

# 养心通脉有效部位方干预 AMI 大鼠 BMSCs miRNA 组学分析

朱梓铭<sup>1,2</sup>, 郑景辉<sup>1\*</sup>, 黄金龙<sup>1</sup>, 陈建军<sup>1</sup>, 莫云秋<sup>1</sup>,  
黄修解<sup>1</sup>, 马晓聪<sup>2</sup>, 张健<sup>2</sup>, 罗蔚<sup>1,2</sup>, 伍燕宏<sup>1,2</sup>

(1. 广西中医药大学附属瑞康医院, 南宁 530011; 2. 广西中医药大学, 南宁 530001)

**[摘要]** 目的:通过筛选差异表达 miRNAs,预测和探究养心通脉方有效部位方(active principle region of Yangxing Tongmai formula, apr-YTF)诱导骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)心肌样分化的分子机制。方法:提取急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)血瘀证大鼠 BMSCs 并培养,使用 apr-YTF 含药血清诱导,以阴性对照血清做对照,提取细胞总 RNAs,使用表达谱芯片检测细胞 miRNAs 的表达,并进行聚类分析。运用生物信息学方法预测差异 miRNA 调控的靶基因和功能分析。结果:芯片探测出共有 26 个差异 miRNAs,其中 8 个上调,18 个下调,经筛选和预测共 100 个靶基因参与了 19 种生物过程,11 种细胞成分,10 种分子作用。轴突导向通路,癌症转录误调节通路,AMPK 信号通路被富集。rno-miR-93-5p, rno-miR-204-5p, rno-miR-128-3p 为网络调控中心,其中 rno-miR-204-5p 下调更显著。结论:养心通脉有效部位方干预大鼠骨髓间充质干细胞心肌样分化的机制可能与 rno-miR-204-5p, rno-miR-93-5p, 轴突导向通路相关性较高。

**[关键词]** 养心通脉有效部位方; 骨髓间充质干细胞; 急性心肌梗死; miRNA; 生物信息学

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)16-0114-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017160114

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170526.1028.046.html>

**[网络出版时间]** 2017-05-26 10:28

## miRNA Expression Analysis in AMI Rat BMSCs Intervened by Active Principle Region of Yangxin Tongmai Formula

ZHU Zi-ming<sup>1,2</sup>, ZHENG Jing-hui<sup>1\*</sup>, HUANG Jin-long<sup>1</sup>, CHEN Jian-jun<sup>1</sup>, MO Yun-qiu<sup>1</sup>,  
HUANG Xiu-jie<sup>1</sup>, MA Xiao-cong<sup>2</sup>, ZHANG Jian<sup>2</sup>, LUO Wei<sup>1,2</sup>, WU Yan-hong<sup>1,2</sup>

(1. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, China;  
2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To predict and investigate the molecular mechanism of active principle region of Yangxing Tongmai formula (apr-YTF) in inducing bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) myocardial differentiation based on miRNA level. **Method:** BMSCs from acute myocardial infarction (AMI) rats of blood-stasis model were extracted and cultivated. Then apr-YTF serum was used as experimental group and negative control serum was used as control group, respectively. Total RNAs were extracted and differently expressed miRNAs were detected by expression profile chip for hierarchical clustering analysis. Bioinformatics method was used to predict target genes and analyze the functions of differential miRNAs regulation. **Result:** There were a total of 26 differently expressed miRNAs, 8 were up-regulated, and 18 were down-regulated. In screening and predicting, 100 target genes were involved in 19 kinds of biological processes, 11 kinds of cellular components, and 10 kinds of molecular functions. Axon guidance, Transcriptional misregulation in cancer, and AMPK signaling pathway were enriched.

**[收稿日期]** 20170326(002)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81360535);广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 1598012-55)

**[第一作者]** 朱梓铭,在读硕士,从事生物信息学在中医药研究中的应用,Tel:15977674674,E-mail:alopheba@163.com

**[通讯作者]** \*郑景辉,副教授,硕士生导师,从事生物信息学在中医药研究中的应用,Tel:0771-4733961,E-mail:jinghuizheng@yeah.net

Rno-miR-93-5p, rno-miR-204-5p, rno-miR-128-3p were the center of the molecular network, and rno-miR-204-5p was down-regulated significantly. **Conclusion:** The results showed that rno-miR-204-5p, rno-miR-93-5p and Axon guidance pathway may play a role in the differentiation process of BMSCs into cardiomyocytes induced by apr-YTF.

[**Key words**] active principle region of Yangxin Tongmai formula; bone marrow mesenchymal stem cells; acute myocardial infarction; miRNA; bioinformatics

骨髓间充质干细胞(BMSCs)是存在于骨髓中除造血干细胞外的另一种干细胞,研究发现,通过细胞移植或体内特定环境刺激能促进 BMSCs 对损伤心肌细胞的靶向治疗<sup>[1-2]</sup>,近年来大量研究表明中药单体及复方制剂能作用于机体内环境提供诱导 BMSCs 归巢、心肌样分化及改善心肌细胞损伤的条件,并且中医药具有大量潜在诱导药物的资源,临床应用疗效好,已成为当前的研究热点<sup>[3]</sup>。养心通脉有效部位方(active principle region of Yangxing Tongmai formula, apr-YTF)是根据著名中医学家秦伯未先生运用“扶养心气,和通血脉”之法治疗胸痹心痛的有效名方提取其有效成分研制而成<sup>[4]</sup>,前期研究已证实 apr-YTFs 能诱导 BMSCs 归巢与缺血心肌再灌注及心肌样分化<sup>[5-6]</sup>,但其作用机制尚未完全明确。微小 RNA(microRNA, miRNA)是一类内源性小分子非编码 RNA,其结合于 mRNA 的 3'UTR 区域,形成沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC),降解或阻断 mRNA 翻译,从而在分子层面调控靶基因的表达。本次研究以之为切入,通过观察对比大鼠 BMSCs 在养心通脉有效部位方作用下与阴性前后 miRNA 的表达谱变化,从而为更全面地揭示其心肌样分化的机制提供新思路。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康清洁级雄性 Wistar 大鼠,体重 110~130 g,购自广西医科大学动物实验中心。动物的处置符合科学技术部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准。动物许可证号 SYXK(桂)2014-0003。

**1.2 药物制备及试剂** 由养心通脉方原方中综合提取的人参皂苷、丹参酮 II A、人参多糖、总生物碱、总挥发油有效成分部位配伍制成,以人参皂苷 10.3 g·kg<sup>-1</sup>体重,丹参酮 II A 0.38 g·kg<sup>-1</sup>体重,人参多糖 1.43 g·kg<sup>-1</sup>体重,总生物碱 0.32 g·kg<sup>-1</sup>体重,总挥发油 18.65 mL·kg<sup>-1</sup>体重口服为养心通脉有效成分部位方的最佳配伍剂量,使用时用蒸馏水稀释成所需的浓度<sup>[7]</sup>。胎牛血清(北京 Hyclone 公司,批号 SH30370.03);FITC 荧光标记的抗 CD34, CD44, CD45, CD90 抗体(美国 Santec 公司,批号分别

为 sc-52478, sc-53069, sc-70711, sc-73163); Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司,批号 15596-026); RNasey Mini Kit 试剂(美国 Qiagen 公司,批号 Y5-80004); miRCURY LNA™ 芯片(丹麦 Exiqon 公司,批号 EX-208215-A)。

**1.3 仪器** SIGMA 1-14 型高速低温离心机(德国 Sigma 公司), EPICS XL/XL-MCL 型 FACScan 流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司), ND-1000 型 NanoDrop 分光光度计(德国 NanoDrop Technologies 公司), GenePix 4000B 型生物扫描仪(美国 Axon 公司)。

## 2 方法

**2.1 造模方案** 参考本课题组前期研究结果<sup>[8]</sup>,采用冠状动脉结扎术造大鼠急性心肌梗死模型,血液流变学血浆黏度和全血黏度中的任意 1 项高于正常值作为心血瘀阻证的客观指标。

**2.2 BMSCs 的分离、培养及鉴定** 大鼠适应性饲养 1 周后引颈法处死,无菌条件下快速取胫骨和股骨,收集全骨髓细胞。采用贴壁换液法纯化细胞,传至第 4 代时采用 FACScan 流式细胞仪检测细胞表面抗原。鉴定所得细胞以 CD34, CD45 阳性率低于 5%, CD44, CD90 阳性率高于 95% 为高纯度的 BMSCs。

**2.3 含药血清的制备** 随机将造模后大鼠分为阴性组(生理盐水 10 mL·kg<sup>-1</sup>), apr-YTF 组(剂量设定 31.08 g·kg<sup>-1</sup>, 10 mL·kg<sup>-1</sup>), 每日灌胃(ig)给药 1 次,连续 5 d<sup>[5]</sup>。无菌条件下麻醉大鼠,下腔静脉取血,静置 30 min 后离心,取上清液,56 °C 水浴 30 min 灭活,用 0.22 μm 滤膜过滤除菌, -20 °C 冻存备用。

**2.4 实验分组及干预处理** 将高纯度的 BMSCs 分为 2 组。实验观察组将高纯度 BMSCs 培养液中加入 apr-YTF 最佳配伍剂量<sup>[7]</sup>含药血清。阴性组高纯度 BMSCs 培养液中加入等量阴性血清。2 组均置培养箱中孵育 24 h 后,去掉各组培养液,以 DMEM 培养液洗涤 2 次,再按上述培养条件继续培养,每 3 d 换液 1 次。诱导分化 7, 14, 28 d 后,分别取出各组 BMSCs,生物学重复 3 次。

**2.5 miRNA 芯片分析** 使用 TRIzol 法提取大鼠

BMSCs 中总 RNAs,并用 RNasey Mini Kit 纯化。使用 NanoDrop ND-1000 测量纯化后的 miRNAs 浓度,电泳检测 miRNAs 完整性。通过质检后的 miRNAs 使用 miRCURY™ LNA 芯片进行检测、标记和杂交。对实验组、空白组分别使用 Hy5™,Hy3™ 标记。用 Axon GenePix 4000B 扫描仪扫描芯片。并用 GenePix Pro 6.0 提取图像上探针的表达信息,并筛选所有样品中信号值均 ≥30 的探针做标准化处理,得到标准化后的数据。

**2.6 差异表达 miRNA 的筛选与层次聚类** 将标准化数据利用 Fold change 和 P 值进行差异 miRNAs 挑选,并进行组间比较,挑选出表达上调 Fold Change > 2.0,下调 Fold Change < 0.5,且 P < 0.05 的 miRNAs 作为差异 miRNAs。运用聚类软件 Cluster3.0 进行平均连接算法 (average linkage algorithm) 进行层次聚类运算,使用 Java TreeView 对运算结果进行相似簇聚类及热图绘制,并评估样本间的变异度。

**2.7 miRNA 靶基因预测及生物信息学功能分析** 分别将筛选出的 miRNAs 录入 8 个数据库 (miRanda, miRDB, miRWalk, PICTAR4, PICTAR5, PITA, RNA22, TargetsCan) 预测其可能调控的靶基因,为降低假阳性结果本次研究取数据库交集 ≥4 且 miRNAs 共调控 ≥3 条的基因作为物信息学功能分析基础。并采用在线分析软件 DAVID 6.8 进行基因富集 GO 分析及 KEGG 通路分析。

**2.8 差异 miRNA-mRNA 网络关系构建** 差异 miRNAs 与 mRNAs 输入 Cytoscape3.4.0 软件构建 miRNA-mRNA 共调控网络关系图,利用连通度 (degree),平均最短路径 (average shortest path) 与中心紧密度 (closeness centrality) 分析各 miRNA 和 mRNA 的关系和分布。

### 3 结果

**3.1 差异 miRNA 表达筛选及聚类分析** 经筛选得出 26 条 miRNAs 差异表达,其中 8 个 miRNAs 表达上调,上调较明显的为 rno-miR-92a-2-5p。另外 18 个 miRNAs 表达下调,下调明显的为 rno-miR-204-5p,rno-miR-16-3p。见表 1,图 1。

**3.2 差异 miRNA 平行分子靶基因预测及生物信息学分析** 经过筛选本次共预测出 100 个靶基因,使用 DAVID6.8 在线分析平台对本组结果进行富集预测。靶基因生物学过程 (biological process, BP) 分析显示,这些分子主要参与 19 种生物学过程,包括 RNA 聚合酶 II 启动子的转录正调控、RNA 聚合酶 II

表 1 实验组/空白组 miRNA 调节情况

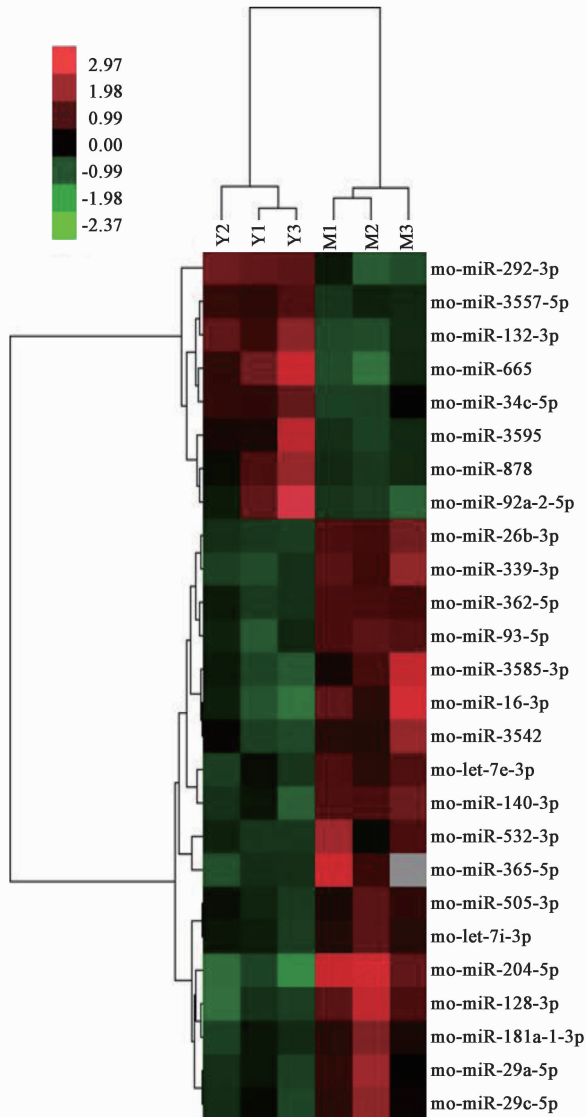
Table 1 miRNA regulation of experimental group vs control group

上调	下调
rno-miR-292-3p	rno-miR-26b-3p
rno-miR-3557-5p	rno-miR-339-3p
rno-miR-132-3p	rno-miR-362-5p
rno-miR-665	rno-miR-93-5p
rno-miR-34c-5p	rno-miR-3585-3p
rno-miR-3595	rno-miR-16-3p
rno-miR-878	rno-miR-3542
rno-miR-92a-2-5	rno-let-7e-3p
	rno-miR-140-3p
	rno-miR-532-3p
	rno-miR-365-5p
	rno-miR-505-3p
	rno-let-7i-3p
	rno-miR-204-5p
	rno-miR-128-3p
	rno-miR-181a-1-3p
	rno-miR-29a-5p
	rno-miR-29c-5p

启动子的转录负调控、转录和 DNA 模板生成、轴突导向、脑神经发育等。靶基因细胞组分 (cellular component, CC) 分析显示,本实预测的靶基因可能来源于多种细胞组分,其中包含了 11 种组分类型,细胞核占主要成分。靶基因分子功能 (molecular function, MF) 分析显示,大体上具有 10 种分子功能,主要体现在 DNA 结合、蛋白质结合、金属离子结合等。见图 2。

**3.3 靶基因信号转导通路分析** 通过 KEGG 通路分析,发现主要富集的 3 条信号转导通路为轴突导向通路 (axon guidance), 癌症转录失调通路 (transcriptional misregulation in cancer) AMPK 信号通路 (AMPK signaling pathway), 其中前 2 者显著富集 P < 0.05。见表 2,图 3,4。

**3.4 miRNA-mRNA 调控网络** Cytoscape3.4.0 进行计算显示,调控 mRNA 最多的 miRNA 是 rno-miR-93-5p, rno-miR-204-5p, rno-miR-128-3p; 被最多 miRNA 关联调控的 mRNA 是 Ptpn4, Tnrc6b, Mfsd6, Rps6ka5, Elk4。网络调控图清晰的展示了 miRNA 与之 mRNA 存在复杂交错的网状调控关系。见图 5。



注:红色表示高相对表达量,绿色表示低相对表达量,黑色为中间值,灰色为缺失值

图 1 差异表达的 miRNAs 聚类热

Fig. 1 Hierarchical clustering analysis of differentially expressed miRNAs

#### 4 讨论

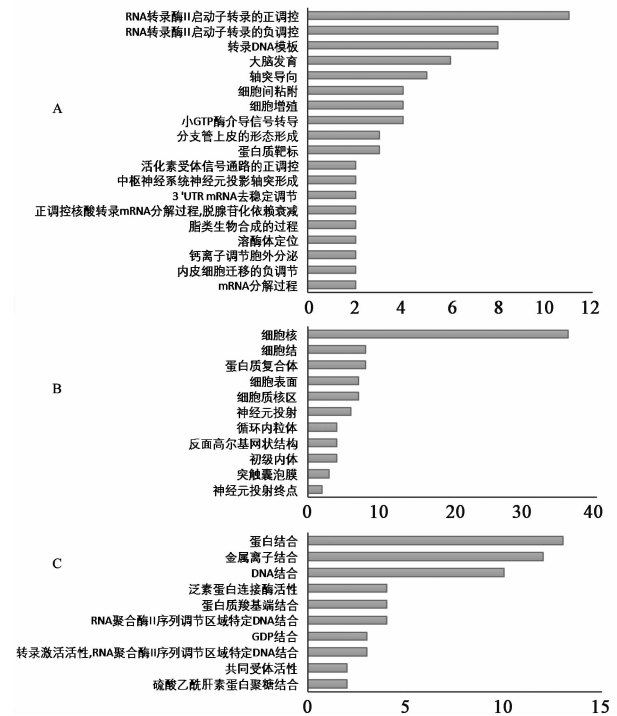
近年来,随着信息技术的发展及与生物学领域的互融,中医药研究也步入了大数据时代。目前采用 miRNA 组学、基因组学等生物信息学手段研究

表 2 靶基因信号通路 (KEGG PATHWAY) 分析

Table 2 KEGG pathway analysis of target genes

通路名称	靶基因数量	% <sup>1)</sup>	P	Benjamini <sup>2)</sup>	靶基因情况
轴突导向通路 (axon guidance)	4	4	$1.30 \times 10^{-2}$	0.680	Plxn2, Sema5a, Slit2, Unc5c
癌症转录误调节通路 (transcriptional misregulation in cancer)	4	4	$2.40 \times 10^{-2}$	0.660	Elk4, H3f3b, Etv1, Mycn
AMPK 信号通路 (AMPK signaling pathway)	3	3	$8.60 \times 10^{-2}$	0.930	Rab10, Cfr, Scd

注: <sup>1)</sup> 靶基因在当前通路映射的数量占总数的百分比; <sup>2)</sup> 经 Benjamini 法控制错误发现率来进行 P 值校正。



A. 生物学过程分析; B. 细胞组分分析; C. 分子功能分析; 图中横坐标为靶基因数量

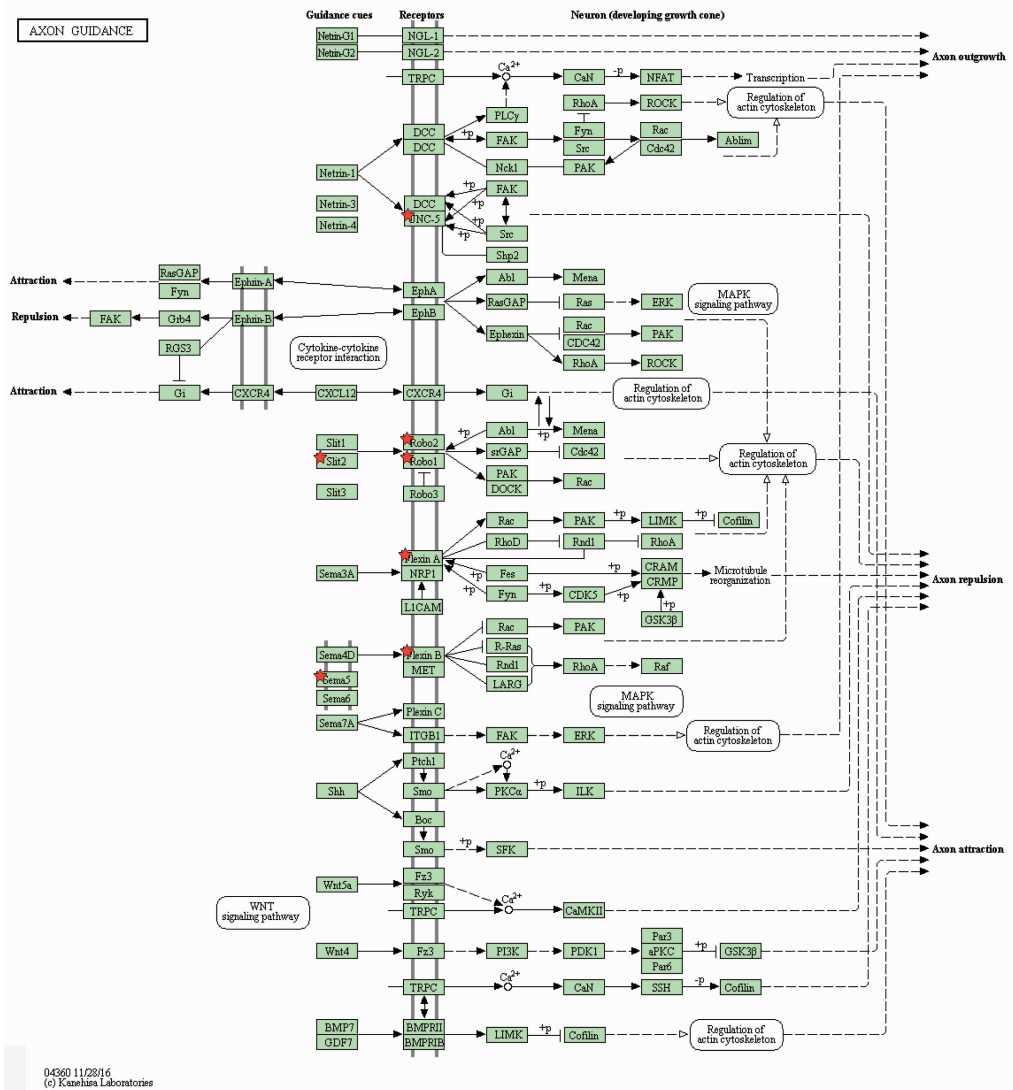
图 2 靶基因生物信息学富集条状

Fig. 2 Target genes bioinformatics enrichment bar graph

“病、证、药”相互作用的微环境变化实质,构建“网络靶标”,逐渐成为揭示中医学诊断辨证与用药论治的有效手段。而证据化,可视化的分子途径设计和预测最佳的药物干预方式也为中医药实现精准治疗指出了道路。

前期实验发现,养心通脉有效部位方 (apryTF) 能促使大鼠 BM SCs 动员入血、定向归巢并诱导转化为心肌细胞改善急性心肌梗死大鼠心功能的作用。本实验通过检测 miRNA 差异表达,筛选 apyTF 导向大鼠 BMSCs 分化的相关靶点,进一步探究和预测其发挥作用的分子机制。

实验结果表明,差异表达的 26 条 miRNAs 中,上调和下调更为明显的分别为 rno-miR-92a-2-5p, rno-miR-204-5p, rno-miR-16-3p, 其中 rno-miR-16-3p



04360 11/28/16  
(c) Kanahisa Laboratories

注:标注五星的位置为本研究靶基因(图 4 同)

图 3 轴突导向信号转导通路示意

Fig. 3 Axon guidance pathway

属于 mir-15 家族,其已被证实与抗心肌缺血、心肌修复再生与细胞存活等作用相关<sup>[9]</sup>,另外上调的 rno-miR-92a-2-5 源于 mir-25 家族,Wahlquist 等<sup>[10]</sup>在 *Nature* 刊登的研究中发现下调其表达能提高心衰患者心肌收缩力,但本实验中其显著上调是否与分化靶点有关仍需后续实验进一步验证。

对多方数据库预测出的 100 个 mRNAs 富集分析结果表明,其发挥作用的生物学过程主要包括促进/抑制 RNA 聚合 II 启动子转录调控,转录和 DNA 模板生成等 miRNA 基本功能及其他一些轴突导向、脑神经发育功能;细胞组分显示细胞核占主要成分;分子功能也指向了 miRNA 基本功能。显示在 apr-YTF 作用下转录调控的生物反应被进一步激活。

KEGG 通路分析显示轴突导向通路(axon

guidance),癌症转录误调节通路(transcriptional misregulation in cancer)被显著富集,而 miRNA 靶通路预测交集也指向轴突导向通路。轴突导向通路作用途径是经各种信号因子引导将轴突受体下游信号转导会聚到 Rho GTP 酶上,引发细胞蛋白骨架结构的变化,并决定生长锥的转化方式<sup>[11]</sup>。在 Hamm 等<sup>[12]</sup>的实验中发现轴突导向通路中 Sema5A 基因能调节血管内皮细胞迁移,并与心脏结构形成有一定关系。此外该通路 Slit 基因也参与心包的发育<sup>[13]</sup>。这些基因的重叠和不同的表达模式提示其可能对神经系统和循环系统的发育发挥作用。而暂无研究表明癌症转录误调节通路与骨髓间充质或循环系统存在直接关联。因此,apr-YTF 可能通过轴突导向通路实现调控 BMSCs 的分化。

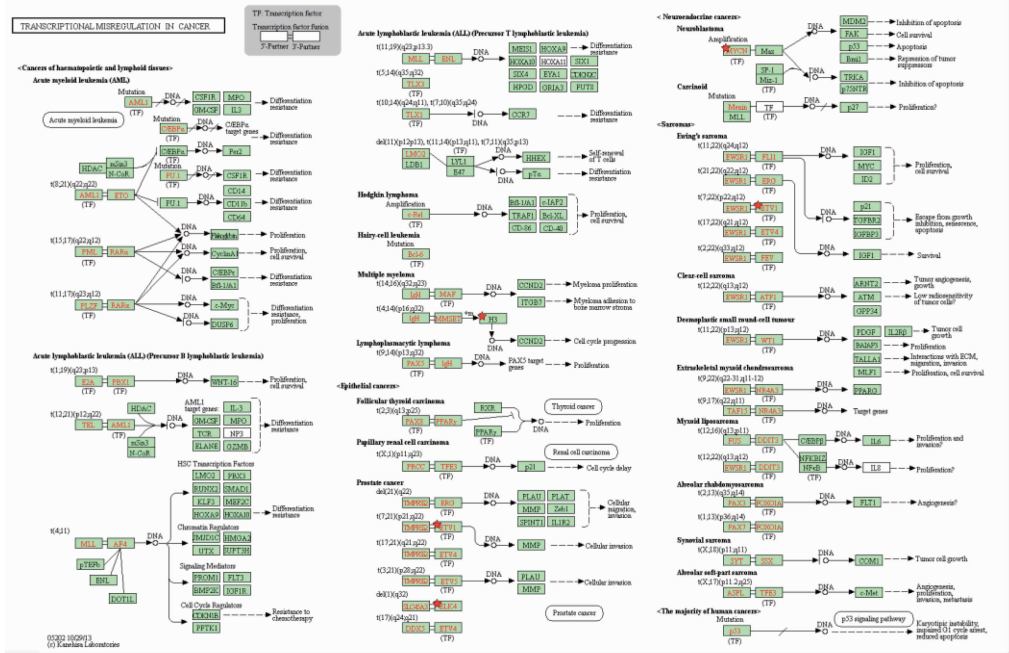
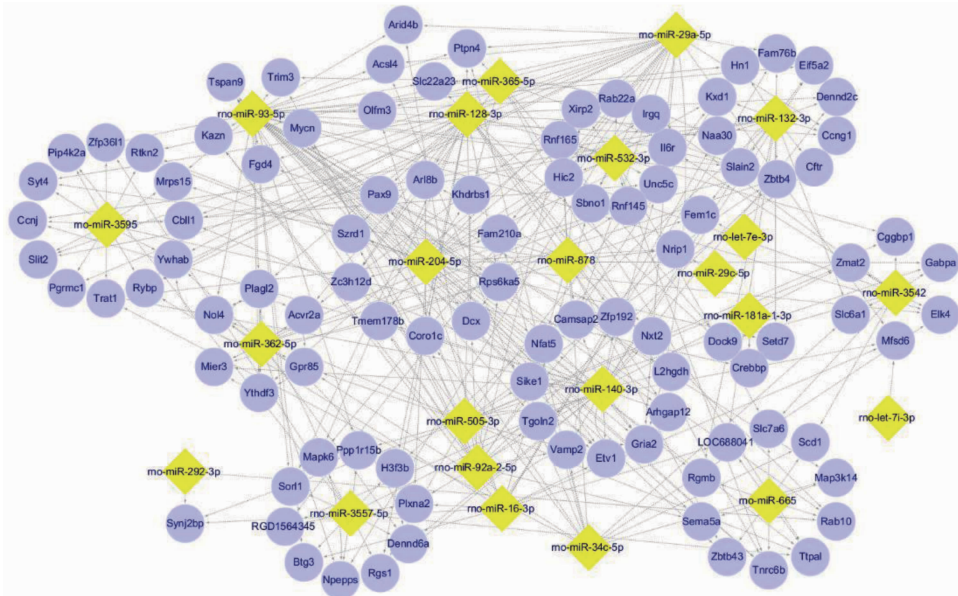


图 4 癌症转录失调通路信号转导通路示意图  
Fig. 4 Transcriptional misregulation in cancer pathway



注:黄色菱形图标表示差异表达的 miRNA,紫色圆形图标表示关联的 mRNA,箭头直线表示存在调控关系

图 5 miRNA-mRNA 调控网络  
Fig. 5 miRNA-mRNA control network diagram

差异 miRNA-mRNA 调控网络分析中发现 rno-miR-93-5p, rno-miR-204-5p, rno-miR-128-3p 为复杂调控关系的中心,并均为下调表达。其中,在 O Sullivan JF 的研究中发现 miR-93-5p 显著上调的变化可以作为急性 ST 段抬高型心肌梗死的预测<sup>[14]</sup>,因此,笔者推测在 apr-YTF 作用下,BMSCs 中下调表达的 miR-93-5p 调控的转录产物或许能产生对 STEMI 心肌的保护性作用。此外 rno-miR-204-5p 在

之前芯片检测中下调更为显著,可将 rno-miR-204-5p 视为本次研究的权重中心,值得注意的是被 rno-miR-204-5p 与 rno-miR-29a-5p 双重调控的 GATA-4 mRNA 为 4 个数据库共同预测的靶点,也是前期实验验证心肌样分化的靶标。GATA-4 是与心脏发育密切相关的一种特定细胞核转录因子,是心脏前体细胞增殖分化的最早标志之一,而预测发现另一些心肌转录基因,如 HOX 家族 Hoxa3, Hoxc4 基因<sup>[15]</sup>

也能被 rno-miR-204-5 调控。因此,显著下调的 rno-miR-204-5p 可能是 apr-YTF 诱导 BMSCs 心肌样分化中相关性较高的靶点。

综上所述,本研究利用高通量表达谱筛选了养心通脉有效部位方干预心血瘀阻证大鼠的 BMSCs 差异表达 miRNA,通过生物信息学手段预测并揭示 apr-YTF 诱导心肌样分化的网络靶点可能为 rno-miR-204-5, rno-miR-93-5p 等 26 条差异表达的 miRNA 及其相关家族,轴突导向通路(axon guidance)等富集较显著的通路可能是 apr-YTF 作用的关键。然而,miRNAs 调控的靶点众多,同一 miRNA 可调控不同靶点,而同一靶点又可接受不同 miRNA 调控,作用机制极其复杂。因此,养心通脉有效部位方影响骨髓间充质干细胞 miRNA 分子形成内源性微环境转录调控机制,仍需后续研究工作进一步探究和验证。

[参考文献]

[1] Pourrajab F. Molecular strategies contributing to efficient homing of bone marrow stem cells[J]. Int J Cardiovasc Res, 2012, doi: 10. 4172/2324-8602.1000102.

[2] Otto B J, Oie E, Shahdadfar A, et al. Intramyocardial injections of human mesenchymal stem cells following acute myocardial infarction modulate scar formation and improve left ventricular function[J]. Cell Transplant, 2012, 21(8):1697-1709.

[3] 孙敬和,洗绍祥,黄习文,等. 中医药干预骨髓间充质干细胞体外定向诱导分化为心肌细胞的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(1):115-118.

[4] 郑景辉. 养心通脉方研究述评[J]. 吉林中医药, 2015, 35(2):187-190.

[5] 袁肇凯,黄献平,李勇华,等. 养心通脉有效部位方动员骨髓间充质干细胞归巢大鼠梗死心肌的实验研究[J]. 中华中医药杂志,2012,27(9):2321-2325.

[6] 黄献平,袁肇凯,郑景辉,等. 养心通脉有效部位方对 MSCs 向心肌样细胞分化的影响[J]. 中药新药与临床药理,2012,23(4):427-430.

[7] 郑景辉,黄龙坚,吴新正,等. 基于 iTRAQ 结合质谱技术的养心通脉有效部位方对大鼠 BMSCs 作用蛋白的探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(20): 107-112.

[8] 郑景辉,袁肇凯,莫云秋,等. 心血瘀阻证模型大鼠心肌微环境 p38 信号通路的变化及在骨髓间充质干细胞移植中的作用[J]. 中医杂志,2014, 55(10): 875-878.

[9] Hullinger T G, Montgomery R L, Seto A G, et al. Inhibition of miR-15 protects against cardiac ischemic injury[J]. Circulation Research, 2012,110(1):71-81.

[10] Wahlquist C, Jeong D, Rojasmuñoz A, et al. Inhibition of miR-25 improves cardiac contractility in the failing heart[J]. Nature, 2014, 508(7497):531-535.

[11] Stoeckli E. Where does axon guidance lead us? [J]. F1000 Res, 2017, doi: 10. 12688/f1000research. 10126. 1.

[12] Hamm M J, Kirchmaier B C, Herzog W. Sema3d controls collective endothelial cell migration by distinct mechanisms via Nrp1 and PlxnD1 [J]. J Cell Biol, 2016, 215(3):415-430.

[13] Mommersteeg M T, Andrews W D, Ypsilanti A R, et al. Slit-roundabout signaling regulates the development of the cardiac systemic venous return and pericardium [J]. Circ Res,2013,112(3):465-475.

[14] Jf O S, Neylon A, Mcgorrian C, et al. miRNA-93-5p and other miRNAs as predictors of coronary artery disease and STEMI [J]. Int J Cardiol, 2016, 224: 310-316.

[15] Laforest B, Bertrand N, Zaffran S. Anterior Hox Genes in Cardiac Development and Great Artery Patterning [J]. J Cardiovasc Dev Dis, 2014,1(1):3-13.

[责任编辑 周冰冰]