DOI:10.16016/j.2097-0927.202303160

miR-669a-5p 通过 AMPK/PGC1α 信号通路改善心力衰竭小鼠心肌细胞能量代谢

蔡明茗[1],周双珊[1],刘 源[1],石毓君[2],苏 立[1] 400014 重庆,重庆医科大学附属第二医院心血管内科[1];610041 成都,四川大学华西医院病理研究室[2]

[**摘要**] **目的** 探讨主动脉弓缩窄(transverse aortic constriction,TAC)诱导的小鼠衰竭心肌中 miR-669a-5p 的表达变化,并进一步研究 miR-669a-5p 对心力衰竭小鼠的作用及可能机制。**方法** 将 24 只小鼠按随机数字表法分为假手术组(Sham 组,$n=8$)和手术组($n=16$,建立 TAC 心力衰竭模型)。TAC 术后第 4 周将手术组随机分为模型组(TAC 组,$n=8$)及 miR-669a-5p agomir 组(Agomir 组,$n=8$),Sham 组、TAC 组及 Agomir 组连续 4 周尾静脉分别注射生理盐水、agomir 阴性对照试剂及 agomir 试剂,2 次/周。第 8 周行超声心动图评估各组小鼠心功能;HE、天狼星红及 WGA 免疫荧光染色观察小鼠心肌组织病理学变化。RT-qPCR 检测小鼠心肌组织 miR-669a-5p 及氧化磷酸化相关基因(*ND1*、*ND2*、*NDUFA4*、*ATP5O*)的表达。ATP 检测试剂盒检测各组心肌组织 ATP 浓度。Western blot 检测心肌组织 p-AMPK、AMPK、PGC-1α 蛋白表达水平变化。**结果** 与 Sham 组比较,TAC 组小鼠心肌 miR-669a-5p 表达显著减少($P<0.05$)。超声检测结果显示:Agomir 组小鼠心脏射血能力、收缩与舒张功能较 TAC 组明显改善($P<0.05$)。组织切片染色显示:与 TAC 组比较,Agomir 组可见心肌细胞排列紊乱、心肌纤维化及心肌细胞横截面积等有明显改善($P<0.05$)。与 TAC 组比较,Agomir 组 ATP 水平较 TAC 组明显升高($P<0.05$),且 *ND1*、*ND2*、*NDUFA4*、*ATP5O* 基因相对表达量均显著升高($P<0.05$)。Agomir 组小鼠心肌组织 p-AMPK/AMPK、PGC1α 蛋白水平表达较 TAC 组显著增加($P<0.05$)。**结论** miR-669a-5p 可以显著改善主动脉弓缩窄诱导的心力衰竭小鼠心功能及心室重构,其机制可能是通过调控 AMPK/PGC1α 信号通路进而改善小鼠心肌细胞能量代谢。

[**关键词**] miR-669a-5p;心力衰竭;能量代谢;氧化磷酸化;AMPK/PGC1α

[**中图法分类号**] R322.11;R363.25;R541.6 [**文献标志码**] A

MiR-669a-5p improves cardiomyocyte energy metabolism *via* AMPK/PGC1α signaling pathway in mice with heart failure

CAI Mingming[1], ZHOU Shuangshan[1], LIU Yuan[1], SHI Yujun[2], SU Li[1] [1]Department of Cardiovascular Diseases, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400014; [2]Department of Pathology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province, 610041, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the change in expression of microRNA-669a-5p (miR-669a-5p) in mice with heart failure (HF) induced by transverse aortic constriction (TAC) and to further explore the role and possible mechanism of miR-669a-5p in HF mice. **Methods** Twenty-four mice were randomly divided into the sham surgery group (Sham group, $n=8$) and the surgery group ($n=16$, TAC induced HF model). In the 4th week after TAC surgery, the mice from the surgery group was randomized into the model group (TAC group, $n=8$) and miR-669a-5p agomir group (Agomir group, $n=8$). Normal saline, agomir negative control and agomir reagent were respectively injected *via* tail vein into the corresponding groups, twice

[**基金项目**] 国家自然科学基金面上项目(81974036)

[**通信作者**] 苏 立,E-mail:sulicq@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

a week for 4 weeks. In the 8th week after TAC, the cardiac function of each group was measured by echocardiography. HE, Sirius red and WGA staining were used to observe the pathological changes in the myocardium tissues. The expression of miR-669a-5p and oxidative phosphorylation related genes (*ND1*, *ND2*, *NDUFA4* and *ATP5O*) were detected by RT-qPCR. The ATP content of myocardial tissues in each group was measured by ATP assay kit. The protein levels of AMPK, p-AMPK and PGC-1α were detected by Western blotting. **Results** The expression of miR-669a-5p was significantly decreased in the TAC group compared with the Sham group ($P<0.05$). Compared with those in the TAC group, echocardiography showed that the Agomir group significantly improved cardiac function ($P<0.05$), as well as histopathological analysis suggested that the Agomir group significantly improved cardiac remodeling ($P<0.05$). The ATP levels in the Agomir group were significantly higher than that in the TAC group ($P<0.05$), and the mRNA levels of *ND1*, *ND2*, *NDUFA4* and *ATP5O* were dramatically higher ($P<0.05$). Western blotting showed that the protein levels of p-AMPK/AMPK and PGC1α were significantly up-regulated in the Agomir group compared with the TAC group ($P<0.05$). **Conclusion** MiR-669a-5p significantly improves cardiac function and cardiac remodeling in mice with TAC-induced HF, and the mechanism may be associated with the up-regulation of AMPK/PGC1α signaling pathway and further improvement of myocardial energy metabolism in mice.

[**Key words**] miR-669a-5p; heart failure; energy metabolism; oxidative phosphorylation; AMPK/PGC1α

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81974036). Corresponding author: SU Li, E-mail: sulicq@163.com

心力衰竭是因心脏泵血功能不足而引起的临床综合征,是多种心血管疾病发展的终末阶段。在全球范围内,心力衰竭的住院率以及死亡率日益升高。心脏是一个需要高能量的器官,并且必须持续以高速率产生 ATP 来维持舒张与收缩功能,超过 95% 的 ATP 主要产生于线粒体的氧化磷酸化。有学者将心力衰竭比作没有燃料的发动机,认为心力衰竭的特征是能量代谢的改变导致能量产生不足,其中包括心肌底物利用的改变、氧化磷酸化改变以及高能磷酸盐代谢的改变,进一步促进心力衰竭的进展[1-4]。因此靶向能量代谢使治疗心力衰竭成为一种可能[5]。

腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase,AMPK)是真核生物体内的保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可以通过感知胞内 ATP/AMP 比值来调节能量代谢[6]。过氧化物酶体增殖物激活受体-γ 共激活因子-1α(peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 alpha,PGC1α)可以调节线粒体生物发生和线粒体能量代谢,而 PGC1α 能够受到能量感受器 AMPK 的调节,并且磷酸化的 AMPK 可激活 PGC1α[7]。因此 AMPK/PGC1α 在能量代谢中发挥着重要的作用[8]。

微小 RNA(microRNA,miRNA)是一类内源性单链小非编码 RNA 分子,长度约为 22 个核苷酸。越来越多的研究表明 miRNA 在心血管疾病中发挥重要的作用,参与调控各种心血管疾病的发生与发展[9-11]。已有研究报道 miR-669a-5p 对扩张型心肌病小鼠的心功能不全具有改善作用,但 miR-669a-5p 在心力衰竭中对心功能的作用及机制目前尚不清楚。本研究拟通过主动脉弓缩窄建立心力衰竭小鼠模型,探讨 miR-669a-5p 在心力衰竭的表达以及对心力衰竭能量代谢的影响,并进一步研究其可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

8~10 周龄 C57BL/6 雄性小鼠,体质量 22~25 g,由四川大学华西医院病理研究室提供,在实验进行前适应性喂养 1 周,自由进水进食,12/12 h 明暗交替照明,严格按照 SPF 级饲养条件进行喂养。

1.2 主要实验试剂

异氟烷购自深圳瑞沃德公司;miR-669a-5p agomir 及 agomir 阴性对照试剂、U6 及 miR-669a-5p RT-qPCR 引物购自广州市锐博生物科技公司;HE 染色试剂盒、天狼星红染色试剂盒购自贝索生物技术公司;WGA 荧光抗体购自美国 Life Technology 公司;增强型三磷酸腺苷(ATP)检测试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物技术公司;miRNeasy 提取试剂盒购自德国 QIAGEN 公司;反转录试剂盒、SYBR QPCR 试剂盒购自南京诺唯赞生物科技公司;AMPK 抗体购自成都

正能公司,PGC-1α 抗体购自华安生物公司,p-AMPK、GAPDH 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.3 实验模型建立及分组给药方式

1.3.1 建立主动脉弓缩窄模型 按照随机数字表法将 24 只 C57BL/6 雄性小鼠分为假手术组(Sham 组,n=8)和手术组(n=16)。采用 3%异氟烷+1 L/min 氧气流量对小鼠进行诱导麻醉,将小鼠以头朝向术者、仰卧位固定于恒温加热垫上,改用 1.5%异氟烷+1 L/min 氧气流量进行小鼠维持麻醉。手术区域脱毛后消毒,显微镜下从胸骨上窝正中线剪开胸骨至第二肋骨,约 5 mm,牵拉两侧胸骨暴露并分离胸腺,显露出主动脉弓。将 27 G 钝针(直径 0.4 mm)平行地置于主动脉弓上,使用 6-0 丝线结扎主动脉弓后缓慢拔出针头。观察到右侧颈总动脉搏动明显大于左侧颈总动脉示为结扎成功。确认无出血后,关胸,逐层缝合。Sham 组小鼠开胸后同样操作,但不结扎主动脉弓。

1.3.2 给药方式 于 TAC 术后第 4 周,将手术组再次随机分为模型组(TAC 组,n=8)及 miR-669a-5p agomir 组(Agomir 组,n=8)。Agomir 组及 TAC 组分别尾静脉注射 miR-669a-5p agomir 及 agomir 阴性对照试剂 5 nmol/次(溶于 100 μL 生理盐水),Sham 组尾静脉注射同剂量生理盐水,每周 2 次,连续 4 周。

1.4 检测方法

1.4.1 小鼠超声心动图 TAC 术后第 8 周,进行小鼠超声心动图检测。使用 2%异氟烷+1 L/min 氧气流量对小鼠进行全身麻醉,仰卧位固定于操作台,胸部备皮。于胸骨旁左心室长轴切面采集二维和 M 型超声图像,测量反映心功能的指标:左心室收缩末内径(left ventricular end-systolic diameter,LVIDs)、左心室舒张末内径(left ventricular end-diastolic diameter,LVIDd)、左心室后壁舒张末厚度(left ventricular posterior wall end-diastolic thickness,LVPWd)、射血分数(ejection fraction,EF)及左心室短轴缩短率(fractional shortening rate,FS)等。

1.4.2 心脏大体观以及心脏质量与体质量比值 小鼠超声心动图测量后,称取并记录小鼠体质量。麻醉后处死小鼠,完整取出心脏后拍照并称取量。计算并记录心脏质量(mg)/体质量(g)。

1.4.3 心脏组织病理学分析 将心肌组织中段浸泡在 10%中性福尔马林 48 h,石蜡包埋后并做 4 μm 厚度连续切片。脱蜡后,行 HE 染色镜下观察心肌细胞形态及其排列,天狼星红染色观察心肌纤维化,WGA 免疫荧光染色(抗体浓度 1∶500)观察心肌细胞横截面积。

1.4.4 心肌组织 ATP 水平 根据试剂盒说明书进行操作,以 20 mg 心肌组织/200 μL 裂解液的比例,称取心肌组织并加入相应体积的裂解液,充分匀浆并裂解后离心,将上清液置于冰上保存用于后续操作。待测孔加入 100 μL ATP 工作液(1∶4稀释 ATP 检测试剂),室温放置 3~5 min。每孔分别加入 50 μL 样品或适当浓度的标准品,混匀后测定 RLU 值,根据标准曲线计算样品中 ATP 浓度。余下的样品使用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒检测蛋白浓度,将 ATP 浓度换算成 nmol/mg。

1.4.5 RT-qPCR 检测 根据 RNA 提取试剂盒说明书,称取 10 mg 心肌组织提取含 miRNA 的总 RNA。根据 miRNA 茎环法反转录试剂盒说明书以 U6 为内参,将 U6 和 miR-669a-5p 分别反转录为相应的 cDNA(42 ℃ 2 min;25 ℃ 5 min→50 ℃ 15 min→85 ℃ 5 min)后再进行 40 个循环 qPCR 检测(95 ℃ 5 min→95 ℃ 10 s→60 ℃ 30 s)。提取的总 RNA 根据试剂盒说明书反转录为 cDNA(42 ℃ 2 min;37 ℃ 15 min→85 ℃ 5 s)后再进行 40 个循环 qPCR 检测(95 ℃ 30 s→95 ℃ 10 s→60 ℃ 30 s)。运用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 对结果量化并进行统计分析。具体引物序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

基因	序列(5′→3′)
ND1	正义:CCCATTCTAATCGCCATAGCCTTCC
	反义:TGCCGTATGGACCAACAATGTTAGG
ND2	正义:GGGCATGAGGAGGACTTAACCAAAC
	反义:TGAGGTTGAGTAGAGTGAGGGATGG
NDUFA4	正义:AAACATGCTCCGCCAGATCC
	反义:GTGCCAAGCGCATCACATAC
ATP5O	正义:TGTTCAGGTCTACGGCATCG
	反义:GGTGCGCTTGATGTAGGGAT
RPS11	正义:AGATGAAGATGCAGAGGACCATT
	反义:GACGCTTCTCAAAGCGATTGT

1.4.6 Western blot 检测 称取小鼠心肌组织后加入 RIPA 裂解液,充分匀浆,冰上裂解离心后,取上清。用 BCA 法测定样品蛋白浓度。根据剩余上清液体积加入 5×蛋白上样缓冲液,充分混匀后煮沸变性。使用 SDS-PAGE 凝胶电泳,在冰浴条件下将蛋白印迹转印至 PVDF 膜上。5%脱脂牛奶室温封闭 2 h 后,一抗 GAPDH(1∶1 000)、AMPK(1∶500)、p-AMPK(1∶1 000)、PGC1α(1∶1 000)4 ℃孵育过夜。TBST 洗膜后加入兔二抗(1∶5 000)室温孵育 1 h,TBST 洗膜。配制 ECL 化学发光液,凝胶成像仪曝光。采用 Image J 软件分析

条带灰度值。

1.5 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行分析。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间数据比较采用独立样本 t 检验,多组间数据比较采用单因素方差分析。检验水准:$\alpha=0.05$。

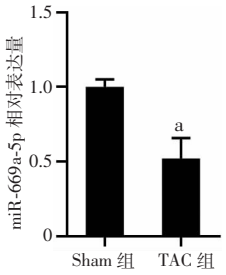
2 结果

2.1 小鼠心功能超声心动图检查结果

予以 miR-669a-5p agomir 输注后第 4 周(即主动脉弓缩窄术后第 8 周),超声心动图检测各组小鼠心功能。结果显示:与 Sham 组小鼠比较,TAC 组小鼠 EF 及 FS 明显下降($P<0.05$,表 2),LVIDs、LVIDd、LVPWd 明显增大($P<0.05$,表 2),提示主动脉弓缩窄手术成功并且导致小鼠心功能明显恶化。而与 TAC 组比较,Agomir 组的 EF 及 FS 明显升高($P<0.05$,表 2),LVIDd、LVIDs 及 LVPWd 明显减少($P<0.05$,表 2)。提示体内过表达 miR-669a-5p 可以改善主动脉弓缩窄诱导的小鼠收缩与舒张功能障碍。

2.2 小鼠衰竭心肌组织中 miR-669a-5p 的表达

RT-qPCR 检测小鼠心肌组织 miR-669a-5p 的相对表达量。结果显示,与 Sham 组比较,TAC 组的 miR-669a-5p 表达水平显著下降($P<0.05$,图 1)。此结果提示:在主动脉弓缩窄诱导的心力衰竭小鼠中,心肌组织 miR-669a-5p 的表达明显减少。



a:$P<0.05$,与 Sham 组比较

图 1 miR-669a-5p 在小鼠衰竭心肌组织中的表达($n=8,\bar{x}\pm s$)

2.3 小鼠心脏大体观察

与 Sham 组比较,TAC 组小鼠心脏大体外观明显增大,且心脏质量与体质量的比值显著增加($P<0.05$,图 2);而 Agomir 组心脏大体外观以及心脏质量与体质量比值较 TAC 组明显改善,差异具有统计学意义($P<0.05$,图 2)。

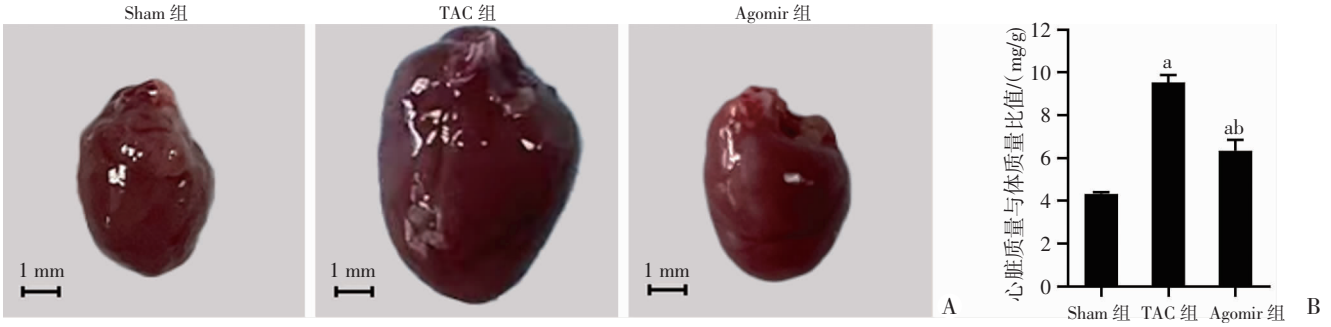
2.4 小鼠心脏组织病理学分析

显微镜下切片染色结果显示:与 Sham 组小鼠比较,TAC 组小鼠表现为显著的心肌细胞排列紊乱、心肌纤维化及心肌细胞横截面积显著增加;而与 TAC 组比较,Agomir 组可明显改善心肌细胞排列紊乱、心肌纤维化及心肌细胞横截面积($P<0.05$,图 3)。提示 miR-669a-5p 可明显改善主动脉弓缩窄诱导的心室重塑。

表 2 miR-669a-5p 对心力衰竭小鼠的心功能影响($n=8,\bar{x}\pm s$)

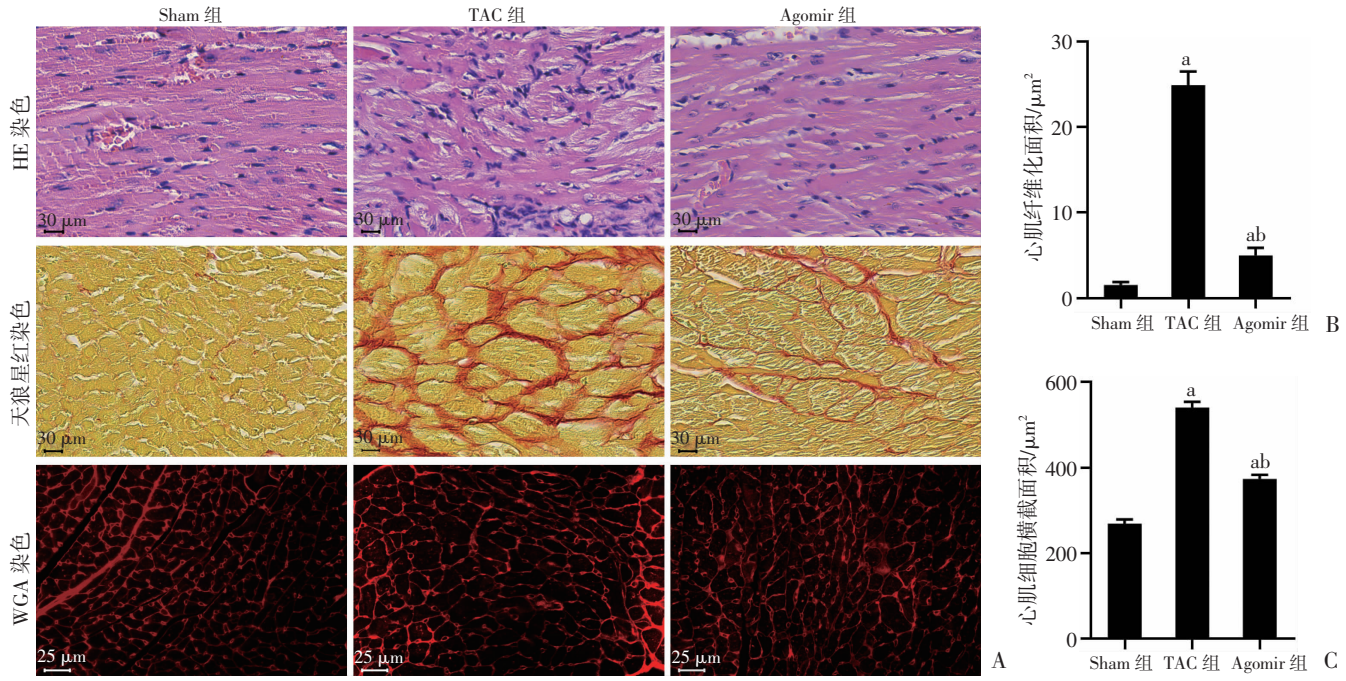
组别	LVIDd/mm	LVIDs/mm	LVPWd/mm	EF/%	FS/%
Sham 组	3.181±0.29	2.010±0.24	0.8208±0.10	68.16±4.53	37.04±3.40
TAC 组	3.925±0.17[a]	3.249±0.19[a]	0.9914±0.09[a]	39.03±4.33[a]	18.64±2.33[a]
Agomir 组	3.534±0.36[b]	2.681±0.48[ab]	0.8224±0.07[b]	51.88±8.48[ab]	26.20±4.95[ab]

a:$P<0.05$,与 Sham 组比较;b:$P<0.05$,与 TAC 组比较



A:各组心脏大体外观;B:各组心脏质量/体质量比值($n=8,\bar{x}\pm s$) a:$P<0.05$,与 Sham 组比较;b:$P<0.05$,与 TAC 组比较

图 2 各组小鼠心脏大体外观及心脏质量与体质量比值分析



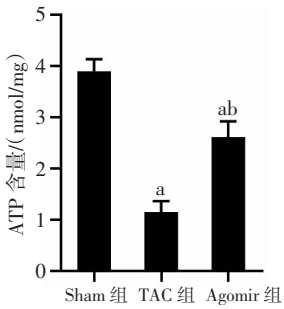
a:$P<0.05$,与 Sham 组比较;b:$P<0.05$,与 TAC 组比较

A:各组小鼠心肌组织病理学观察;B:各组心肌纤维化面积;C:各组心肌细胞横截面积比较

图 3 各组小鼠心脏病理切片染色结果($n=8$,$\bar{x}\pm s$)

2.5 小鼠心肌组织 ATP 水平比较

与 Sham 组比较,TAC 组心肌组织 ATP 水平显著下降($P<0.05$);与 TAC 组比较,Agomir 组 ATP 水平明显升高($P<0.05$,图 4),表明 miR-669a-5p 可改善主动脉弓缩窄诱导的衰竭心肌组织 ATP 含量。



a:$P<0.05$,与 Sham 组比较;b:$P<0.05$,与 TAC 组比较

图 4 各组小鼠心肌组织 ATP 含量($n=8$,$\bar{x}\pm s$)

2.6 小鼠心肌组织氧化磷酸化相关基因的相对表达

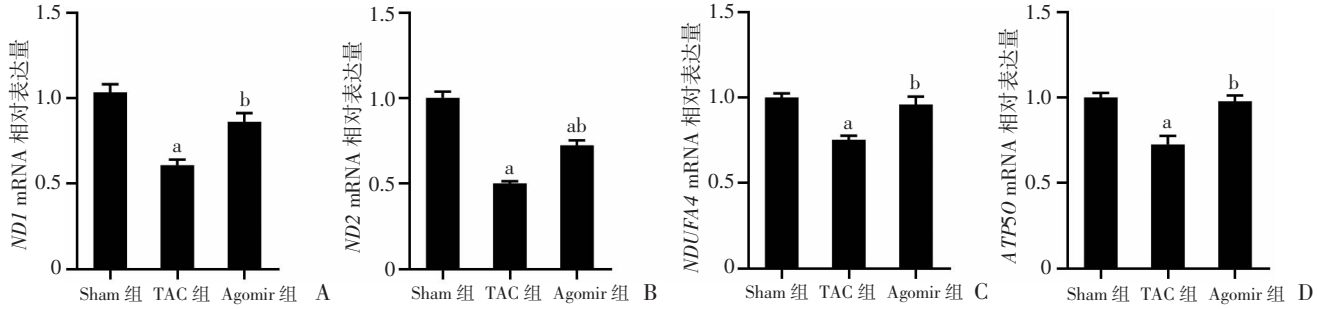
与 Sham 组比较,TAC 组中与氧化磷酸化有关的 NADH 脱氢酶亚基 1(NADH dehydrogenase subunit 1,*ND1*)、NADH 脱氢酶亚基 2(NADH dehydrogenase subunit 2,*ND2*)、NADH 脱氢酶 1α 亚复合物 4(NADH Dehydrogenase 1 alpha subcomplex 4,*NDUFA4*)、ATP 合酶亚基 O(ATP synthase subunit O,*ATP5O*)基因 mRNA 相对表达量均明显下降($P<0.05$);与 TAC 组比较,Agomir 组中 *ND1*、*ND2*、*NDUFA4*、*ATP5O* 基因 mRNA 相对表达量均显著升高($P<0.05$,图 5),表明补充 miR-669a-5p 可增加氧化磷酸化相关亚基的表达。

2.7 小鼠心肌组织 AMPK/PGC1α 信号通路蛋白表达水平

与 Sham 对比,TAC 组小鼠心肌组织中 p-AMPK/AMPK、PGC1α 蛋白水平表达明显降低($P<0.05$,图 6);与 TAC 组比较,Agomir 组小鼠心肌组织 p-AMPK/AMPK、PGC1α 蛋白水平表达显著增加($P<0.05$,图 6)。提示输注 miR-669a-5p 后可激活 AMPK/PGC1α 通路。

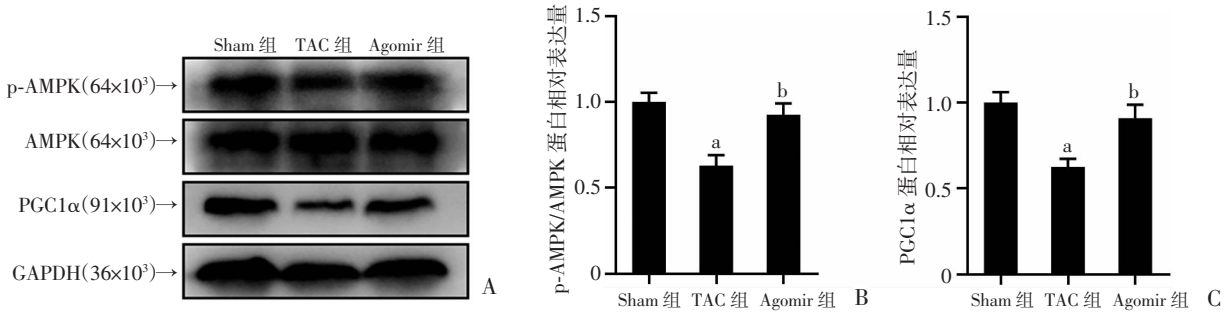
3 讨论

随着全球人口老龄化,心力衰竭的发病率也日益增加,而随之带来的就是死亡率的增加以及巨大的经济压力,因而探寻治疗心力衰竭的方法尤为重要。越来越多的学者认为心力衰竭是能量代谢不足的表现,所以改善衰竭心肌的能量代谢紊乱是一种有希望的治疗方式。本研究发现,通过尾静脉注射 miR-669a-5p 激动剂能够改善主动脉弓缩窄诱导的心功能紊乱、心室重构,这种改善作用可能是通过调节能量代谢相关的 AMPK/PGC1α 通路,进而改善衰竭心肌的 ATP 产生减少以及氧化磷酸化紊乱。



a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;b: $P<0.05$,与 TAC 组比较

图 5 各组小鼠心肌组织氧化磷酸化 *ND1*(A)、*ND2*(B)、*NDUFA4*(C)、*ATP5O*(D)基因的相对表达情况($n=8$,$\bar{x}\pm s$)



A:Western Blot 检测结果;B、C:蛋白半定量分析 a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;b: $P<0.05$,与 TAC 组比较

图 6 各组小鼠心肌组织 AMPK/PGC1α 信号通路蛋白表达情况($n=8$,$\bar{x}\pm s$)

近年来,大量研究证明 miRNA 在心血管疾病中扮演着重要的角色。有研究发现体内过表达 miR-669a-5p 可治疗肌肉营养不良症引起的扩张性心肌病,提高 FS,并改善心脏肥厚性重塑、纤维化和心肌细胞凋亡[12]。本研究通过构建主动脉弓缩窄诱导的心力衰竭小鼠,发现在衰竭心肌中 miR-669a-5p 明显下降,通过尾静脉输注 miR-669a-5p agomir 后,超声心动图结果提示 miR-669a-5p 可以明显改善心力衰竭导致的心脏射血能力不足及收缩和舒张功能障碍。通过病理组织切片染色也发现 miR-669a-5p 能改善主动脉弓缩窄诱导的心室重构,明显改善心力衰竭中心肌细胞排列紊乱,并减轻心肌细胞肥大及纤维化的严重程度。

线粒体氧化磷酸化能够产生心肌细胞所需要能量的 95%,而线粒体呼吸链复合体Ⅰ~Ⅴ以及 2 个移动电子载体参与氧化磷酸化[13-14]。其中 *ND1*、*ND2*、*NDUFA4*、*ATP5O* 分别是线粒体呼吸链复合体Ⅰ、Ⅳ、Ⅴ的亚基之一,在氧化磷酸化中发挥重要的作用[15]。衰竭的心肌会发生物质代谢紊乱,ATP 产生减少以及氧化磷酸化功能受损,进而不能维持正常的生命活动[16]。本研究结果显示,与 Sham 组比较,TAC 组的心肌 ATP 浓度显著下降,且 *ND1*、*ND2*、*NDUFA4*、*ATP5O* 基因 mRNA 表达明显降低,而补充 miR-669a-5p 后可提高心力衰竭小鼠的 ATP 浓度以及 ND*1*、ND*2*、NDUFA*4*、ATP5O 基因 mRNA 的表达。这说明 miR-669a-5p 可能是通过改善心肌能量产生紊乱以起到保护的作用。有研究报道脂肪细胞中过表达 miR-669a-5p 后可使氧化磷酸化相关基因 mRNA 表达升高[17],说明 miR-669a-5p 对氧化磷酸化有促进作用从而进一步增加 ATP 的产生。

AMPK/PGC1α 轴是调控能量代谢的重要信号通路[18]。研究发现,在心力衰竭中,AMPK 活性降低且 PGC1α 表达减少,并伴有线粒体结构和功能受损[19-21]。通过增强 AMPK/PGC1α 活性以及增加蛋白的表达,可以促进 ATP 能量的产生,以此对心力衰竭起到改善作用[19,22-23]。这与本研究结果一致,与 Sham 组比较,在 TAC 组中,p-AMPK/AMPK 及 PGC1α 蛋白表达明显下降,而补充 miR-669a-5p 后,p-AMPK/AMPK 及 PGC1α 显著升高。因此,miR-669a-5p 可能通过激活 AMPK/PGC1α 通路改善主动脉弓缩窄导致的心肌能量下降,从而保护衰竭的心肌。

综上,本研究结果发现在小鼠衰竭心肌中 miR-669a-5p 明显下降,而通过尾静脉注射 miR-669a-5p agomir 后可明显改善心力衰竭导致的心功能不全、心室重构以及能量代谢紊乱,其机制可能是通过调控

AMPK/PGC1α 信号通路实现的。但本实验结果未能发现 miR-669a-5p 在改善能量代谢机制中的直接靶向基因,需进一步深入研究。

参考文献:

[1] NEUBAUER S. The failing heart: an engine out of fuel[J]. N Engl J Med,2007,356(11): 1140-1151. DOI: 10.1056/NEJMra063052.

[2] LOPASCHUK G D, KARWI Q G, TIAN R, *et al*. Cardiac energy metabolism in heart failure[J]. Circ Res, 2021, 128(10): 1487-1513. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318241.

[3] BERTERO E, MAACK C. Metabolic remodelling in heart failure[J]. Nat Rev Cardiol, 2018, 15(8): 457-470. DOI: 10.1038/s41569-018-0044-6.

[4] CHEN L, SONG J P, HU S S. Metabolic remodeling of substrate utilization during heart failure progression[J]. Heart Fail Rev, 2019, 24(1): 143-154. DOI: 10.1007/s10741-018-9713-0.

[5] PIQUEREAU J, BOITARD S E, VENTURA-CLAPIER R, *et al*. Metabolic therapy of heart failure: is there a future for B vitamins? [J]. Int J Mol Sci, 2021, 23(1): 30. DOI: 10.3390/ijms23010030.

[6] FENG Y N, ZHANG Y Y, XIAO H. AMPK and cardiac remodelling[J]. Sci China Life Sci, 2018, 61(1): 14-23. DOI: 10.1007/s11427-017-9197-5.

[7] RIUS-PÉREZ S, TORRES-CUEVAS I, MILLÁN I, *et al*. PGC-1 α, inflammation, and oxidative stress: an integrative view in metabolism[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 1452696. DOI: 10.1155/2020/1452696.

[8] WU C N, ZHANG Z, ZHANG W D, *et al*. Mitochondrial dysfunction and mitochondrial therapies in heart failure[J]. Pharmacol Res, 2022, 175: 106038. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.106038.

[9] LU P, DING F, XIANG Y K, *et al*. Noncoding RNAs in cardiac hypertrophy and heart failure[J]. Cells, 2022, 11(5):777. DOI: 10.3390/cells11050777.

[10] COLPAERT R M W, CALORE M. microRNAs in cardiac diseases[J]. Cells, 2019, 8(7): 737. DOI: 10.3390/cells8070737.

[11] ZHOU S S, JIN J P, WANG J Q, *et al*. miRNAS in cardiovascular diseases: potential biomarkers, therapeutic targets and challenges[J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(7): 1073-1084. DOI: 10.1038/aps.2018.30.

[12] QUATTROCELLI M, CRIPPA S, MONTECCHIANI C, *et al*. Long-term miR-669a therapy alleviates chronic dilated cardiomyopathy in dystrophic mice[J]. J Am Heart Assoc, 2013, 2(4): e000284. DOI: 10.1161/JAHA.113.000284.

[13] DOENST T, NGUYEN T D, ABEL E D. Cardiac metabolism in heart failure: implications beyond ATP production[J]. Circ Res, 2013, 113(6): 709-724. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.113.300376.

[14] NOLFI-DONEGAN D, BRAGANZA A, SHIVA S. Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement[J]. Redox Biol, 2020, 37: 101674. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101674.

[15] VERCELLINO I, SAZANOV L A. The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2022, 23(2): 141-161. DOI: 10.1038/s41580-021-00415-0.

[16] ZHOU B, TIAN R. Mitochondrial dysfunction in pathophysiology of heart failure[J]. J Clin Invest, 2018, 128(9): 3716-3726. DOI: 10.1172/JCI120849.

[17] TAN X Q, ZHU T T, ZHANG L Q, *et al*. MiR-669a-5p promotes adipogenic differentiation and induces browning in preadipocytes[J]. Adipocyte, 2022, 11(1): 120-132. DOI: 10.1080/21623945.2022.2030570.

[18] PACKER M. Longevity genes, cardiac ageing, and the pathogenesis of cardiomyopathy: implications for understanding the effects of current and future treatments for heart failure[J]. Eur Heart J, 2020, 41(39): 3856-3861. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa360.

[19] LI X, LIU J, LU Q G, *et al*. AMPK: a therapeutic target of heart failure-not only metabolism regulation[J]. Biosci Rep, 2019, 39(1): BSR20181767. DOI: 10.1042/BSR20181767.

[20] KIM T T, DYCK J R B. Is AMPK the savior of the failing heart? [J]. Trends Endocrinol Metab, 2015, 26(1): 40-48. DOI: 10.1016/j.tem.2014.11.001.

[21] BENNETT C F, LATORRE-MURO P, PUIGSERVER P. Mechanisms of mitochondrial respiratory adaptation[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2022, 23(12): 817-835. DOI: 10.1038/s41580-022-00506-6.

[22] SHU H Y, HANG W J, PENG Y Z, *et al*. Trimetazidine attenuates heart failure by improving myocardial metabolism *via* AMPK[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 707399. DOI: 10.3389/fphar.2021.707399.

[23] WU R M, JIANG B, LI H, *et al*. A network pharmacology approach to discover action mechanisms of Yangxinshi Tablet for improving energy metabolism in chronic ischemic heart failure[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 246: 112227. DOI: 10.1016/j.jep.2019.112227.

(**收稿**:2023-03-27;**修回**:2023-05-18)

(编辑 汪勤俭)