

# GAS5抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路对冠状动脉性心脏病大鼠心肌组织保护机制研究



王群烨<sup>1</sup>, 李春红<sup>2</sup>, 徐 露<sup>2</sup>

1. 哈尔滨嘉润医院内科 (哈尔滨 161000)

2. 齐齐哈尔医学院第一附属医院心内科 (黑龙江齐齐哈尔 161006)

**【摘要】目的** 研究长链非编码 RNA 生长停滞特异性转录本 5 (LncRNA GAS5) 通过抑制 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 信号通路的异常激活保护冠状动脉性心脏病 (CHD) 大鼠心肌组织机制。**方法** 根据不同模型, 将 60 只清洁级健康 SD 大鼠分为对照组、CHD 组及 GAS5 过表达组, 每组各 20 只。对照组大鼠转染空载体质粒, CHD 组和 GAS5 过表达组构建 CHD 模型, 在此基础上, GAS5 过表达组静脉注射 pcDNA3.1-GAS5, 每天 1 次, 连续 5 d。应用 RT-qPCR 检测 3 组大鼠心肌组织中生长停滞特异性转录本 5 (GAS5)、Wnt-1、 $\beta$ -catenin 和 c-Myc 的 mRNA 表达水平; 模块化 DPP 自动生化分析仪测定血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL-C) 和低密度脂蛋白 (LDL-C) 的表达水平; 采用邻苯三酚自氧化法检测心肌组织氧化应激指数和超氧化物歧化酶 (SOD) 水平; ELISA 检测大鼠血清中肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、肌钙蛋白 I (cTnI)、丙二醛 (MDA)、GAS5 的表达水平; Western blotting 法检测大鼠心肌组织中 Wnt-1、 $\beta$ -catenin 和 c-Myc 的蛋白表达水平。**结果** 与对照组大鼠相比, CHD 组 TC、TG、HDL-C、MDA、CK-MB 和 cTnI 水平均明显升高 ( $P < 0.05$ ), 而 GAS5 mRNA、SOD 和 LDL-C 水平明显降低 ( $P < 0.05$ )。与 CHD 组大鼠相比 GAS5 过表达组血清 TC、TG、HDL-C、MDA、CK-MB 和 cTnI 水平均明显降低 ( $P < 0.05$ ), 而 SOD 和 LDL-C 水平明显升高 ( $P < 0.05$ )。与对照组大鼠相比, CHD 组 Bax 蛋白以及 Wnt-1、 $\beta$ -catenin、c-Myc 的蛋白和 mRNA 表达均显著增加 ( $P < 0.05$ ); 而 Bcl-2 蛋白显著减少 ( $P < 0.05$ )。与 CHD 组大鼠相比, GAS5 过表达组心肌组织 Bax 蛋白表达以及 Wnt-1、 $\beta$ -catenin、c-Myc 的蛋白和 mRNA 表达均 ( $P < 0.05$ ) 显著减少, 而 Bcl-2 蛋白显著增加 ( $P < 0.05$ )。**结论** 过表达 GAS5 可减轻 CHD 大鼠心肌氧化应激损伤, 抑制心肌细胞凋亡, 其机制可能是通过抑制心肌组织中 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路异常激活实现对心肌的保护作用。

**【关键词】** 生长停滞特异性转录因子 5; Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路; 冠心病; 心肌损伤; 心肌酶; 凋亡

**【中图分类号】** R34

**【文献标识码】** A

Protection mechanism of myocardial tissues of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling inhibition by GAS5 in rats with coronary artery disease

WANG Qunye<sup>1</sup>, LI Chunhong<sup>2</sup>, XU Lu<sup>2</sup>

1. Department of Internal Medicine, Harbin Jiarun Hospital, Harbin 161000, China

2. Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202502044

通信作者: 王群烨, 主治医师, Email: wangqy19850315@163.com

<https://yxqy.whuznhmedj.com>

Corresponding author: WANG Qunye, Email: wangqy19850315@163.com

**【Abstract】Objective** To study the mechanism of by which long-chain non-coding RNA growth arrest-specific transcript 5 (lncRNA GAS5) protects myocardial tissues in rats with coronary artery disease (CHD) by inhibiting the abnormal activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. **Methods** According to different models, 60 clean-grade healthy SD rats were divided into the control group, the CHD group and the GAS5 overexpression group, with 20 rats in each group. The rats in the control group were transfected with empty vector plasmid, and the CHD model was constructed in CHD group and GAS5 overexpression group. On this basis, the CHD+GAS5 overexpression group was injected intravenously with pcDNA3.1-GAS5 once a day for 5 d. RT-qPCR was applied to detect the mRNA expression levels of GAS5, Wnt-1,  $\beta$ -catenin and c-Myc in the cardiac tissues of the three groups of rats. The expression levels of TC, TG, HDL-C and LDL-C were determined using modular DPP automatic biochemical analyzer ; the oxidation stress index and SOD levels in myocardial tissues were detected using the pyrogallol autoxidation method; the expression levels of cardiac myosin enzymes CK-MB, cTnI, MDA, and GAS5 in the serum of rats were detected by ELISA; Western blot (WB) was used to detect the protein expression levels of Bax, Bcl2, Wnt-1,  $\beta$ -catenin and c-Myc in rat myocardial tissues. **Results** Compared with rats in the control group, serum TC, TG, HDL-C, MDA, CK-MB, and cTnI levels were significantly higher in the CHD group ( $P<0.05$ ), while GAS5 mRNA SOD and LDL-C levels were significantly lower ( $P<0.05$ ). Compared with rats in the CHD group, serum TC, TG, HDL-C, MDA, CK-MB and cTnI levels were significantly lower in the GAS5 overexpression group ( $P<0.05$ ), while GAS5 mRNA SOD and LDL-C levels were significantly higher ( $P<0.05$ ). Compared with the control group, myocardial tissues of the CHD group showed a significant increase in Bax protein, and protein and mRNA expression of Wnt-1,  $\beta$ -catenin and c-Myc ( $P<0.05$ ) all increased, while the Bcl-2 protein significantly decreased ( $P<0.05$ ). Compared with rats in the CHD group, myocardial tissues in the GAS5 overexpression group showed a significant decrease in Bax protein expression, a decrease in protein and mRNA expression of Wnt-1,  $\beta$ -catenin, and c-Myc ( $P<0.05$ ), and a significant increase in Bcl-2 protein ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Overexpression of GAS5 attenuated myocardial oxidative stress injury and inhibited cardiomyocyte apoptosis in CHD rats, and its mechanism may be to achieve the protective effect on myocardium by inhibiting the abnormal activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in myocardial tissues.

**【Keywords】** Growth arrest-specific 5; Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway; Coronary heart disease; Myocardial injury; Myocardial enzymes; Apoptosis

冠状动脉性心脏病 (coronary artery heart disease, CHD) 是心血管系统常见的疾病, 又称冠心病或缺血性心脏病, 作为心血管病第二大死因, 2020 年中国农村居民 CHD 死亡率为 135.88 /10 万人, 自 2012 年以来 CHD 死亡率呈持续上升状态<sup>[1]</sup>。CHD 发病诱因众多, 包括糖尿病、高血压病、肥胖、吸烟、遗传及精神压力等, 虽目前药物、经皮冠状动脉介入等治疗技术日益改进, 但 CHD 高致死率仍是临床面临的重大挑战<sup>[2]</sup>。因此, CHD 早期诊断及治疗尤为重要。在左心室功能不全前得到诊治的 CHD 患者预后明显较好。伴随对 CHD 病理机制研究的深入, 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 与 CHD 的关系受到高度关注。lncRNA 不但在多种细胞发育过程中起到关键

作用, 同时还参与调控巨噬细胞、减轻血管炎症及调节代谢等<sup>[3-5]</sup>。研究显示, lncRNA 可能与 CHD 的发病有关<sup>[6]</sup>。Li 等<sup>[7]</sup>研究发现, CHD 大鼠存在血清 lncRNA 生长阻滞特异性转录本 5 (lncRNA growth arrest-specific transcripts 5, lncRNA GAS5) 下调, 而 GAS5 的过表达可抑制 CHD 大鼠心肌组织中 Wnt/ $\beta$  连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 信号通路的异常激活。lncRNA GAS5 与乳腺癌、前列腺癌和肺癌等多种恶性肿瘤密切相关<sup>[8-10]</sup>。龙曼云等<sup>[11]</sup>研究发现, lncRNA 在 CHD 患者中表达明显下调, 有望作为 CHD 敏感的生物标志物。目前, Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路被证实与 CHD 发生、心肌梗死心肌愈合等均有着重要影响, 但 GAS5 是否通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路发挥心肌保护作用尚不清楚<sup>[12]</sup>。本研究通

过构建大鼠 CHD 模型,探讨 lncRNA GAS5 在 CHD 发病过程中可能的分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器

DPP 自动生化分析仪 (Roche Diagnostics 瑞士); QuantStudio 6 Flex System 实时荧光定量 PCR 仪 (Life Technology)。

### 1.2 主要药品与试剂

腹腔注射垂体液 (安徽宏业药业有限公司, 批号: H34022977); pcDNA3.1-GAS5 质粒 (温州科森生物科技有限公司, 批号: KM1036772); 1% 戊巴比妥钠 (批号: P3761)、血清肌酸激酶同工酶 (creatin kinase-myocardial band, CK-MB) 和肌钙蛋白 I (cardiac troponin I, cTnI) 检测试剂盒 (批号: MAK116) 均购自 Sigma-Aldrich; Trizol 试剂盒 (Thermo Fisher Scientific, 批号: 15596026CN); 邻苯三酚自氧化法检测试剂盒 (上海瓦兰生物科技有限公司, 批号: WS8410F); 丙二醛 (malondialdehyde, MDA, 批号: MAK568) 和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD, 批号: CEA597Ge) 检测试剂盒购自南京赛泓瑞生物科技有限公司; B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2, 批号: ab32124)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2-associated X protein, Bax, 批号: ab32503)、Wnt-1 (批号: ab15251)、 $\beta$ -catenin (批号: ab16051)、 $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 抗体 (批号: ab8226) 和相应二抗 (批号: ab6721) 均购自 Abcam; c-Myc (Cell Signaling Technology, 批号: 9402S); BCA 蛋白检测试剂盒 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司, 批号: 23225]; 牛蓝白蛋白 (Sigma-Aldrich, 批号: A7906)。

### 1.3 动物

清洁级健康 SD 大鼠 60 只, 体重 ( $230 \pm 20$ ) g, 购自重庆恩斯维尔生物科技有限公司, 许可证号: SYXK (渝) 2022-0074, 严格饲养于齐齐哈尔医学院第一附属医院实验中心 SPF 级动物房。采用标注啮齿动物饲料和灭菌二级超纯水饲养, 饲养环境为明暗 12 h 循环, 温度 22~25℃, 相对湿度 50%~70%。本实验经齐齐哈尔医学院第一附属医院动物伦理委员会批准 [伦理审批号: 2023 伦理研第 (38) 号]。

## 1.4 方法

### 1.4.1 动物分组与造模

将大鼠随机分为对照组 ( $n=20$ ) 和 CHD 组 ( $n=40$ )。CHD 大鼠模型采用高脂饮食和腹腔注射垂体液相结合方法建立。具体方法: CHD 模型大鼠给予高脂饮食 (2% 胆固醇、10% 猪油、0.2% 丙基硫氧嘧啶、0.5% 胆酸钠和 87.3% 基础饲料), 并自由饮水 8 周。最后 3 d, 大鼠腹腔注射垂体液 30 U/kg, 每日 1 次。对照组大鼠饲喂普通基础饲料, 自由饮水 8 周。将 40 只模型大鼠按体重立即编号后随机分为 CHD 组和 GAS5 过表达组 (静脉注射 pcDNA3.1-GAS5 50 mg/kg, 每日 1 次, 连续 5 d), 每组 20 只。

各组大鼠采用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉。提取大鼠股动脉血液用于生化指标检测。抽取颈静脉血 5 mL, 静置 30 min 后,  $2\,000 \times g$  离心 10 min, 上清置于 -70℃ 冰箱中, 检测血清指标。取仰卧位固定后, 暴露大鼠心脏, 从主动脉根部切断。取适量心尖部心肌组织置于预先标记的冷冻管中, 快速放入液氮中。最后转移至 -80℃ 冰箱备用。

### 1.4.2 血清生化指标检测

使用模块化 DPP 自动生化分析仪测定总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL-C) 和低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL-C) 的水平。采用邻苯三酚自氧化法检测心肌组织氧化应激指数 MDA 和 SOD 水平; 采用试剂盒检测 CK-MB 和 cTnI 水平。

### 1.4.3 RT-PCR 检测

采用 Trizol 一步法提取心肌组织的总 RNA, 通过紫外分析和甲醛变性电泳检测得到高质量的 RNA。经禽成髓细胞病毒逆转录酶分析, 获得了 1  $\mu$ g RNA 和互补 DNA (cDNA)。PCR 采用 SYBR Green 法。PCR 引物由 Invitrogen 公司设计合成, 引物序列见表 1。PCR 反应体系为 cDNA 1.0  $\mu$ L,  $2 \times$  SYBR Green Mix 10  $\mu$ L, 正向引物 (10  $\mu$ mol/L) 0.5  $\mu$ L, 反向引物 (10  $\mu$ mol/L) 0.5  $\mu$ L, RNase 游离水 8  $\mu$ L, 以  $\beta$ -actin 作为内参。PCR 扩增条件: 94℃ 变性 40 s, 60℃ 退火 1 min, 72℃ 扩展 1 min, 共 40 个循环, 最后 72℃ 扩展 10 min。手动获得每个反应管的阈值循环 (Ct) 值, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法分析各组靶基因表达的比例关系。

表1 各基因PCR引物序列

Table 1. PCR primer sequences for each gene

| 基因        | 引物序列                                                                            |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------|
| GAS5      | F: 5' -AGCCAGAAAATGGGATGGTGG-3'<br>R: 5' -ACTGCACTGTCCACTTGTCA-3'               |
| Wnt-1     | F: 5' -GGTGGGGCATCGTGAACATAG-3'<br>R: 5' -GGAGGTGATTGCGAAGATAAACG-3'            |
| β-catenin | F: 5' -TGCTGAACA AGCTCAAGTGA-3'<br>R: 5' -ACTCTGGAGAGGAAGCGTGTG-3'              |
| c-Myc     | F: 5' -TGCTGCATGAAGAGACACCG-3'<br>R: 5' -TTTCAACTGTTCTCGCCGTT-3'                |
| β-actin   | F: 5' -CGACT-TCAACAGCAACTCCCCTCTTCC-3'<br>R: 5' -TGGGTGGTCCAGGGTTTCTTACTCCTT-3' |

注：F代表正向；R代表反向。

1.4.4 Western blotting检测

组织标本剪碎后加入 RIPA 裂解缓冲液，放置于冰溶解 30 min，超声波碎片后经 12 000 × g 离心 15 min，提取上清液同时加入缓冲十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE）样品在 95 ℃ 金属浴 10 min。使用 BCA 蛋白检测试剂盒测定蛋白浓度，蛋白样品通过 SDS-PAGE 分离，随后转移到聚偏二氟乙烯（polyvinylidene fluoride, PVDF）膜上，放置在 5% 牛蓝白蛋白 1 h。一抗（稀释比例 1：100）滴至 PVDF 膜上孵育过夜，抗体包括 Bax、Bcl-2、Wnt-1、β-catenin 及 c-Myc。然后，用 HRP 偶联的二抗（稀释比例 1：1 000）在 37 ℃ 下包膜 2 h。使用电生化学发光溶液进行显影，β-actin

作为内参，使用 Image J 软件分析目标条带的灰度值。

1.5 统计学分析

所有数据采用 SPSS 21.0 软件进行分析。计量资料符合正态分布，采用  $\bar{x} \pm s$  表示，两组间比较采用 *t* 检验，多组间比较经方差分析后，采用 LSD-*t* 进行两两比较。所有检验均为双侧检验，以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GAS5在不同组大鼠中的表达水平

RT-qPCR 检测 3 组不同大鼠中 GAS5 mRNA 表达水平，结果显示，CHD 组大鼠 GAS5 的表达明显低于对照组（*P* < 0.05），尾静脉注射 pcDNA3.1-GAS5 的 CHD 大鼠其 GAS5 的表达结果明显升高（*P* < 0.05），提示过表达 GAS5 成功。具体见图 1A。

使用模块化 DPP 自动生化分析仪测定 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 的水平。结果显示，与对照组大鼠相比，CHD 组大鼠血清中 TC、TG 和 HDL-C 水平均明显升高（*P* < 0.05），而 LDL-C 水平明显降低（*P* < 0.05）；与 CHD 组大鼠相比，GAS5 过表达组 TC、TG 和 HDL-C 水平均明显降低（*P* < 0.05），而 LDL-C 水平明显升高（*P* < 0.05）。具体见图 1B。

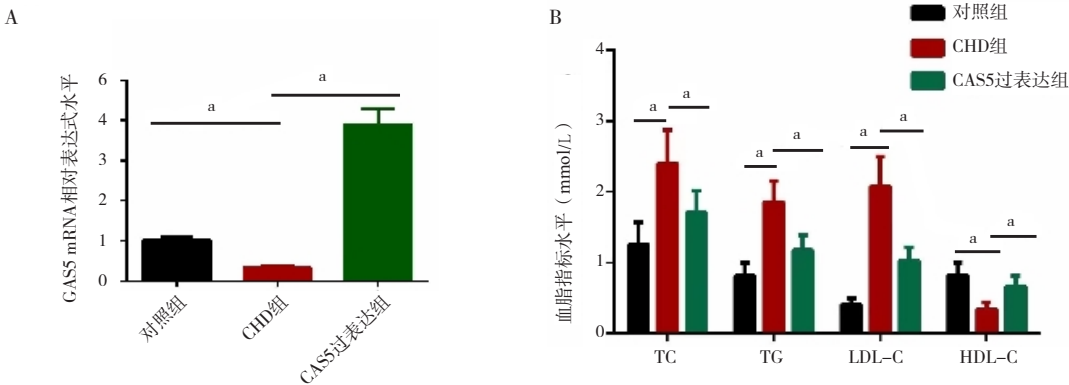


图1 GAS5过表达对CHD大鼠GAS5 mRNA及血脂水平的影响（n=20）

Figure 1. Effect of GAS5 overexpression on GAS5 mRNA and serum lipid levels in CHD rats (n=20)

注：A. GAS5 mRNA表达水平；B. 血脂水平；<sup>a</sup>*P* < 0.05。

2.2 GAS5对CHD大鼠心肌CK-MB、cTnI、MDA的影响

ELISA 结果显示，与对照组大鼠相比，CHD 组大鼠 CK-MB 和 cTnI 水平均明显升高（*P* < 0.05）；

与 CHD 组大鼠相比，CHD 过表达组大鼠 CK-MB 和 cTnI 水平均明显降低（*P* < 0.05）。与对照组大鼠相比，CHD 组大鼠血清中 MDA 水平均明显升高（*P* < 0.05），SOD 水平明显降低（*P* < 0.05）；与

CHD 组大鼠相比，GAS5 过表达组大鼠血清中 MDA 水平均明显降低 ( $P<0.05$ )，SOD 水平明显升高 ( $P<0.05$ )。具体见图 2。

2.3 GAS5对冠心病大鼠心肌细胞凋亡相关蛋白Bax和Bcl-2的影响

Western blotting 检测结果显示，与对照组大

鼠相比，CHD 组大鼠心肌组织中 Bax 蛋白表达明显升高 ( $P<0.05$ )，而 Bcl-2 蛋白表达水平明显降低 ( $P<0.05$ )；与 CHD 组大鼠相比，GAS5 过表达组大鼠心肌组织中 Bax 蛋白表达明显降低 ( $P<0.05$ )，而 Bcl-2 蛋白表达水平明显升高 ( $P<0.05$ )。具体见图 3。

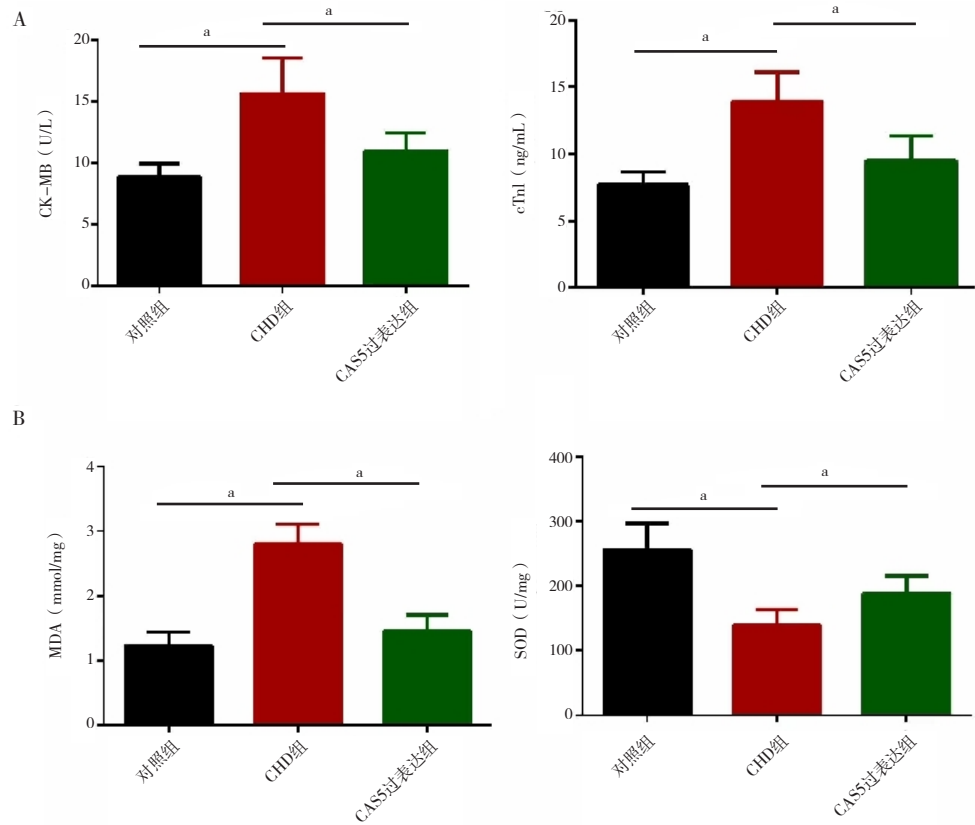


图2 过表达GAS5抑制CHD大鼠心肌氧化应激反应损伤 (  $n=20$  )

Figure 2. Overexpression of GAS5 inhibits myocardial oxidative stress injury in CHD rats ( $n=20$ )

注：A. CK-MB和cTnI表达水平；B. MDA和SOD表达水平； $^aP<0.05$ 。

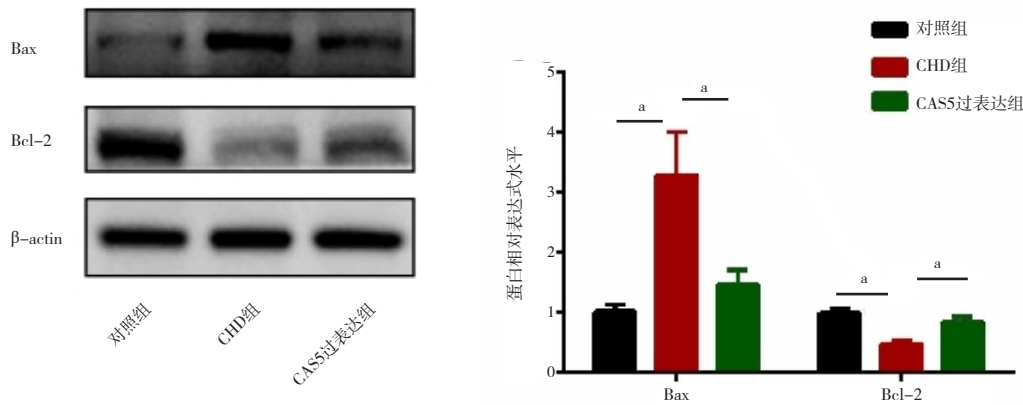


图3 过表达GAS5抑制冠心病大鼠心肌细胞凋亡 (  $n=20$  )

Figure 3. Overexpression of GAS5 inhibits cardiomyocyte apoptosis in rats with coronary heart disease ( $n=20$ )

注： $^aP<0.05$ 。

## 2.4 GAS5过表达抑制CHD大鼠心肌组织Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路异常激活

应用 RT-qPCR 检测 3 组大鼠心肌组织中 Wnt-1、 $\beta$ -catenin 和 c-Myc 的 mRNA 表达水平, 结果显示, 与对照组大鼠相比, CHD 组大鼠心肌组织中 Wnt-1、 $\beta$ -catenin 和 c-Myc 的 mRNA 表达水平均显著增加 ( $P<0.05$ ); 与 CHD 组大鼠相比, GAS5 过表达组大鼠心肌组织中 Wnt-1、

$\beta$ -catenin 和 c-Myc 的 mRNA 表达水平均显著减少 ( $P<0.05$ ), 具体见 图 4A。Western blotting 检测结果显示, 与对照组大鼠相比, CHD 组大鼠心肌组织中 Wnt-1、 $\beta$ -catenin 和 c-Myc 的蛋白水平均显著增加 ( $P<0.05$ ); 与 CHD 组大鼠相比, GAS5 过表达组大鼠心肌组织中 Wnt-1、 $\beta$ -catenin 和 c-Myc 的蛋白表达水平均显著减少 ( $P<0.05$ )。具体见 图 4B。

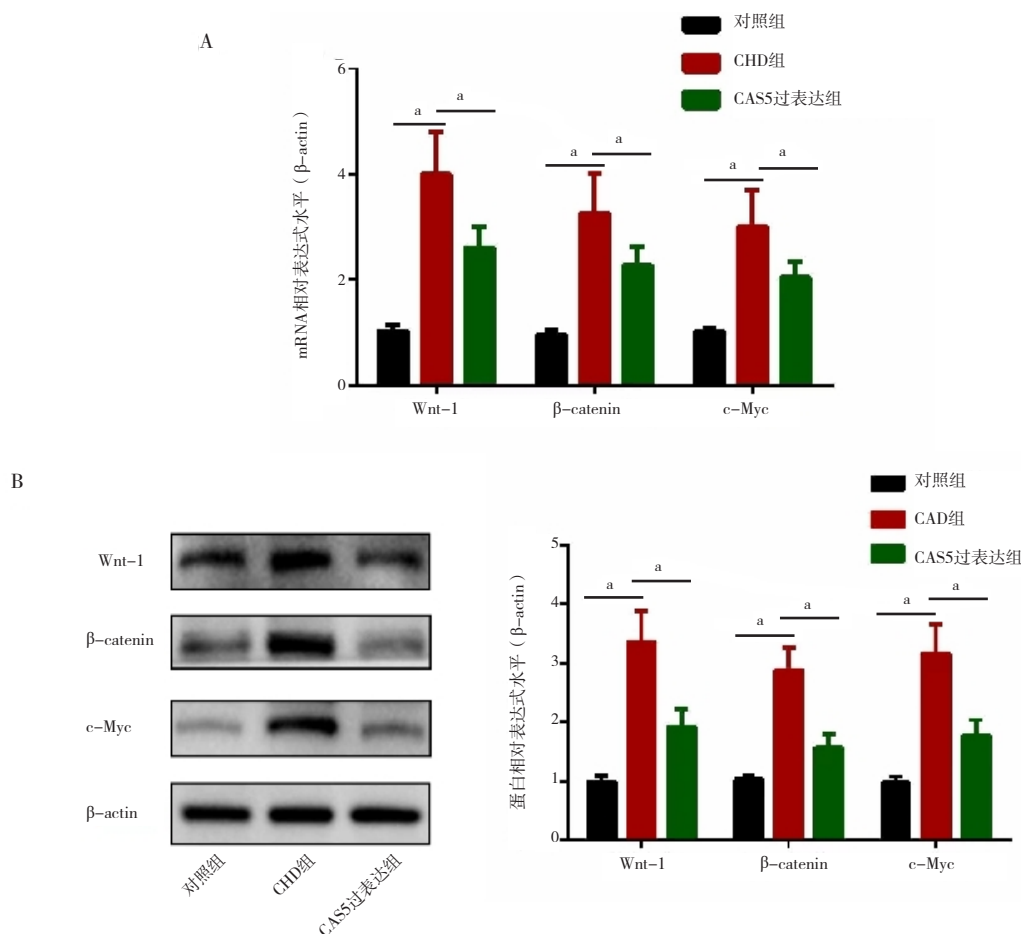


图4 GAS5过表达抑制CHD大鼠心肌组织Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路异常激活 ( $n=20$ )  
Figure 4. GAS5 overexpression inhibits aberrant activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in myocardial tissues of CHD rats ( $n=20$ )

注: A. Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路mRNA表达水平; B. Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路蛋白表达水平; <sup>a</sup> $P<0.05$ 。

## 3 讨论

现阶段, CHD 发病具体分子机制已成为研究热点, 其中 LncRNA 被证实与心血管疾病发病密切相关, LncRNA 通过表观遗传调控 (如染色质重塑、miRNA 海绵作用) 参与动脉粥样硬化、心肌纤维化等病理进程 [6-8], 相关研究表明, 多种 LncRNA 在诸如心肌肥厚、心肌梗死及心肌炎等心血管疾病中异常表达 [9], 其中 LncRNAGAS5 涉

及乳腺癌、前列腺癌和肺癌等多种恶性肿瘤的发生与发展 [10]。Yu 等 [13] 研究发现, GAS5 能够通过靶向 YBX1 调控 p21 的表达, 从而增强 G1 期肿瘤细胞的阻滞, 抑制胃癌的发生发展。既往研究发现, LncRNAGAS5 在 CHD 患者中表达明显下调, 有望作为 CHD 敏感生物标志物 [11-12]。最近, Wang 等 [14] 研究提出, GAS5 可以通过调节 miR-21 和磷酸酶和紧张素同源物 (phosphatase and tensin homologue, PTEN) 表达来抑制心肌纤维化,

提示 GAS5 可能在心脏病中发挥保护作用。本研究结果显示, CHD 大鼠心肌组织中 GAS5 表达明显下调; 此外通过过表达 GAS5 结果发现, 过表达 GAS5 大鼠的高脂血症得到明显改善, 心肌损伤标志物表达明显减少, 此外 PCR 和 Western blotting 结果均证实, 过表达 GAS5 大鼠的心肌细胞凋亡标志物明显降低, 同时 MDA 和 SOD 等氧化应激指标明显改善, 提示过表达 GAS5 可减轻 CHD 大鼠心肌组织氧化应激损伤, 同时减少心肌细胞凋亡。这一发现与 Wang 等<sup>[14]</sup>的研究形成互补, 其报道 GAS5 通过 miR-21/PTEN 轴抑制心肌纤维化, 而本研究表明 GAS5 可能通过抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路作用实现心肌保护。

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在正常发育、基因表达、细胞增殖分化等生命过程中扮演重要角色, 其异常激活与肿瘤、骨骼疾病等发病密切相关<sup>[15]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的过度激活可促进心肌成纤维细胞向肌成纤维细胞转化, 加速胶原沉积及心室重构<sup>[16]</sup>。本文结果还显示, CHD 大鼠心肌组织中 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路存在异常激活, Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在正常发育、基因表达、细胞增殖分化等生命过程中扮演重要角色, 其异常激活与肿瘤、骨骼疾病等发病密切相关<sup>[15]</sup>。前期研究发现, GAS5 能够与 mTOR 信号通路相互作用从而发挥其正常生物学功能, 此外, GAS5 还能参与 miR-21 介导的 PTEN/基质金属蛋白酶-2 信号通路, 参与其抑制心脏组织中成纤维细胞异常活化, 以及心脏纤维化等病理过程, 最终调节高血压所致的心室重构<sup>[17]</sup>。既往研究表明, 经典的 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路可增强单核-内皮细胞黏附能力, 导致周围细胞向脂肪系分化, 可能与动脉粥样硬化及血管钙化等 CHD 病理改变密切相关<sup>[18]</sup>。本研究结果显示, 过表达 GAS5 后大鼠心肌组织中 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路相关蛋白表达明显下调, 同时心肌细胞凋亡和损伤明显减轻, 提示 GAS5 可能是通过抑制 CHD 大鼠心肌组织中 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路异常激活发挥心肌保护作用。

先前研究已证实, GAS5 能够抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路, 增强乳腺癌细胞对阿霉素的敏感性<sup>[19]</sup>。此外, GAS5 还被发现能够抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路, 从而有效抑制结直肠癌的血管生成、侵袭和转移<sup>[20]</sup>。然而, 在心肌纤维化领

域中, GAS5 对 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路及心肌保护作用尚不明确。本研究验证了 GAS5 对 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的抑制作用, 同时在动物实验中验证了 GAS5 对 CHD 大鼠心肌的保护作用, 弥补了这部分研究的空白。然而, 本研究存在一定局限性。本研究的实验层面仅停留在动物实验, 缺乏临床标本验证和体外细胞实验验证。在后续研究中, 本团队将继续深入挖掘 GAS5 对 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路影响的深入分子机制。基于本研究的发现, 未来可开展以下工作: 一是开发 GAS5 检测试剂盒用于 CHD 早期筛查; 二是构建心肌特异性 GAS5 过表达动物模型和细胞模型验证其长期疗效; 三是探索 GAS5 与现有抗 Wnt 药物 (如 ICG-001) 的联合治疗方案。

综上所述, 过表达 GAS5 可减轻 CHD 大鼠心肌氧化应激损伤, 抑制心肌细胞凋亡, 可能是通过抑制心肌组织中 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路异常激活实现心肌保护作用, 提示 GAS5 有望作为 CHD 新的生物标志物和治疗靶点。

## 参考文献

- 1 《中国心血管健康与疾病报告》2021 (冠心病部分内容) [J]. 心肺血管病杂志, 2023, 42(12): 1191-1198. [The China Cardiovascular Health and Disease Report 2021 (Part of Coronary Heart Disease Content)[J]. Journal of Cardiovascular and Pulmonary Diseases, 2023, 42(12): 1191-1198.] DOI: 10.3969/j.issn.1007-5062.2023.12.001.
- 2 赵冬梅, 赵兴胜, 南景龙. 利伐沙班联合氯吡格雷对房颤合并冠心病行经皮冠脉介入术患者的疗效观察 [J]. 中国药师, 2020, 23(8): 1566-1569. [Zhao DM, Zhao XS, Nan JL. Efficacy observation of rivaroxaban with clopidogrel in patients with atrial fibrillation and coronary heart disease undergoing percutaneous coronary intervention[J]. Chinese pharmacist, 2020, 23(8): 1566-1569.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-049X.2020.08.019.
- 3 温思露, 李芬, 邓玉琴, 等. miRNA 和 lncRNA 调控巨噬细胞极化在变应性疾病中的作用 [J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2023, 17(3): 266-274. [Wen SL, Li F, Deng YQ, et al. The role of miRNA and lncRNA regulating macrophage in allergic diseases[J]. Chinese Journal of Allergy & Clinical Immunology, 2023, 17(3): 266-274.] DOI: 10.3969/j.issn.1673-8705.2023.03.011.
- 4 杨鑫, 胡炎伟. 长链非编码 RNA 在动脉粥样硬化发生发展中的作用机制及临床价值 [J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(7): 741-747. [Yang X, Hu YW. The mechanism and clinical value of long non-coding RNA in the occurrence and development of atherosclerosis[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2023, 46(7): 741-747.] DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20230202-00061.

- 5 张世杰, 张田利, 童翔, 等. 非编码 RNA 在肺纤维化中作用机制的研究进展 [J]. 华西医学, 2021, 36(1): 91–95. [Zhang SJ, Zhang TL, Tong X, et al. Research progress on the mechanism of non-coding RNA in pul fibrosis[J]. West China Medical Journal, 2021, 36(1): 91–95.] DOI: [10.7507/1002-0179.202012309](https://doi.org/10.7507/1002-0179.202012309).
- 6 Li H, Liu Y, Huang J, et al. Association of genetic variants in lncRNA GAS5/miR/mTOR axis with risk and prognosis of coronary artery disease among a Chinese population[J]. J Clin Lab Ana, 2020, 34(10): 23430. DOI: [10.1002/jcla.23430](https://doi.org/10.1002/jcla.23430).
- 7 Li X, Hou L, Cheng Z, et al. Overexpression of GAS5 inhibits abnormal activation of Wnt/ $\beta$ -atenin signaling pathway in myocardial tissues of rats with coronary artery disease[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(7): 11348–11359. DOI: [10.1002/jcp.27792](https://doi.org/10.1002/jcp.27792).
- 8 江琪, 习一清, 魏蕾. LncRNA GATA3-AS1 促进乳腺癌细胞的增殖迁移及其机制 [J]. 医学新知, 2022, 32(2): 127–137. [Jiang Q, Xi YQ, Wei L. LncRNA GATA3-AS1 promotes the proliferation and migration of breast cancer cells its mechanism[J]. Yixue Xinzhi Zazhi, 2022, 32(2): 127–137.] DOI: [10.12173/j.issn.1004-5511.202202018](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-5511.202202018).
- 9 郭梦梦, 明道靖, 任一鸣, 等. 长链非编码 RNA LINC00641 在恶性肿瘤发生发展中的作用机制研究进展 [J]. 医学新知, 2024, 34(1): 88–98. [Guo MM, Ming DJ, Ren YM, et al. Research progress on the mechanism of long non-coding RNA LINC00641 in the occurrence and development of malignant tumors[J]. Yixue Xinzhi Zazhi, 2024, 34(1): 88–98.] DOI: [10.12173/j.issn.1004-5511.202311035](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-5511.202311035).
- 10 常亮, 李玉明, 胡金朋, 等. lncRNA 和 miRNA 在肾脏纤维化中的作用 [J]. 医学新知, 2024, 33(2): 149–156. [Chang L, Li YM, Hu JP, et al. The role of lncRNA and miRNA in renal fibrosis[J]. Yixue Xinzhi Zazhi, 2024, 33(2): 149–156.] DOI: [10.12173/j.issn.1004-5511.202206010](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-5511.202206010).
- 11 龙曼云, 李浪. lncRNA 在缺血性心脏病中的研究进展 [J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(2): 1358–1361. [Long MY, Li L. Research progress of lncRNA in ischemic heart disease [J]. Journal of Guangxi Medical University, 2021, 38(2): 1358–1361.] DOI: [10.16190/j.cnki.45-1211/r.2021.02.032](https://doi.org/10.16190/j.cnki.45-1211/r.2021.02.032).
- 12 鲍乾坤, 杨倩, 牟晓峰, 等. Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路及其在心脏疾病中的作用 [J]. 生理科学进展, 2022, 53(2): 115–120. [Bao QK, Yang Q, Mou XF, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway and its role heart disease[J]. Progress in Physiological Sciences, 2022, 53(2): 115–120.] DOI: [10.3969/j.issn.0559-7765.2022.02.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.0559-7765.2022.02.007).
- 13 Yu X, Ye Z, Hou L, et al. Hepatitis B virus x gene-downregulated growth-arrest specific 5 inhibits the cell viability and invasion of hepatocellular carcinoma cell lines by activating Y-box-binding protein 1/p21 signaling[J]. J Cell Commun Signal, 2022, 16(2): 179–190. DOI: [10.1007/s12079-021-00645-z](https://doi.org/10.1007/s12079-021-00645-z).
- 14 Wang Q, Xie Z. GAS5 silencing attenuates hypoxia-induced cardiomyocytes injury by targeting miR-21/PTEN[J]. Immun Inflamm Dis, 2023, 11(7): e945. DOI: [10.1002/iid.3.945](https://doi.org/10.1002/iid.3.945).
- 15 Sun Y, Lin J, Huang S, et al. Preliminary verification of lncRNA ENST00000609755.1 potential ceRNA regulatory network in coronary heart disease[J]. International Journal of Cardiology, 2020, 28(2): 165–175. DOI: [10.1016/j.ijcard.2020.11.064](https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2020.11.064).
- 16 张翥, 陶亮亮, 刘品刚, 等. Wnt/ $\beta$ -catenin 抑制剂 XAV939 对心肌梗死大鼠心肌纤维化的影响 [J]. 岭南心血管病杂志, 2021, 27(2): 214–218. [Zhang Z, Tao LL, Liu PG, et al. The effect of Wnt/ $\beta$ -catenin inhibitor XAV939 on myocardial fibrosis in rats with myocardial infarction[J]. Journal of Lingnan Cardiovascular Dases, 2021, 27(2): 214–218.] DOI: [10.3969/j.issn.1007-9688.2021.02.19](https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-9688.2021.02.19).
- 17 刘俊逸, 王延鹏. 血浆 LncRNA TUG1 水平与冠心病患者冠状动脉病变程度相关性 [J]. 热带医学杂志, 2020, 20(11): 1415–1417. [Liu JY, Wang YP. Correlation between plasma LncRNA TUG1 levels and the severity of coronary artery lesions in patients with coronary heart disease[J]. Journal of Tropical Medicine, 2020, 20(11): 1415–1417.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-3619.2020.11.005](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-3619.2020.11.005).
- 18 彭旭晖, 孙鸿彬, 张磊. 慢性心力衰竭患者血清 LncRNA 生长抑制特异性转录本 5 表达与心肌重构及心功能的相关性研究 [J]. 心肺血管病杂志, 2021, 40(7): 653–657. [Peng XH, Sun HB, Zhang L. Correlation study on the expression of serum LncRNA growth inhibitory specific 5 in patients with chronic heart failure and myocardial remodeling and cardiac function[J]. Journal of Cardio-Pulmonary and Vascular Disease, 2021, 40(7): 653–657.] DOI: [10.3969/j.issn.1007-5062.2021.07.002](https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-5062.2021.07.002).
- 19 Song J, Shu H, Zhang L, et al. Long noncoding RNA GAS5 inhibits angiogenesis and metastasis of colorectal cancer through the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(5): 6937–6951. DOI: [10.1002/jcb.27743](https://doi.org/10.1002/jcb.27743).
- 20 Chen Z, Pan T, Jiang D, et al. The lncRNA-GAS5/mir-221-3p/dkk2 axis modulates ABCB1-mediated adriamycin resistance of breast cancer via the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 19: 1434–1448. DOI: [10.1016/j.omtn.2020.01.030](https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.01.030).
- 收稿日期: 2025 年 02 月 17 日 修回日期: 2025 年 04 月 16 日  
本文编辑: 李 阳 钟巧妮