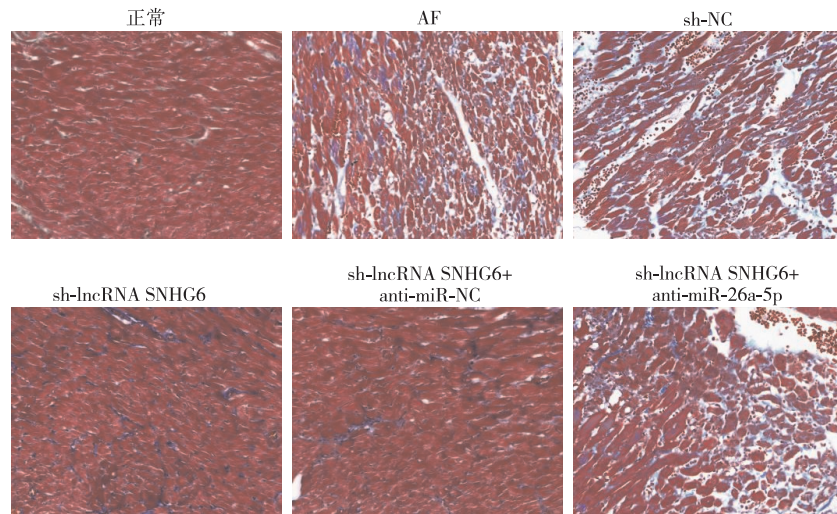
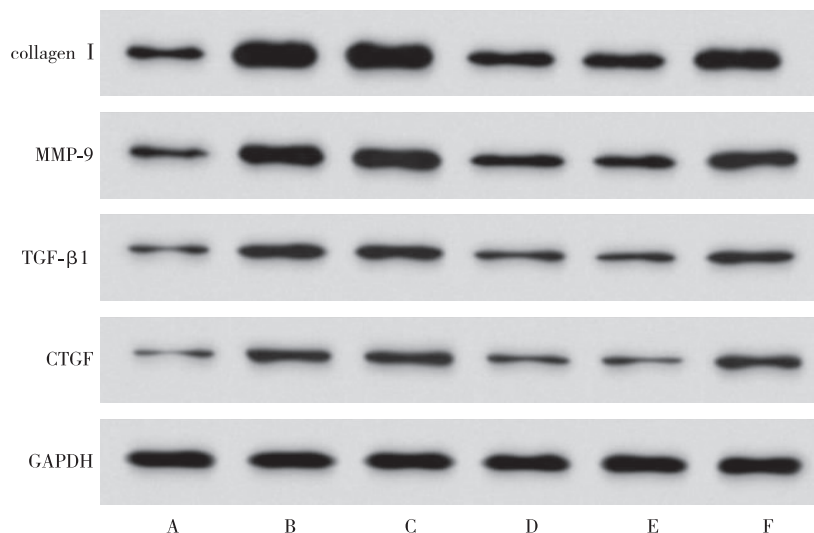


图 3 心房组织的 Masson 染色检测 ($\times 200$)

2.6 各组心房组织中 collagen I、MMP-9、TGF- β 1、CTGF 蛋白水平比较

AF 组 collagen I、MMP-9、TGF- β 1、CTGF 蛋白水平高于正常组 ($P < 0.05$)；sh-lncRNA SNHG6 组 collagen I、MMP-9、TGF- β 1、CTGF 蛋白水平低于 AF

组和 sh-NC 组 ($P < 0.05$)；sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-26a-5p 组 collagen I、MMP-9、TGF- β 1、CTGF 蛋白水平高于 sh-lncRNA SNHG6 组和 sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC 组 ($P < 0.05$)，见图 4 和表 4。



注：A，正常组；B，AF 组；C，sh-NC 组；D，sh-lncRNA SNHG6 组；E，sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC 组；F，sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-26a-5p 组。

图 4 心房组织中 collagen I、MMP-9、TGF- β 1、CTGF 蛋白检测

表 4 各组心房组织中 collagen I、MMP-9、TGF- β 1、CTGF 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	collagen I	MMP-9	TGF- β 1	CTGF
正常	0.65 \pm 0.04	0.41 \pm 0.03	0.28 \pm 0.02	0.12 \pm 0.01
AF	1.96 \pm 0.13 [*]	1.52 \pm 0.14 [*]	0.86 \pm 0.07 [*]	0.61 \pm 0.05 [*]
sh-NC	1.99 \pm 0.14	1.50 \pm 0.13	0.82 \pm 0.06	0.63 \pm 0.06
sh-lncRNA SNHG6	0.87 \pm 0.07 [#]	0.62 \pm 0.05 [#]	0.39 \pm 0.03 [#]	0.23 \pm 0.02 [#]
sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC	0.89 \pm 0.08	0.65 \pm 0.04	0.41 \pm 0.04	0.25 \pm 0.02
sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-26a-5p	1.36 \pm 0.11 [@]	1.03 \pm 0.11 [@]	0.67 \pm 0.05 [@]	0.54 \pm 0.04 [@]

注：^{*}表示与正常组比较， $P < 0.05$ ；[#]表示与 AF 组比较， $P < 0.05$ ；[△]表示与 sh-NC 组比较， $P < 0.05$ ；[@]表示与 sh-lncRNA SNHG6 组比较， $P < 0.05$ ；[△]表示与 sh-lncRNA SNHG6+anti-miR-NC 组比较， $P < 0.05$ 。

3 讨论

AF 是全球普遍存在的重度心律失常疾病。大多数 AF 患者在心脏节律转换后容易反复发作,这可能导致永久性 AF,从而诱发心功能不全和栓塞性疾病^[6]。因此,亟须探索 AF 的发病机制,开发预防和治疗 AF 的新疗法。

大量研究^[7]表明,lncRNA 已经成为心脏发育和疾病的重要调节因子,且在心血管疾病中起着至关重要的作用。如过表达 lncRNA SNHG6 可加重急性心肌梗死小鼠左心室心肌纤维化^[8];干扰 lncRNA SNHG6 能够减弱缺氧复氧诱导的心肌细胞氧化应激损伤^[9]。本研究中 lncRNA SNHG6 在 AF 大鼠心房组织中表达上调,提示 lncRNA SNHG6 在 AF 大鼠中处于失调状态。此外,有证据^[10]表明,心房组织的心肌纤维化对 AF 的维持和延续至关重要。collagen I、MMP-9、TGF- β 1 作为评估纤维化的常用指标,collagen I 的积累是增强组织硬度和导致心脏舒张功能障碍的原因^[11];MMP-9 可以蛋白水解 TGF- β 并释放活化的 TGF- β ^[12],而 TGF- β 1 是公认的促纤维化生物标志物^[13]。于是检测了上述相应指标的变化,结果发现,沉默 lncRNA SNHG6 后,AF 大鼠的 AF 持续时间、AF 发生率及心房组织中 collagen I、MMP-9、TGF- β 1 蛋白水平降低,心房组织呈蓝染的纤维化面积减少,提示沉默 lncRNA SNHG6 可减轻 AF 大鼠心肌纤维化。另有研究^[14-15]报道,氧化应激可促使成纤维细胞转化为肌成纤维细胞,导致心肌纤维化,抑制氧化应激有助于缓解 AF 过程中的心肌纤维化。本研究证明了沉默 lncRNA SNHG6 对 AF 大鼠氧化应激的抑制作用,进而减轻了 AF 大鼠心肌纤维化,提示 lncRNA SNHG6 可能是减轻 AF 过程中心肌纤维化的有效靶点。本研究首次证明了 lncRNA SNHG6 在 AF 心肌纤维化过程中的重要促进作用,这为 AF 的治疗提供了有效的靶点。

目前已有沉默 lncRNA SNHG6 可通过上调 miR-26a-5p 表达改善博来霉素诱导的小鼠肺纤维化的研究^[2]。为了进一步探究沉默 lncRNA SNHG6 改善 AF 大鼠心肌纤维化的机制,本研究检测了 AF 大鼠心房组织中 miR-26a-5p 表达情况,结果显示 miR-26a-5p 在 AF 大鼠心房组织中低表达,且沉默 lncRNA SNHG6 后 AF 大鼠心房组织中 miR-26a-5p 表达上调,于是推测沉默 lncRNA SNHG6 可能通过上调 miR-26a-5p 表达抑制氧化应激进而改善 AF 大鼠心肌纤维化。为了验证上述推测,本研究用 anti-miR-26a-5p 进行回复实验,结果显示 anti-miR-26a-5p 逆转了沉默 lncRNA SNHG6 对 AF 大鼠心肌纤维化的改善作用。证明了推

测是合理的。有研究^[16]报道,过表达 miR-26a-5p 可改善脓毒症小鼠的心肌损伤;过表达 miR-26a-5p 可缓解血管紧张素 II 诱导的小鼠心脏肥大和功能障碍^[17]。以上研究表明 miR-26a-5p 对心肌的保护作用。本研究结果与其基本一致,均证明了 miR-26a-5p 对心肌的保护作用,不同之处在于本研究中的 miR-26a-5p 对心肌的保护作用主要涉及抑制氧化应激与心肌纤维化。这提示 lncRNA SNHG6/miR-26a-5p 轴成为治疗 AF 心肌纤维化的有效靶点。

miRNA 可通过抑制或降解转录后的靶基因 mRNA 来实现 RNA 沉默。本研究证实了 CTGF 为 miR-26a-5p 的靶基因。CTGF 是一种心脏自分泌因子,参与调节各种重要的生物学功能,包括纤维化以及各种心脏病的其他病理过程^[18]。据报道^[19],下调 CTGF 表达可有效改善 AF 大鼠心房纤维化、缩短 AF 持续时间;CTGF 表达升高加剧了慢性心力衰竭大鼠心肌纤维化^[20]。本研究结果与其基本一致,本研究中 AF 大鼠心房组织中 CTGF mRNA 及蛋白表达上调,沉默 lncRNA SNHG6 后 AF 大鼠心房组织中 miR-26a-5p 表达上调而 CTGF mRNA 及蛋白表达下调,且 anti-miR-26a-5p 逆转了沉默 lncRNA SNHG6 对 AF 大鼠心房组织中 CTGF mRNA 及蛋白表达的影响,证明了沉默 lncRNA SNHG6 抑制氧化应激进而改善 AF 大鼠心肌纤维化的机制可能与调控 miR-26a-5p/CTGF 轴有关。lncRNA SNHG6/miR-26a-5p/CTGF 轴有望成为治疗 AF 的有效靶点之一。

综上所述,沉默 lncRNA SNHG6 可能通过调控 miR-26a-5p/CTGF 轴抑制氧化应激进而改善 AF 大鼠心肌纤维化。本研究可能为 AF 的治疗提供新的参考依据。未设置单独的 miR-26a-5p 处理组观察 miR-26a-5p 对 AF 大鼠心肌纤维化的影响是本研究的不足之一,后期将深入探究。

参考文献

- [1] Hao H, Yan S, Zhao X, et al. Atrial myocyte-derived exosomal microRNA contributes to atrial fibrosis in atrial fibrillation[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 407-422.
- [2] Deng W, Zhang Y, Fang P, et al. Silencing lncRNA SNHG6 mitigates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice via miR-26a-5p/TGF- β 1-SMADs axis[J]. *Environ Toxicol*, 2022, 37(10): 2375-2387.
- [3] 何涛,丁安,周文杰,等. miR-26a-5p 下调 DNMT3A 表达抑制心肌成纤维细胞活化增殖的机制研究[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2020, 12(10): 1179-1184.
- [4] 谭珍妮,吕春美,邹海林. lncRNA NEAT1 调节 miR-27b-3p、SP1 对心房颤动大鼠心肌纤维化的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2024, 1(1): 1-16.
- [5] 袁孝伟,赵育洁,陈丰毅,等. 穿心莲内酯调节 YAP/TAZ 信号通路对心房颤动大鼠心肌纤维化的影响[J]. *中药材*, 2023, 46(10): 2585-2590.
- [6] Xu L, Fan Y, Wu L, et al. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells

- with overexpressed Nr12 inhibit cardiac fibrosis in rats with atrial fibrillation[J]. *Cardiovasc Ther*, 2022, 2022:2687807.
- [7] Wang D, Wang X, Yang T, et al. Long non-coding RNA dancr affects myocardial fibrosis in atrial fibrillation mice via the microrna-146b-5p/Smad5 axis[J]. *Acta Cardiol Sin*, 2023, 39(6):841-853.
- [8] 张梦伟, 赵忠帅, 杨林, 等. SNHG6 靶向 miR-101/TGFBR1 促进 AMI 小鼠左心室心肌纤维化[J]. *中南医学科学杂志*, 2023, 51(5):640-644.
- [9] 尤其, 郭辉. LncRNA SNHG6 调控 miR-335-3p/PDCD4 途径对缺氧复氧诱导的心肌细胞损伤的影响[J]. *心电与循环*, 2021, 40(4):355-361.
- [10] Quah JX, Dharmapriani D, Tiver K, et al. Atrial fibrosis and substrate based characterization in atrial fibrillation: time to move forwards[J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2021, 32(4):1147-1160.
- [11] Zhu J, Zhu N, Xu J. MiR-101a-3p overexpression prevents acetylcholine-CaCl₂-induced atrial fibrillation in rats via reduction of atrial tissue fibrosis, involving inhibition of EZH2[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(4):740-749.
- [12] Liu X, Zhao L, Gao Y, et al. AMP-activated protein kinase inhibition in fibro-adipogenic progenitors impairs muscle regeneration and increases fibrosis[J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2023, 14(1):479-492.
- [13] Han X, Wang S, Yong Z, et al. Effect of miR-499-5p/SOX6 axis on atrial fibrosis in rats with atrial fibrillation[J]. *Open Med (Wars)*, 2023, 18(1):20230654.
- [14] Leventopoulos G, Koros R, Travlos C, et al. Mechanisms of atrial fibrillation: how our knowledge affects clinical practice[J]. *Life (Basel)*, 2023, 13(6):1260-1277.
- [15] Koizumi T, Watanabe M, Yokota T, et al. Empagliflozin suppresses mitochondrial reactive oxygen species generation and mitigates the inducibility of atrial fibrillation in diabetic rats[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2023, 10:1005408.
- [16] Luo Y, Xu H, Yang Z, et al. Long non-coding RNA MALAT1 silencing elevates microRNA-26a-5p to ameliorate myocardial injury in sepsis by reducing regulator of calcineurin 2[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2022, 715:109047.
- [17] Shi H, Li H, Zhang F, et al. MiR-26a-5p alleviates cardiac hypertrophy and dysfunction via targeting ADAM17[J]. *Cell Biol Int*, 2021, 45(11):2357-2367.
- [18] Liu N, Zhen Z, Xiong X, et al. Aerobic exercise protects MI heart through miR-133a-3p downregulation of connective tissue growth factor[J]. *PLoS One*, 2024, 19(1):e0296430.
- [19] 石晶晶, 孟昊, 寿鑫甜, 等. 芪珀生脉颗粒通过调节 PI3K/S6K1 信号通路改善心房颤动大鼠心房肌纤维化[J]. *北京中医药*, 2022, 41(10):1079-1083.
- [20] 霍雨佳, 阳远舟, 邹成丽, 等. 汉黄芩素调节 Hippo/YAP 信号通路对慢性心力衰竭大鼠心肌纤维化的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2024, 22(15):2740-2745.

收稿日期:2024-08-27

《心血管病学进展》对投稿中表格制作的要求

表格可用全线表、省线表(如三线表)和无线表。表格应是完整的、可独立存在的形象化语言,表格的内容应简洁直观,以数字表达为主,避免与文字表述过于重复,同时表格应具有自明性。

1. 表格的组成。(1)表序和表题:表序即表格的序号,一篇论文中如只有一个表格则表序编为“表1”,有两个及以上的表格,应按先后标出表的序号。序号用阿拉伯数字表示,置于表的上方。表题应准确得体、简洁精练,中间不用标点,末尾不加句号。(2)表头:对表格各行和各列单元格内容进行概括和提示的栏目,反映了表身中该栏信息的特征或属性。(3)表身:表头之外的单元格总体,是表格的主体,表身中单元格内的数值不宜带单位;表身中如果一个单元格的包含两个数据,其中一个数据应用括号,同时需要在表头或标注中说明;表身中单元格内可使用空白或一字线“—”填充,如果需要区别数据“不适用”和“无法获得”,前者可采用空白单元格,后者可采用一字线,并在正文或标注中说明这种区别。(4)表注:必要时,应将表中的符号、标记、代码,以及需要说明的事项,以最简练的文字,横排于表身下。

2. 表格制作的要求。(1)主谓清楚:表的横表头为主语,指表中所要说明的对象;纵表头为谓语,表示对主语的说明,读表的顺序为:主语→谓语→数据。特殊情况时,主、谓语可以换位,但换位后的主谓语的性质不变。作者在设计表格时,应力求科学、准确、一目了然。一个好的表格应具有语言学上的逻辑性,即主谓清楚、层次分明、标目合理。(2)数字准确:表格内的数字应准确无误,一律用阿拉伯数字,上下个位数对齐,数字中如有“±”或“~”号,则以其为中心对齐。表内不宜用“同上”“同左”“同类”词,须填入具体的数字或文字。(3)表格内的单位:表头中量和单位的标注形式应为“量的名称或符号/单位符号”;表格中涉及的单位全部相同时,宜在表的右上方统一标注。(4)表格中的统计学符号:论文中的显著性检验,只在表下注释 *P* 值是不够的,应将检验方法、计算结果及 *P* 值均列出,以便读者进一步了解实际差异的大小。

本刊编辑部