doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.16.010

miR-24 对心脏成纤维细胞生长和迁移的影响及机制研究 *

赵玉明 李艳星△ 朱晓锋 吴飞马 李振华 钟声逸 李丽红

(湖北科技学院附属第一医院 心胸外科 湖北 咸宁 437100)

摘要 目的:探讨 miR-24 对心脏成纤维细胞的生长和迁移的影响及机制。**方法:**采用 RT-PCR 检测心肌细胞和心脏成纤维细胞中 miR-24 的表达水平。在心脏成纤维细胞中转染 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitors control 后，通过 Western blot 检测细胞中 Col-1、α-SMA 的表达，MTT 检测细胞增殖情况，流式细胞仪检测细胞凋亡情况，Transwell 小室检测细胞迁移能力。通过靶基因预测库预测 miR-24 的靶基因，荧光素酶鉴定靶基因的正确性，并通过 RT-PCR 和 Western blot 检测转染后细胞中 Furin 的表达。**结果:**心脏成纤维细胞 HEH2 中 miR-24 的表达水平与心肌细胞 H9C2 相比差异显著(P<0.01)，心脏成纤维细胞中 miR-24 表达上调。miR-24 mimics 组中 Col-1、α-SMA 的表达水平明显低于 mimics control 组(P<0.01)。miR-24 mimics 组中细胞 OD 值较 mimics control 组显著降低 (P<0.01)，miR-24 inhibitors 组中细胞 OD 值较 inhibitors control 组显著升高(P<0.01)。miR-24 mimics 组、mimics control 组、miR-24 inhibitors 组、inhibitors control 组细胞凋亡无显著性差异(P>0.05)。miR-24 mimics 组细胞迁移数目明显低于 mimics control 组，差异显著(P<0.01)，miR-24 inhibitors 组细胞迁移数目高于 inhibitors control 组，差异显著(P<0.05)。miR-24 mimics 组细胞中 Furin 蛋白和 mRNA 水平明显降低，野生型 Furin 和 miR-24 mimics 共转染的细胞中荧光素酶活性最低。**结论:**miR-24 在心脏成纤维细胞中高表达，通过靶基因 Furin 抑制心脏成纤维细胞合成 Col-1、α-SMA，抑制心脏成纤维细胞增殖和迁移。

关键词:心脏成纤维细胞；miR-24；增殖；迁移

中图分类号:R-33；R54 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)16-3039-06

Effect and Mechanism of miR-24 on Cardiac Fibroblasts*

ZHAO Yu-ming, LI Yan-xing△, ZHU Xiao-feng, WU Fei-ma, LI Zhen-hua, ZHONG Sheng-yi, LI Li-hong

(Cardio-Thoracic Surgery, The First Affiliated Hospital of Hubei University of science and technology, Xianning, Hubei, 437100, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the role of miR-24 on the growth and migration of cardiac fibroblasts and its mechanisms. **Methods:** RT-PCR was used to detect the expression level of miR-24 in myocardial cells and cardiac fibroblasts. miR-24 mimics, mimics control, miR-24 inhibitors, inhibitors control were transfected into the cardiac fibroblasts, then the expression levels of Col-1, α-SMA in cardiac fibroblasts were detected. MTT was used to detect the cell proliferation. Flow cytometry was performed to detect the cell apoptosis. Transwell was used to detect the cell migration. miR-24 target gene was predicted through target gene prediction software. Identification of target was corrected by luciferase gene. The expression level of Furin was detected by RT-PCR and Western blot. **Results:** The expression levels of miR-24 in cardiac fibroblasts was significantly upregulated compared with the cardiomyocytes (P<0.01). The expression levels of Col-1 and -SMA in mimics miR-24 group were significantly lower than those in control group (P<0.01). The OD value of miR-24 mimics compared to mimics control was significantly decreased (P<0.01). The OD value of miR-24 inhibitors compared to inhibitors control was significantly increased (P<0.01). No significant difference was found in the apoptosis between miR-24 mimics group, mimics control group, miR-24 inhibitors group, inhibitors control group (P>0.05). The number of cell migration in miR-24 mimics group was significantly lower than that of mimics control group (P<0.01), the number of cell migration in miR-24 inhibitors group was higher than that of inhibitors control group (P<0.05). The levels of Furin protein and mRNA in mimics miR-24 group were significantly lower, and the luciferase activity was the lowest in wild type Furin and mimics miR-24 co transfected cells. **Conclusions:** miR-24 was highly expressed in cardiac fibroblasts, which might inhibit the proliferation and migration of cardiac fibroblasts by inhibiting the synthesis of Col-1 and α-SMA in cardiac fibroblasts by target gene Furin.

Key words: Cardiac fibroblasts; miR-24; Proliferation; Migration

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R54 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2017)16-3039-06

前言

心脏成纤维细胞(cardiac fibroblasts)存在于心脏中，约占心脏全部细胞的 65%左右，在心脏结构的调控细胞、组织之间的

* 基金项目：湖北省卫生厅科研基金项目(JX4B83)

作者简介：赵玉明(1976-)，男，硕士，主治医师，E-mail: zymjx@163.com，电话：15827910879

△ 通讯作者：李艳星(1967-)，男，主任医师，E-mail: liyx68@yahoo.com.cn，电话：13872190466

(收稿日期：2016-08-31 接受日期：2016-09-20)

信号传导过程中具有重要作用[1]。正常情况下,心脏成纤维细胞处于静息状态。病理状态下,内皮细胞、心内外膜干细胞、骨髓间充质干细胞等都可以分化为心脏成纤维细胞。有研究表明心脏成纤维细胞在心肌梗死、心脏肥厚等疾病的发生发展过程中发挥关键作用[2]。

MicroRNAs(miRNAs)是一种非编码的小分子 RNA,一般由 20~25 个核苷酸组成,具有调控组织生长、胚胎发育、胰岛素分泌、神经系统发育等多种作用[3]。近年来的研究显示 miRNAs 参与心肌纤维化的过程[4,5]。miR-29、miR-30、miR-133 可以调控心脏成纤维细胞增殖、迁移,参与成纤维细胞胶原的合成[6,7]。但目前尚未见 miR-24 在心脏成纤维细胞中的作用研究。本研究比较了心脏成纤维细胞和心肌细胞中 miR-24 的表达水平,进一步采用 MTT 法、Transwell 小室、流式细胞仪、Western blot 等方法研究 miR-24 对心脏成纤维细胞增殖、迁移和凋亡的作用,以期为治疗心肌纤维化提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

心肌细胞系 H9C2 和心脏成纤维细胞系 HEH2 均购自于上海心语生物科技有限公司,酶标仪购自于美国 Bio-rad 公司,CO_2 培养箱购自于苏州净化设备有限公司,倒置显微镜购自于日本尼康,流式细胞仪购自于美国 Thermo,胎牛血清(FBS)购自于杭州四季青有限公司,青链霉素、DMEM 培养基、胰蛋白酶均购自于美国 Sigma。Col-1、α-SMA、Furin、TGF-β1、GAPDH 一抗均购自于美国 Abcam 公司。辣根过氧化物标记的二抗购自于艾美捷科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 取出保存于液氮罐中的心肌细胞 H9C2 和心脏成纤维细胞 HEH2,迅速转移到 37℃的水浴锅中融化细胞。观察细胞完全融化后,在细胞中加入含有 10% FBS 的 DMEM 细胞生长液充分混匀后,转移至新的离心管中,1000 rpm 离心 10 min,弃上清液,加入细胞生长液悬浮细胞,接种于细胞培养板中,在 37℃,5% CO_2 培养箱中培养 48 h。倒置显微镜下观察细胞融合度达到 90%时,倒掉细胞培养液,加入 PBS 洗涤细胞两次,在细胞中加 0.25 %的胰蛋白酶,在 37℃条件下消化细胞,观察细胞呈单个存在时,转移细胞悬液到离心管中,1000 rpm 离心 10 min,吸除酶消化液,在细胞沉淀中加入 PBS 洗涤细胞两次,弃上清,加入适量的细胞生长液混匀后,接种到细胞培养板中培养细胞。

1.2.2 RT-PCR 检测细胞中 miR-24 的表达水平 培养心肌细胞和心脏成纤维细胞至对数生长期时,弃去细胞生长液,在细胞中加入冰预冷的 PBS 洗涤细胞两次,在细胞中加 Trizol 细胞裂解液,轻微摇晃使细胞裂解液均匀分布于细胞表面,放置于冰上裂解细胞 3 min,用移液枪反复吹打细胞,转移细胞裂解液至新的 EP 管中。加入事先冰预冷的氯仿,放置于 votex 剧烈震荡 15 s 后,在室温条件下放置 5 min。12000 rpm,4℃离心 15 min,用移液枪吸取上层的水相层至新 EP 管中,加入等体积的冰预冷的异丙醇,上下颠倒 15 次充分混匀后,室温下静置 10 min,12000 rpm,4℃离心 15 min,弃去上清液,在 RNA 沉淀中加入 75%冰预冷的乙醇,充分混匀后,10000 rpm,4℃离心 10 min,弃掉上清液,放置于与室温下自然晾干后,加入适量的 DEPC 水溶解 RNA 沉淀,保存于 -80℃备用。用紫外分光光度计检测提取的 RNA 的浓度,按照反转录试剂盒说明书反转录合成 miR-24 的 cDNA,利用 RT-PCR 试剂盒扩增合成的 cDNA,分析细胞中 miR-24 的水平。

1.2.3 细胞转染 将装有 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitors control 的 EP 管瞬时离心后,在 EP 管中加入体积为 100 μL 的 Nuclease-free water,分装后保存于 -80℃备用。取处于对数生长期的心脏成纤维细胞 HEH2,弃去细胞生长液,在细胞加入 0.25 %的胰蛋白酶消化细胞后,加入不含有胎牛血清的不完全培养液接种到细胞培养板中,在 37℃,5% CO_2 培养箱中培养 1 h。取 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitor control 分别与不完全培养基完全混合后,在室温下静置 6 min,为 A 液。不完全培养基和转染试剂 Lip2000 混合,在室温条件下孵育 20 min,为 B 液。取 A 液和 B 液混合后,加入心脏成纤维细胞中,放置于 37℃,5% CO_2 培养箱中培养 6 h 后,更换为含有胎牛血清的完全培养基继续培养。RT-PCR 检测转染后细胞中 Furin 的表达水平。

1.2.4 Western blot 检测转染后细胞中 Col-1、α-SMA 的表达 转染 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitor control 后的心脏成纤维细胞培养 48 h 后,收集细胞,在细胞中加入裂解液,用移液枪反复吹打,放置于冰上孵育裂解 30 min 后,10000 rpm,4℃离心 10 min。转移上清液至新的 EP 管中,根据 BCA 蛋白浓度检测试剂盒检测提取的蛋白浓度。取蛋白样品与 loading buffer 充分混合后,放在提前预热的 100℃的孵育器上煮沸 5 min,使蛋白充分变性。取 50 μL 的蛋白样品加入到蛋白凝胶上样孔中,80 V 电压电泳 30 min 后,调整电压为 120 V 至电泳结束。取出蛋白凝胶,用自来水小心冲洗,按照滤纸、蛋白凝胶、PVDF 膜、滤纸的顺序放置,4℃转膜过夜。取出 PVDF 膜用 5 %脱脂奶粉封闭后,PBST 洗涤 3 次,每次 5 min,依次与一抗、二抗孵育后,暗室中曝光,分析蛋白表达含量。

1.2.5 MTT 检测细胞增殖 转染 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitor control 后的心脏成纤维细胞培养至对数生长期后,吸除细胞生长液,在细胞中加入 0.25 %的胰蛋白酶消化细胞后,1000 rpm 离心 10 min,弃上清液,在沉淀中加入细胞生长液,调整细胞浓度为 5×10^4 个 /mL,接种于 96 孔细胞培养板中,每孔中加入 200 μL 的细胞悬浮液。放在 37℃,5% CO_2 培养箱中培养 48 h 后,每孔中加入 MTT 溶液 20 μL,放置于 37℃孵育 4 h,吸除上清液,加入 150 μL 的 DMSO 溶液,震荡混匀后,观察结晶物完全溶解后,用酶标仪检测每孔的吸光度,分析细胞的增殖情况。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞凋亡 转染 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitor control 后的心脏成纤维细胞培养 48 h 后,弃去上清液,用 0.25 %的胰蛋白酶消化细胞后,在细胞中加入 PBS 重悬细胞。调整细胞浓度为 2×10^6 个 /mL。取出 1 mL 细胞悬浮液,1000 rpm 离心 8 min 后,PBS 洗涤细胞两次,在细胞沉淀中加入 200 μL 的结合缓冲液,混合均匀后,依次加入 PI 和 Annexin-V 各 5 μL,放置于室温下,避光反应 20 min,取 300 μL 缓冲液加入到细胞中,流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.7 Transwell 小室检测细胞迁移能力 转染 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitor control 后的心脏成纤维细胞培养至对数生长期后，在细胞中加入胰蛋白酶消化细胞后，弃上清液，加入不含胎牛血清的细胞生长液，接种于细胞培养板中，在 CO_2 培养箱中培养 24 h。在 Transwell 小室的上室加入不含胎牛血清的细胞培养液，下室中加入 1 % FBS 的 DMEM 培养基，放置于 37℃孵育 1 h。收集细胞，调整细胞浓度为每毫升含有 2×10^5 个细胞，取 100 μL 的细胞悬浮液加入上室，取 600 μL 含有 1 % FBS 的 DMEM 细胞生长液加入到下室。放置于 37℃，5 %CO_2 培养箱中培养 4 h。Transwell 小室上层膜用 PBS 洗涤后，用甲醛固定后，结晶紫染色迁移细胞，用棉签擦掉附着的细胞，将膜取出后，放置于玻片上，观察细胞迁移情况。

1.2.8 miR-24 靶基因预测及鉴定 利用 TargetScan、PicTar、The miRBase 靶基因预测库预测 miR-24 的靶基因可能为 Furin。通过常规方法构建野生型的 Furin 和突变型的 Furin 荧光素酶基因载体，分别命名为 wt-Furin 和 mut-Furin，分别将这两种质粒与 miR-24 mimics、mimics control 混合共同转染到心脏成纤维细胞 HEH2 中，放置于 37℃，5 %CO_2 培养箱中培养 48 h 后，利用双荧光素酶报告基因试剂盒检测双荧光素酶活性。Western blot 检测转染后的细胞中 Furin 的水平，步骤同 1.2.4。

1.3 统计学分析

利用 SPSS22.0 软件对实验数据进行分析，实验数据以均数± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示，多组间比较采用单因素方差分析，两组间比较采用 t 检验，以 P＜0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 心肌细胞和心脏成纤维细胞中 miR-24 的表达情况

取对数生长期的心肌细胞 H9C2 和心脏成纤维细胞 HEH2，经 RT-PCR 检测细胞中 miR-24 的表达水平。结果显示：心脏成纤维细胞 HEH2 中 miR-24 的表达水平与心肌细胞 H9C2 相比差异显著(P<0.01)，心脏成纤维细胞中 miR-24 表达上调。见图 1。

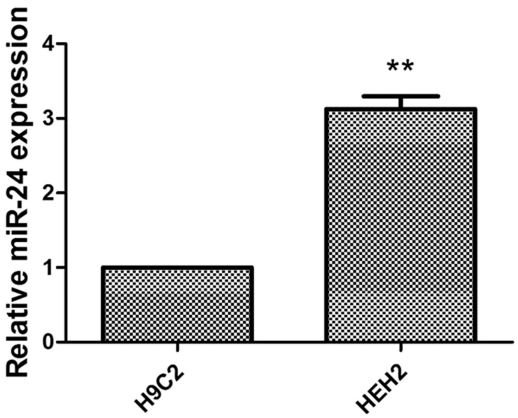

图 1 miR-24 在心肌细胞和心脏成纤维细胞中的表达

Fig.1 The expression level of miR-24 in cardiomyocytes and cardiac fibroblasts

Note: **P< 0.01 vs H9C2.

2.2 miR-24 对心脏成纤维细胞中 Col-1、α-SMA 表达的影响

转染 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitors control 后的心脏成纤维细胞培养 48 h 后，Western blot 检测细胞中 Col-1、α-SMA 蛋白表达。结果显示：miR-24 mimics 组中 Col-1 的表达水平明显低于 mimics control 组(P<0.01)，miR-24 inhibitors 组中 Col-1 的表达水平明显高于 inhibitors control 组 (P<0.01)，miR-24 mimics 组中 α-SMA 的表达水平明显低于 mimics control 组 (P<0.01)，miR-24 inhibitors 组中 α-SMA 的表达水平明显高于 inhibitors control 组(P<0.01)。见图 2。

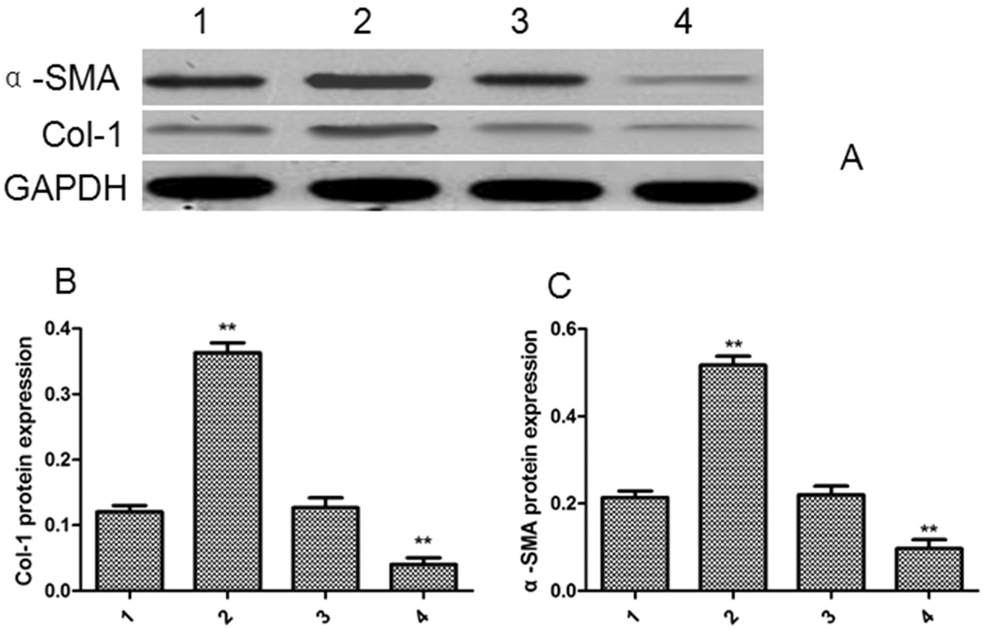

图 2 miR-24 调控心脏成纤维细胞中 Col-1、α-SMA 的表达

Fig.2 The expressions of Col-1, α-SMA in cardiac fibroblasts were mediated by miR-24

A: Western blot;B,C:Protein expression;1:inhibitors control; 2:miR-24 inhibitors; 3:mimics control; 4:miR-24 mimics; **P< 0.01 vs control.

2.3 miR-24 对心脏成纤维细胞增殖的影响

转染 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitors control 后 48 h，采用 MTT 检测心脏成纤维细胞 HEH2 的增殖情况。结果显示：miR-24 mimics 组中细胞 OD 值较 mimics control 组显著降低(P<0.01)，miR-24 inhibitors 组中细胞 OD 值较 inhibitors control 组显著升高(P<0.01)，见图 3。

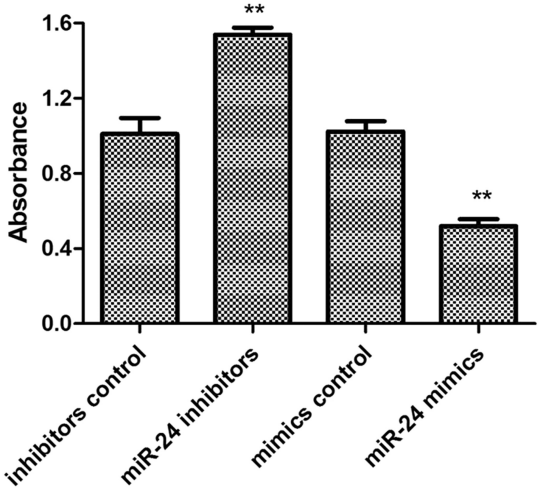

图 3 miR-24 对心脏成纤维细胞增殖影响

Fig.3 Effect of miR-24 on the cell proliferation of cardiac fibroblasts

Note:**P< 0.01 vs control.

2.4 miR-24 对心脏成纤维细胞凋亡的影响

转染 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitors control48 h 后，采用流式细胞术检测心脏成纤维细胞 HEH2 的凋亡情况。结果显示：miR-24 mimics 组、mimics control 组、miR-24 inhibitors 组、inhibitors control 组细胞凋亡无显著性差异(P>0.05)。见图 4。

2.5 miR-24 对心脏成纤维细胞迁移的影响

转染 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitors control 4 h 后，采用 Transwell 小室检测心脏成纤维细胞 HEH2 的迁移情况。结果显示：miR-24 mimics 组细胞迁移数目明显低于 mimics control 组，差异显著 (P<0.01)，miR-24 inhibitors 组细胞迁移数目高于 inhibitors control 组，差异显著 (P<0.05)。见图 5。

2.6 miR-24 靶基因鉴定结果

通过靶基因预测库预测 Furin 可能是 miR-24 的靶基因，构建荧光素酶标记的野生型(wt)和突变型(mut)Furin 载体，鉴定靶基因的正确性。转染 miR-24 mimics、mimics control、miR-24 inhibitors、inhibitors control 后的心脏成纤维细胞 HEH2 培养 48h 后，RT-PCR 和 Western blot 检测细胞中 Furin 的表达。结果显示：野生型 Furin 载体与 miR-24 mimics 共转染的细胞中荧光素酶活性明显降低。促进 miR-24 的表达，Furin 蛋白和 mRNA 均明显降低。见图 6。

3 讨论

miRNAs 是一种广泛存在于真核细胞中的小分子 RNA，可调控组织器官的发育，胚胎干细胞的增殖、神经系统的发育[8]。miR-24 位于 9q22 号染色体上，在心脏中广泛表达[9]。miR-24 参与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡。miR-24 通过作用于相关的转录因子参与心肌肥大的发生[10]。心肌细胞和成纤维细胞是心脏中数量最多的细胞，两种细胞总数约占心脏细胞总数的 90%以上[11]。心脏成纤维细胞在心脏系统疾病的发生发展过程中具有关键作用[12]。

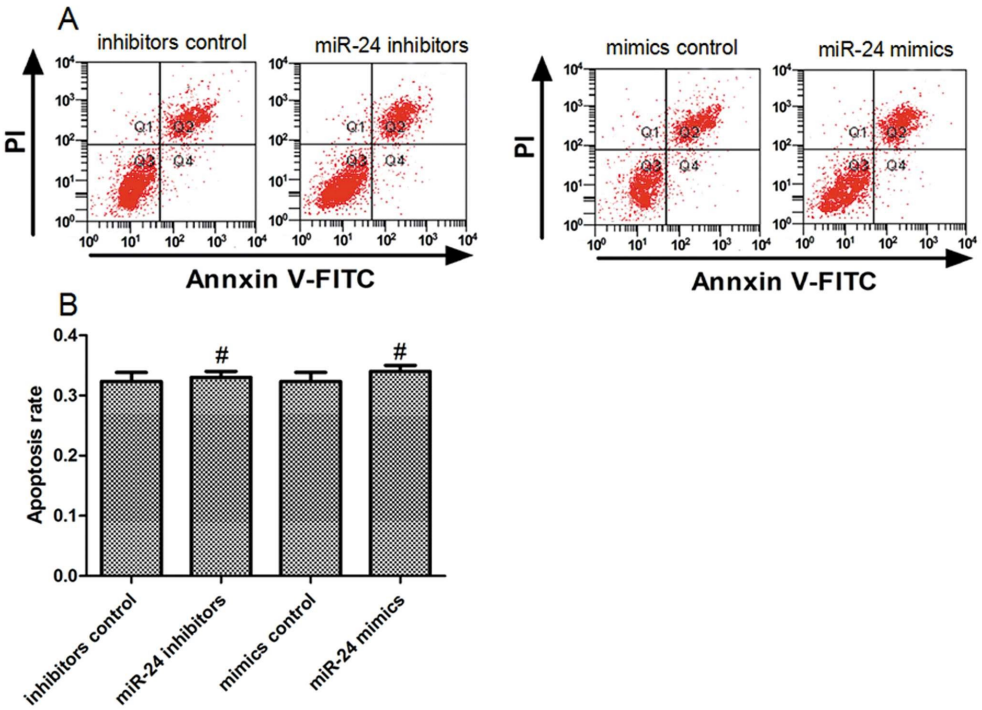

图 4 miR-24 对心脏成纤维细胞凋亡的影响

Fig.4 Effect of miR-24 on the cell apoptosis of cardiac fibroblasts

Note:**P> 0.05 vs control.

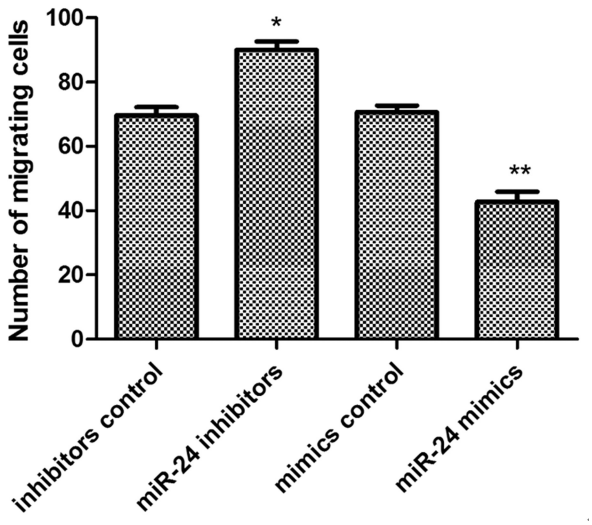

图 5 miR-24 对心脏成纤维细胞迁移能力影响

Fig.5 Effect of miR-24 on the cell migration in cardiac fibroblasts

Note:*P< 0.05 vs inhibitors control,**P< 0.01 vs mimics control.

合成胶原的能力更强[15]。本研究中分别以心肌细胞 H9C2 和心脏成纤维细胞 HEH2 为研究对象，RT-PCR 检测结果显示 miR-24 在心脏成纤维细胞中高表达。通过细胞转染分别高表达和抑制心脏成纤维细胞中 miR-24 的表达后，结果显示 miR-24 可以抑制心脏成纤维细胞中 α-SMA 和 Col-1 的表达。此外，本研究中，通过 MTT 检测高表达和抑制心脏成纤维细胞中 miR-24 的表达后的心脏成纤维细胞的增殖情况。结果显示 miR-24 mimics 组细胞增殖能力明显低于对照组，提示 miR-24 可以抑制心脏成纤维细胞的增殖。流式细胞仪结果显示无论是促进 miR-24 的表达还是抑制 miR-24 的表达对心脏成纤维细胞的凋亡均无显著性影响。Transwell 小室结果显示过表达 miR-24 可以抑制心脏成纤维细胞的迁移。

弗林蛋白酶(Furin)是一种内切蛋白脉，属于跨膜蛋白的一种，由 794 个氨基酸构成，在细胞分泌过程中具有活化功能[16,17]。最初发现 Furin 参与胚胎发育过程，在前体蛋白成熟过程中均有催化作用[18]。近年来的研究显示 Fruin 参与肿瘤细胞的转移分化，与肿瘤细胞的基底金属蛋白有关[19]。Furin 可以通过

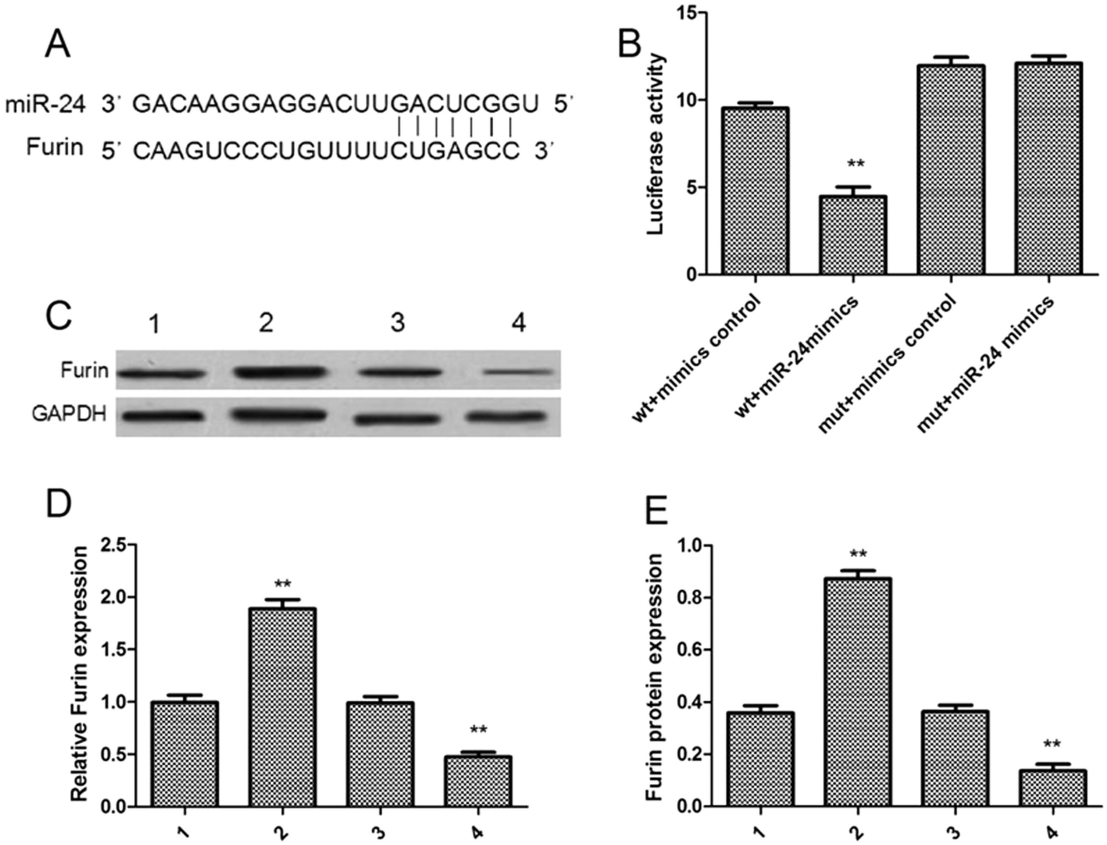

图 6 miR-24 靶基因的鉴定

Fig.6 Identification of miR-24 target genes

A: Target gene prediction; B: Luciferase activity; C: Western blot; D: Furin mRNA; E: Protein expression; 1: inhibitors control; 2: miR-24 inhibitors; 3: mimics control; 4: miR-24 mimics; **P< 0.01 vs control.

心脏成纤维化细胞在心肌纤维化过程中起到重要作用，Ⅰ型胶原(Collagen，Col-1)和 α 平滑肌细胞肌动蛋白(α smooth muscle cell actin，α-SMA)的合成与表达在心肌纤维化发生过程中具有调控功能[13,14]。心脏成纤维细胞是否分化为肌样成纤维细胞的标志物是 α-SMA，肌样成纤维细胞比心脏成纤维细胞

调控相关信号通路参与心肌纤维化的过程[20,21]。为了进一步研究 miR-24 对心脏成纤维细胞作用机制，利用 TargetScan、PicTar、The miRBase 靶基因预测库预测 miR-24 的靶基因可能为 Furin。荧光素酶活性检测、Western blot、RT-PCR 鉴定 Furin 为 miR-24 的靶基因。

综上所述，miR-24 在心脏成纤维细胞中高表达，通过靶基因 Furin 抑制心脏成纤维细胞 α-SMA 和 Col-1 的表达，抑制心脏成纤维细胞增殖、迁移。这为进一步研究 miR-24 在心脏成纤维细胞中的作用机制奠定了基础，为治疗心肌纤维化提供了新思路。

参 考 文 献(References)

[1] Li J, Zhang W, Jiao R, et al. DIM attenuates TGF-β1-induced myofibroblast differentiation in neonatal rat cardiac fibroblasts [J]. International Journal of Clinical & Experimental Pathology, 2015, 8 (5): 5121-5128

[2] Ong S F, Ligons D L, Barin J G, et al. Natural Killer Cells Limit Cardiac Inflammation and Fibrosis by Halting Eosinophil Infiltration [J]. American Journal of Pathology, 2015, 185(3): 847-861

[3] Wu L, Ong S, Talor M V, et al. Cardiac fibroblasts mediate IL-17A-driven inflammatory dilated cardiomyopathy [J]. Journal of Experimental Medicine, 2014, 211(7): 1449-1464

[4] Cannella D, Brenierpinchart M P, Braun L, et al. miR-146a and miR-155 delineate a microRNA fingerprint associated with Toxoplasma persistence in the host brain[J]. Cell Reports, 2014, 6(5): 928-37

[5] Busskamp V, Krol J, Nelidova D, et al. miRNAs 182 and 183 are necessary to maintain adult cone photoreceptor outer segments and visual function[J]. Neuron, 2014, 83(3): 586-600

[6] Aalaeiandabili S H, Fabbri M, Rezaei N. Reciprocal effects of Toll-like receptors and miRNAs on biological processes in human health and disease: a systematic review [J]. Immunotherapy, 2015, 5 (10): 1127-1142

[7] Amodio N, Rossi M, Raimondi L, et al. miR-29s: a family of epi-miRNAs with therapeutic implications in hematologic malignancies[J]. Oncotarget, 2015, 6(15): 12837-12861

[8] Du T, Han Z, Zhou G, et al. Patterns of accumulation of miRNAs encoded by herpes simplex virus during productive infection, latency, and on reactivation [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(1): 49-55

[9] Yin J Y, Tang Q, Qian W, et al. Increased expression of miR-24 is associated with acute myeloid leukemia with t (8;21)[J]. International Journal of Clinical & Experimental Pathology, 2014, 7 (11): 8032-8038

[10] Xiang Y, Cheng J, Wang D, et al. Hyperglycemia repression of miR-24 coordinately upregulates endothelial cell expression and secretion of Von Willebrand Factor[J]. Blood, 2015, 125(22): 3377-3387

[11] Li H, Fan J, Yin Z, et al. Identification of cardiac-related circulating microRNA profile in human chronic heart failure [J]. Oncotarget, 2015, 7(1): 33-45

[12] Liu S, Li W, Xu M, et al. Micro-RNA 21Targets Dual Specific Phosphatase 8 to Promote Collagen Synthesis in High Glucose Treated Primary Cardiac Fibroblasts [J]. Canadian Journal of Cardiology, 2014, 30(12): 1689-1699

[13] Li Z J, Ou-Yang P H, Han X P. Profibrotic effect of miR-33a with Akt activation in hepatic stellate cells [J]. Cellular Signalling, 2014, 26(1): 141-148

[14] Zhou J, Chen Q, Lanske B, et al. Disrupting the Indian hedgehog signaling pathway in vivo attenuates surgically induced osteoarthritis progression in Col2a1-CreERT2; Ihhfl/fl mice [J]. Arthritis Research & Therapy, 2014, 16(1): 1-10

[15] Qian X J, Li X L, Xu X, et al. α-SMA-Cre-mediated excision of PDK1 reveals an essential role of PDK1 in regulating morphology of cardiomyocyte and tumor progression in tissue microenvironment[J]. Pathologie Biologie, 2015, 63(2): 91-100

[16] Wang J, Wang F, Xu J, et al. Double-strand adeno-associated virus-mediated exendin-4 expression in salivary glands is efficient in a diabetic rat model [J]. Diabetes Research & Clinical Practice, 2014, 103(3): 466-473

[17] Wilbers R H P, Westerhof L B, Raaij D R, et al. Co expression of the protease furin in Nicotiana benthamiana leads to efficient processing of latent transforming growth factor β1 into a biologically active protein[J]. Plant Biotechnology Journal, 2016, 14(8): 1695-1704

[18] Gagnon H, Beauchemin S, Kwiatkowska A, et al. Optimization of furin inhibitors to protect against the activation of influenza hemagglutinin H5 and Shiga toxin [J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 57(1): 29-41

[19] Lee M, Rhu C, Kim S W, et al. Abstract 4907: Upregulation of furin is associated with the invasiveness of cumulatively irradiated cancer cells[J]. Cancer Research, 2014, 74(19 Supplement): 4907-4907

[20] Ma Y C, Fan W J, Rao S M, et al. Effect of Furin inhibitor on lung adenocarcinoma cell growth and metastasis [J]. Cancer Cell International, 2014, 14(5): 1-86

[21] Hiyoshi M, Okuma K, Tateyama S, et al. Furin-dependent CCL17-fused recombinant toxin controls HTLV-1 infection by targeting and eliminating infected CCR4-expressing cells in vitro and in vivo [J]. Retrovirology, 2015, 12(1): 1-14