

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.003193

漆树酸通过调控 KAT8 介导的组蛋白 H4K16ac 高乙酰化改善 TAC 小鼠心肌纤维化

张焕婷, 吴书琪, 彭 昌

(贵州省儿童医院/遵义医科大学附属医院小儿内科, 遵义 563000)

【摘要】目的:探讨组蛋白乙酰化酶(histone acetylases, HATs)抑制剂漆树酸(anacardic acid, AA)改善胸主动脉缩窄术(thoracic aortic constriction, TAC)小鼠心肌纤维化的组蛋白乙酰化调控机制,为心肌纤维化的防治提供新靶点。**方法:**选择6~8周SPF级昆明小鼠为研究对象,按照随机数字表法将小鼠分为5组:正常(Normal)组、假手术(Sham)组、胸主动脉缩窄(TAC)组、胸主动脉缩窄+溶剂对照(TAC+Veh)组、胸主动脉缩窄+漆树酸(TAC+AA)组。12周后采用超声心动图检测各组小鼠模型构建情况;收集各组小鼠心脏组织进行以下检测:马松染色观察心肌组织纤维化情况;Western blot检测KAT8、H4K16ac、TGF- β 1、SMAD3、Collagen I、Collagen III蛋白表达情况;免疫共沉淀检测KAT8与H4K16ac的相互作用关系。**结果:**超声心动图表明TAC模型小鼠构建成功。马松染色结果表明,TAC组小鼠心脏较Sham组增大,心肌组织中胶原沉积增多,纤维化明显,而TAC+AA组较TAC组小鼠心脏缩小,心肌组织中胶原沉积减少,纤维化程度减轻。Western blot结果发现,TAC组小鼠心肌组织中KAT8及组蛋白H4K16ac的蛋白表达水平较Sham组明显升高(均 $P<0.05$),且TGF- β 1、SMAD3、Collagen I、Collagen III蛋白表达水平较Sham组明显升高(均 $P<0.05$)。与TAC组比较,AA明显降低TAC小鼠心肌组织中KAT8过表达及H4K16ac高乙酰化(均 $P<0.05$)。同时,TAC+AA组TGF- β 1、SMAD3、Collagen I、Collagen III蛋白表达较TAC组明显下降(均 $P<0.05$)。免疫共沉淀结果显示,KAT8可以与H4K16ac相互结合。此外,AA能够明显改善TAC小鼠的生存率。**结论:**KAT8介导的组蛋白H4K16ac高乙酰化可能通过调控TGF- β 1/SMAD3信号通路参与TAC小鼠心肌纤维化,而AA能够抑制KAT8介导的组蛋白H4K16ac高乙酰化进而改善TAC小鼠心肌纤维化。

【关键词】漆树酸;组蛋白乙酰化;心肌纤维化;小鼠**【中图分类号】**R542.2**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2022-06-09

Anacardic acid attenuates myocardial fibrosis through inhibiting histone H4K16ac hyperacetylation mediated by KAT8 in TAC mice

Zhang Huanting, Wu Shuqi, Peng Chang

(Department of Pediatrics, Guizhou Children's Hospital/The Affiliated Hospital of Zunyi Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the histone acetylation mechanism of histone acetylases (HATs) to inhibit anacardic acid (AA) attenuating myocardial fibrosis in thoracic aortic constriction (TAC) mice, and provide a new target for the prevention and treatment of myocardial fibrosis. **Methods:** SPF grade Kunming mice of 6–8 weeks were selected as the research animals and randomly divided into five groups: Normal group, Sham group, TAC group, TAC+Vehicle (TAC+Veh) group, and TAC+AA group. TAC mice models were detected by echocardiography in 12 weeks after TAC, and myocardial tissues of mice were collected for analysis. The cardiac morphology and myocardial fibrosis were observed by Masson staining. The expression of KAT8, H4K16ac, TGF- β 1, SMAD3, Collagen I, and Collagen III were assayed by Western blot. The interaction between KAT8 and H4K16ac was detected by co-immunoprecipitation (Co-IP). **Results:** Echocardiography showed that TAC model mice were successfully constructed. The results of Masson staining showed that the hearts of mice in TAC group were enlarged, collagen deposition in myocardial tissues increased and fibrosis was obvious compared with that in Sham group, while the hearts of mice in TAC+AA group were smaller, collagen deposition in myocardial tissues decreased and fibrosis degree was lighter than that in TAC group. Western blot results showed that the expression of KAT8 and H4K16ac in myocardial tissues of mice in TAC group were significantly higher than those in Sham group (all $P<0.05$). And the protein expression levels of TGF- β 1, SMAD3, Collagen I and Collagen III were significantly higher than those of Sham group (all $P<0.05$). Compared with TAC group, AA significantly inhibited the overexpression of KAT8 and the hyperacetylation of H4K16ac in TAC mice

(all $P<0.05$). Meanwhile, the protein expression levels of TGF- β 1, SMAD3, Collagen I and Collagen III in TAC+AA group were significantly decreased compared with TAC group (all $P<0.05$). The Co-IP results showed that KAT8 could bind to H4K16ac. In addition, AA significantly improved the survival rate of TAC mice. **Conclusion:** KAT8-mediated hyperacetylation of H4K16ac may be involved in

作者介绍:张焕婷, Email: 1278503294@qq.com,

研究方向:心血管系统疾病。

通信作者:彭 昌, Email: pengchang_2006@126.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:82060046)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20230316.1132.012.html>

(2023-03-17)

myocardial fibrosis in TAC mice by regulating TGF- β 1/SMAD3 signaling pathway, while AA could attenuate myocardial fibrosis in TAC mice by inhibiting KAT8-mediated hyperacetylation of histone H4K16ac.

【Key words】anacardic acid; histone acetylation; myocardial fibrosis; mice

目前认为导致心力衰竭的重要病理因素是心室重构,特别是广泛的心肌细胞丢失和过度的心肌纤维化^[1]。心肌纤维化是各种心脏疾病的病理基础^[2],由于逐渐积累的细胞外基质蛋白导致组织进一步发生纤维化改变,使得心肌组织的顺应性下降并加速心力衰竭进程,心肌纤维化的程度与心脏疾病的预后和死亡关系紧密^[3]。但目前针对心肌纤维化参与心力衰竭发病机制的认识及防治措施仍十分有限,且尚无治愈甚至逆转心肌纤维化的有效手段,迫切需要新的干预靶点和治疗手段来预防和逆转心肌纤维化。心肌纤维化作为各种心脏疾病的关键病理联系,已被证明是可逆的和可治疗的,至少在早期干预下是可治疗的^[4-5]。深入研究心肌纤维化的发病机制对预防和治疗心肌纤维化、保护心脏功能、预防心力衰竭的发生等具有重要意义。因此,本研究通过主动脉缩窄(transverse aortic constriction, TAC)构建小鼠心肌纤维化模型,探讨漆树酸(anacardic acid, AA)通过调控 KAT8 介导的组蛋白 H4K16ac 乙酰化修饰失衡进而预防和改善 TAC 小鼠心肌纤维化的相关机制,为心肌纤维化的防治提供新思路。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

选取健康 SPF 级 6~8 周昆明小鼠(雌雄不拘),体质量(36±6)g,购于遵义医科大学实验动物中心,动物许可证号 SCXK(黔)-2021-0002。通过部分结扎胸主动脉(约为主动脉直径的 70%)构建 TAC 小鼠模型。建模后的 TAC 小鼠按照随机数字表法将小鼠分为:正常(Normal)组、假手术(Sham)组、胸主动脉缩窄(TAC)组、胸主动脉缩窄+溶剂对照(TAC+Veh)组、胸主动脉缩窄+漆树酸(TAC+AA)组。干预 12 周后收集各组小鼠心脏保存于-80℃冰箱备用。

1.2 主要试剂及仪器

抗 H4K16ac 单克隆抗体(Cell Signaling, 美国)、抗 KAT8 多克隆抗体(Proteintech, 美国)、抗 TGF- β 1 多克隆抗体(Proteintech, 美国)、抗 SMAD3 单克隆抗体(Proteintech, 美国)、抗 Collagen I 多克隆抗体(Proteintech, 美国)、抗 Collagen III 多克隆抗体(Proteintech, 美国)、HRP 标记二抗(Proteintech, 美国);SDS-PAGE 凝胶试剂盒(Beyotime, 中国);CoIP 试剂盒(Breaver, 中国);改良马松三色染色试剂盒(BioBomei, 中国);Vevo 2100 超声仪(Visualsonics, 加拿大);Xinyi-48 高通量组织研磨仪(新芝, 中国);PAC 1000 电泳仪(Bio-Rad, 美国)。

1.3 超声心动图

给予 2% 异氟烷混合气体对小鼠进行诱导麻醉,然后转移至操作台固定,并持续给予 1.5% 异氟烷混合气体维持麻醉;采用 Vevo 2100 超声心动仪(Visual sonic, 加拿大)对小鼠进行经胸超声心动图检测。

1.4 马松染色

收集各组小鼠心脏,4℃生理盐水冲洗心脏组织后置于 4% 组织细胞固定液中过夜固定;次日,蒸馏水冲洗固定组织后按顺序依次添加不同浓度的乙醇和二甲苯试剂进行常规脱水包埋,然后切片(厚度 5 μ m);接着先后使用二甲苯 I、二甲苯 II 各 10 min 进行脱蜡,不同浓度乙醇溶液进行水化,最后在双蒸水中浸泡 5 min;将切片放入 Bouin 液,室温过夜进行媒染后,蒸馏水冲洗至切片上的黄色消失,按照改良马松三色染色试剂盒说明书依次先后添加试剂进行染色,将染色后的切片用不同浓度的乙醇溶液进行醇洗,最后二甲苯透明 3 次后中性树脂封片镜检。

1.5 心肌组织核蛋白的提取

收集各组小鼠心脏,使用 Minute™ 胞核质分离试剂盒(Invent, 美国)提取核蛋白,冰上分离 50 g 心脏左心室组织后研磨为组织悬液,用 PBS 清洗组织 2 次,加入 200 μ L 胞浆提取液,涡旋混匀数秒后离心(4℃, 12 000 r/min, 5 min)后弃上清,再吸取 100 μ L 胞核提取液至管中,剧烈震荡混匀 15 s×4 次,其间冰上静置孵育 1 min;快速地将样本转移至离心管套管离心(4℃, 12 000 r/min, 1 min),弃去管柱,得到核蛋白;采用 BCA 试剂盒(碧云天, 中国)测定核蛋白浓度后储于-80℃冰箱备用。

1.6 Western blot

取出各组小鼠心肌组织提取的核蛋白,SDS-PAGE 凝胶电泳分离核蛋白,半干将蛋白转移到 PVDF 膜上。然后将 PVDF 膜放入含有 5% 脱脂牛奶的 TBST 液内封闭 2 h;分别加入一抗(anti-KAT8[1:1 000; Proteintech], anti-H4K16ac[1:1 000; Cell Signaling], anti-TGF- β 1[1:5 000; Proteintech], anti-SMAD3[1:4 000; Proteintech], anti-Collagen I [1:5 000; Proteintech], anti-Collagen III [1:1 000; Proteintech], anti-GAPDH [1:5 000; Proteintech], anti-H3 [1:2 000; Abcam], 4℃孵育 12 h;TBST 洗膜 3 次,再将 PVDF 膜放入二抗稀释液,室温下孵育 1 h;然后应用增强化学发光显影(GE Healthcare, USA),使用 Quantity One (Version 4.4) 软件包(Bio-Rad, USA)进行定量。

1.7 免疫共沉淀

采用免疫共沉淀试剂盒(Beaver, China)进行实验,称取适量心肌组织制备抗原样品,同时取适量磁珠悬液进行预处理,加入抗体工作液 200 μ L[稀释比例:KAT8(1:250)、H4K16ac(1:50)、正常兔 IgG 抗体(1:500)]使抗体吸附;再加入 200 μ L 抗原样品使抗原吸附,最后将磁珠/抗体/抗原复合物进行磁性分离,弃上清液。加入 1×SDS-PAGE Loading Buffer 混合均匀,95℃加热 5 min,离心(室温, 12 000 r/min, 10 min),收集上清液进行 Western blot 实验检测。

1.8 统计学处理

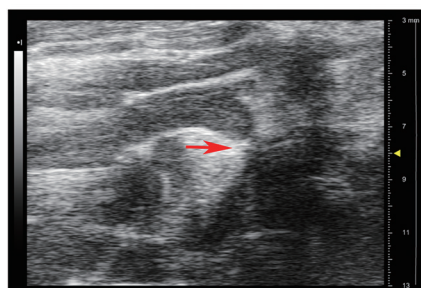
应用SPSS 18.0统计软件进行统计学分析。所有实验数据用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多组间进行单因素方差分析,组间均数比较应用SNK- q 检验。双侧检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

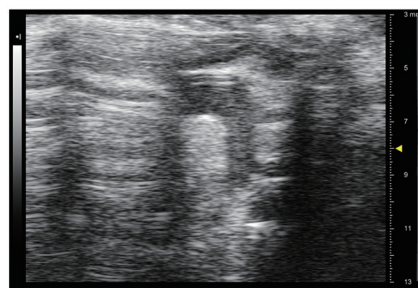
2.1 超声心动图及彩色多普勒验证模型构建成功

应用超声心动图评估模型是否构建成功。超声心动图

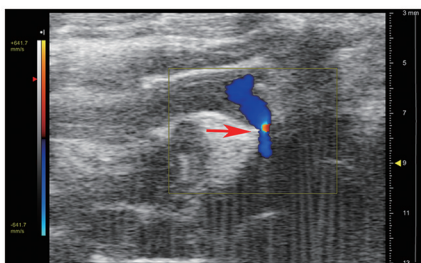
红色箭头处显示TAC组在无名动脉、左颈动脉之间的主动脉弓结扎处出现明显狭窄(图1A),而Sham组该处无狭窄(图1B)。彩色多普勒结果发现TAC组主动脉弓结扎处血流受阻伴有反流(红色箭头所示)(图1C),而Sham组主动脉处血流通畅(图1D径较Sham组明显缩小,TAC组胸主动脉血流的流速在4周、8周时TAC组较Sham组明显增快,2组具有统计学差异($P<0.05$),但随时间增加胸主动脉血流流速逐渐下降,在12周时TAC组与Sham组差异无统计学意义,如图1E、F、G和H所示。



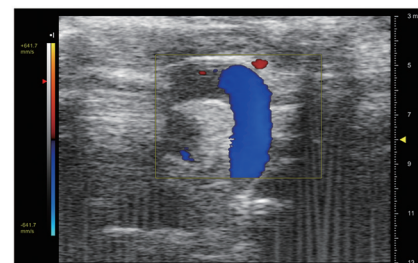
A. TAC组主动脉弓超声图,两动脉之间主动脉弓处出现狭窄(红色箭头处)



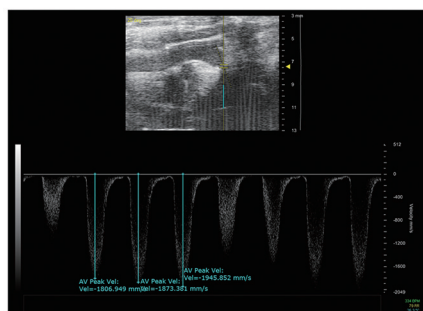
B. Sham组主动脉弓超声图,主动脉及两条动脉清晰可见



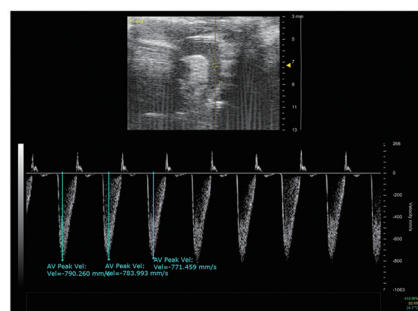
C. TAC组彩色多普勒成像显示主动脉弓结扎处血流受阻(红色箭头处)



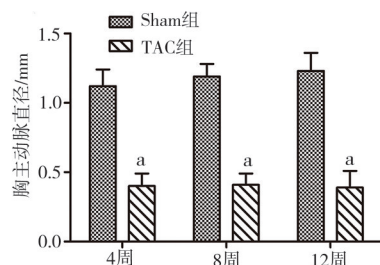
D. Sham组彩色多普勒成像显示主动脉弓血流通畅



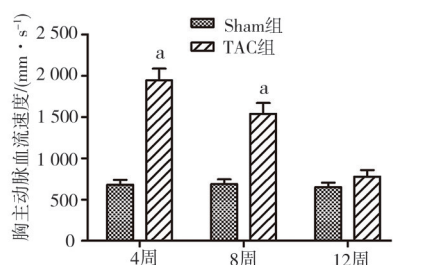
E. 脉冲多普勒超声图像测定TAC组主动脉弓处直径及血流速度



F. 脉冲多普勒超声图像测量Sham组主动脉弓处的直径及血流速度



G. Sham组与TAC组结扎处的直径统计分析图



H. Sham组与TAC组结扎处的血流流速统计分析图

注:a,与Sham组相比, $P<0.05$

图1 主动脉弓彩色多普勒超声

2.2 Western blot 检测 KAT8、H4K16ac 的表达及 Co-IP 检测两者之间的相互作用关系

Western blot 结果显示, TAC 组较 Sham 组心肌组织中的 KAT8、H4K16ac 表达量明显升高 ($P<0.05$), 而 AA 干预能够明显降低 TAC 小鼠心肌组织中 KAT8 表达水平, 且组蛋白 H4K16ac 乙酰化水平亦明显降低 (均 $P<0.05$), 如图 2A、B 所示。Co-IP 结果证实组蛋白乙酰化酶 KAT8 与组蛋白 H4K16ac 之间可以相互结合, 如图 2C 所示。

2.3 Western blot 检测 TGF- β 1 和 SMAD3 的表达量

Western blot 结果显示 TAC 组与 Sham 组相比 TGF- β 1 及 SMAD3 在小鼠心肌组织中表达水平明显升高 (均 $P<0.05$), 而 AA 可降低 TAC 小鼠心肌组织中 TGF- β 1 及 SMAD3 的表达 (均 $P<0.05$), 如图 3 所示。

2.4 Western blot 检测 Collagen I 和 Collagen III 的表达量

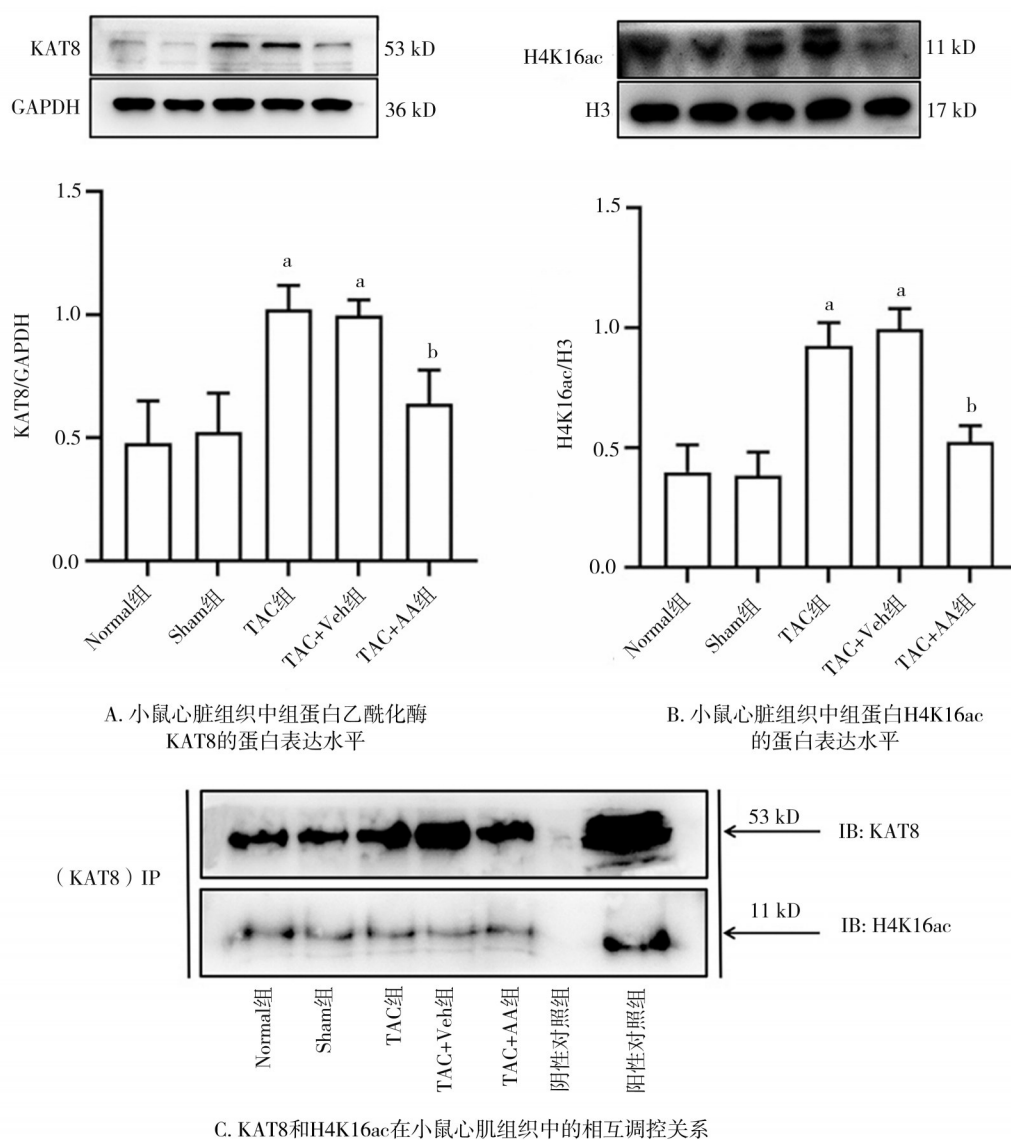
Western blot 显示 TAC 组与 Sham 组相比心肌组织中 Collagen I、Collagen III 表达水平明显升高 (均 $P<0.05$), 而 AA 能够明显降低 TAC 小鼠心肌组织中 Collagen I、Collagen III 的过表达 (均 $P<0.05$), 如图 4 所示。

2.5 马松染色观察小鼠心肌纤维化

马松染色显示 TAC 组心脏较 Sham 组增大, TAC 组小鼠心肌组织间质纤维化较 Sham 组明显, 而 TAC+AA 组小鼠较 TAC 组小鼠心脏变小, 同时心肌组织中纤维化程度明显减少 ($P<0.05$), 如图 5 所示。

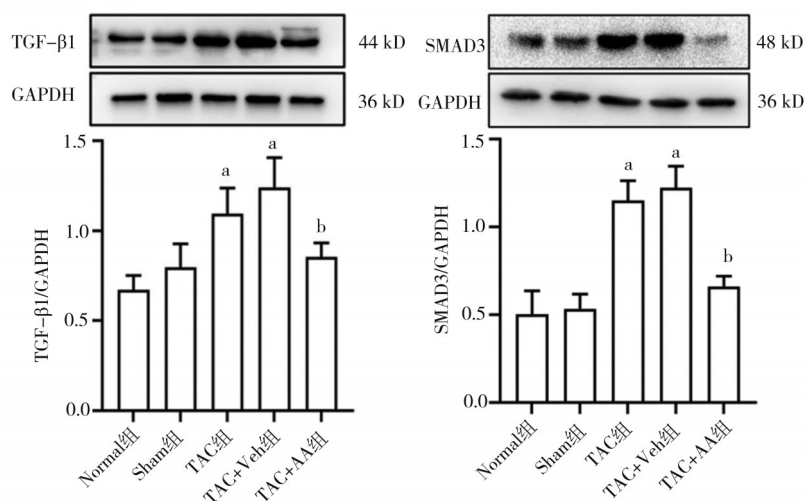
2.6 漆树酸对 TAC 小鼠生存率的影响

经过 AA 干预后的 TAC 小鼠生存率较 TAC 组及 TAC+Veh 组小鼠明显改善。如图 6 所示。



注: IP, 免疫共沉淀; IB, 免疫印迹; a: 与 Sham 组相比, $P<0.05$; b: 与 TAC 组相比, $P<0.05$

图 2 KAT8、H4K16ac 蛋白表达水平及 KAT8 与 H4K16ac 在小鼠心肌组织中的相互调控作用

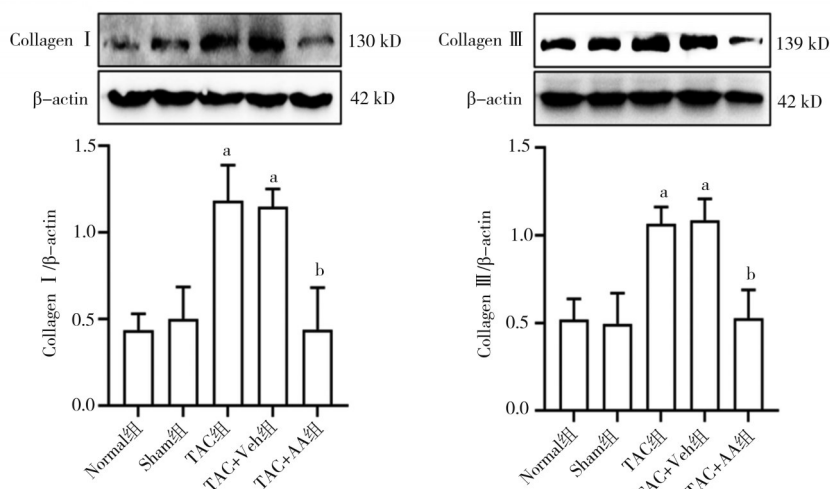


A. 小鼠心脏组织中TGF-β1的蛋白表达水平

B. 小鼠心脏组织中SMAD3的蛋白表达水平

注:a,与Sham组相比, $P<0.05$;b:与TAC组相比, $P<0.05$

图3 TGF-β1、SMAD3蛋白表达水平



A. 小鼠心脏组织中Collagen I 的蛋白表达水平

B. 小鼠心脏组织中Collagen III 的蛋白表达水平

注:a,与Sham组相比, $P<0.05$;b:与TAC组相比, $P<0.05$

图4 Collagen I、Collagen III蛋白表达水平

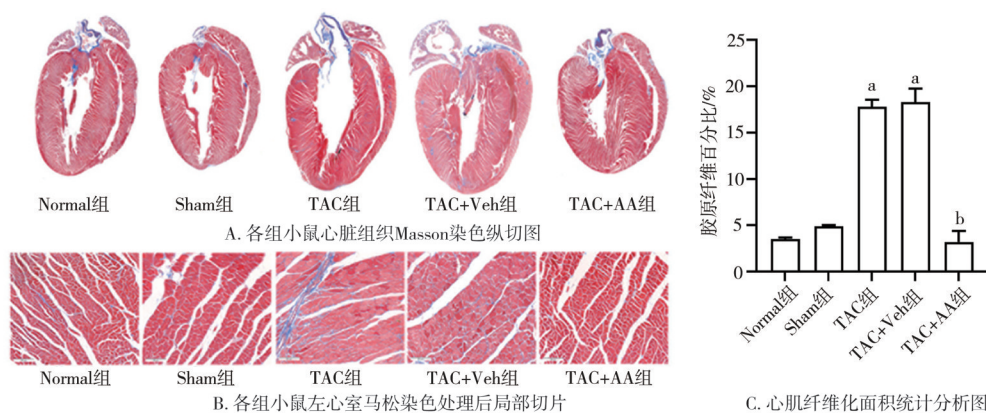
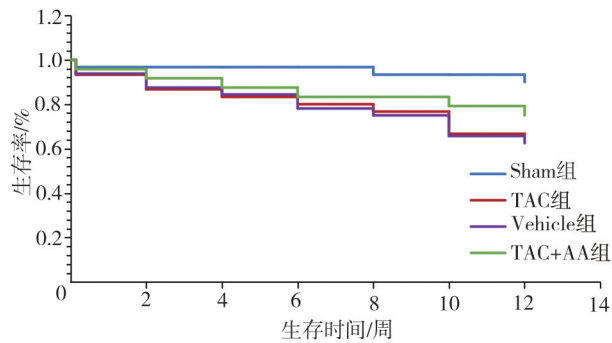
注:a,与Sham组相比, $P<0.05$;b:与TAC组相比, $P<0.05$

图5 Masson 染色后各组小鼠心脏形态及纤维化改变



注: TAC+AA 组与 TAC 组相比, $P < 0.05$

图6 漆树酸干预后 TAC 小鼠的生存率

3 讨论

随着医学的进步及发展,关于心力衰竭的研究也取得了较大的突破,但是心力衰竭患者的发病率和死亡率仍处于较高水平。因损伤或壁应力增加而发生的心脏重塑在导致心力衰竭的心脏功能逐渐恶化中起关键作用。研究认为心肌纤维化是促进病理性心脏重塑的关键因素^[6-7]。因此,抑制心脏重塑、改善心肌纤维化的新疗法有望改善心力衰竭。表观遗传学是目前生物学领域研究的热点,近年来,与心肌纤维化相关的表观遗传机制的研究也开始兴起,研究发现表观遗传修饰在心肌纤维化的发生发展中扮演重要角色^[8-9]。组蛋白乙酰化作为众多表观遗传修饰中的一种,受到多种修饰酶的调控, KAT8 作为组蛋白乙酰化酶 (histone acetylases, HATs) 中的一员,在体外和体内染色质中对组蛋白 H4 赖氨酸 16 具有很强的特异性调控作用,参与胚胎发育、DNA 修复、染色质结构和 mtDNA 转录等多种生理过程^[10]。因此,研究 KAT8 的功能已成为近年热点。同时 AA 是腰果壳中分离出来的生物活性化合物,可以通过抑制组蛋白乙酰化酶诱导染色质压缩和降低转录活性。本课题组前期研究发现 AA 在心血管疾病中发挥重要调控作用^[11]。但是关于 AA 对于抗心肌纤维化的作用及作用机制的相关研究较少。本研究为了验证 KAT8 介导的组蛋白 H4K16a 乙酰化修饰失衡参与了压力过载导致的心肌纤维化发生发展。通过构建 TAC 小鼠心肌纤维化模型,进一步探讨组蛋白乙酰化酶 KAT8 在心

肌纤维化中的调控作用。Western blot 结果表明 TAC 组小鼠心肌组织中 KAT8 蛋白表达水平较 Sham 组明显增高,同时发现在 TAC 组小鼠心肌组织中 H4K16ac 乙酰化水平也明显高于 Sham 组,趋势与 KAT8 水平一致;同时给予 HATs 抑制剂 AA 干预后, KAT8、H4K16ac 表达水平与 TAC 组相比均明显降低;2 组蛋白表达趋势一致,且组间趋势一致,这提示 KAT8 可能参与了组蛋白 H4K16ac 乙酰化修饰。进一步应用免疫共沉淀检测它们之间是否存在相互作用,结果表明组蛋白乙酰化酶 KAT8 与组蛋白 H4K16ac 之间可能存在相互调控作用。

心肌纤维化是各种心血管疾病中常见的病理生理过程,其特征是成纤维细胞聚集和细胞外基质蛋白过度沉积。心肌成纤维细胞分化是对心脏损伤最重要的细胞反应之一,在心脏重塑和心力衰竭中起关键作用^[12]。因此,消除成纤维细胞向心肌成纤维细胞的转化可以抑制心脏重塑。同时有研究证实, TGF- β 介导的 SMADs 经典信号通路是组织纤维化的关键致病机制,而 TGF- β 1/SMADs 信号通路的失活可以抑制成纤维细胞增殖和纤维化进展^[13-14]。心肌纤维化的发生常伴随 TGF- β 1 及下游 SMAD2、SMAD3 的激活^[15]。而 TGF- β 1/SMAD3 信号通路中,当 SMAD2 下降时, SMAD3 对 SMAD2 有补偿作用。可见 TGF- β 1/SMAD3 信号通路在纤维化中发挥重要作用。进一步对 TGF- β 1、SMAD3 的表达水平进行检测,结果显示 TAC 组 TGF- β 1、SMAD3 蛋白表达水平较 Sham 组明显增高,经 AA 干预后, TGF- β 1、SMAD3 的表达水平与 TAC 组相比明显降低,且与 KAT8 及 H4K16ac 表达趋势一致,在各组间的表达也一致。这说明 KAT8 介导的组蛋白 H4K16ac 高乙酰化可能参与调控 TGF- β 1/SMAD3 信号通路并介导 TAC 小鼠心肌纤维化。最终 TAC 小鼠心肌纤维化的程度是否受到影响呢? 胶原是心肌纤维化的重要组成物质,与心肌纤维化程度密切相关。心肌胶原蛋白以 I 型胶原蛋白 (Collagen I) 和 III 型胶原蛋白 (Collagen III) 为主。在心脏疾病的早期,会促进胶原合成从而形成瘢痕组织,可以增加心脏局部的收缩力、改善心脏功能、防止心脏破裂,而在心脏病的终末期,反而因为胶原过度沉积使得心脏

顺应性逐渐下降,进一步导致心脏舒缩功能下降,发生心力衰竭最终导致死亡^[16]。因此,本研究进一步检测了 I 型及 III 型胶原蛋白表达情况,并应用马松染色检测心肌纤维化程度,Western blot 证实 TAC 组 I 型及 III 型胶原蛋白表达水平较 Sham 组明显增加,马松染色结果发现 TAC 组心肌纤维化程度较 Sham 组明显加重。经 AA 干预后,Western blot 结果显示 Collage I、Collage III 表达明显减少,马松染色发现心肌纤维化程度明显减轻。综上可知,KAT8 介导的组蛋白 H4K16ac 高乙酰化可能通过调控 TGF- β 1/SMAD3 信号通路参与 TAC 小鼠心肌纤维化。最后还发现 TAC 组小鼠死亡率较 Sham 组明显增高,AA 干预 TAC 小鼠后,明显改善了 TAC 组小鼠生存率。这可能为改善心肌纤维化提供新的候选药物。

参 考 文 献

- [1] Moore-Morris T, Guimarões-Camboa N, Yutzev KE, et al. Cardiac fibroblasts: from development to heart failure[J]. J Mol Med, 2015, 93(8):823-830.
- [2] Neubauer S, Bull S. Myocardial fibrosis in aortic stenosis[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2017, 10(11):1334-1336.
- [3] Chen Y. The current epidemiologic situation of dengue fever in the main epidemiologic areas of the world[J]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 1990, 11(1):51-54.
- [4] Wong TC, Piehler K, Meier CG, et al. Association between extracellular matrix expansion quantified by cardiovascular magnetic resonance and short-term mortality[J]. Circulation, 2012, 126(10):1206-1216.
- [5] Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, et al. Heart disease and stroke statistics—2021 update: a report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2021, 143(8):e254-e743.
- [6] Schipke J, Brandenberger C, Rajces A, et al. Assessment of cardiac fibrosis: a morphometric method comparison for collagen quantification[J]. J Appl Physiol(1985), 2017, 122(4):1019-1030.
- [7] Lu L, Guo JB, Hua Y, et al. Cardiac fibrosis in the ageing heart: contributors and mechanisms[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2017, 44(Suppl 1):55-63.
- [8] Park S, Nguyen NB, Pezhouman A, et al. Cardiac fibrosis: potential therapeutic targets[J]. Transl Res, 2019, 209:121-137.
- [9] Ghosh AK, Rai R, Flevaris P, et al. Epigenetics in reactive and reparative cardiac fibrogenesis: the promise of epigenetic therapy[J]. J Cell Physiol, 2017, 232(8):1941-1956.
- [10] Zhang RK, Wang J, Zhao L, et al. Identification of novel inhibitors of histone acetyltransferase hMOF through high throughput screening[J]. Eur J Med Chem, 2018, 157:867-876.
- [11] Li S, Peng BH, Luo XM, et al. Anacardic acid attenuates pressure-overload cardiac hypertrophy through inhibiting histone acetylases[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(4):2744-2752.
- [12] Tenkorang MAA, Chalise U, Daseke Ii MJ, et al. Understanding the mechanisms that determine extracellular matrix remodeling in the infarcted myocardium[J]. Biochem Soc Trans, 2019, 47(6):1679-1687.
- [13] Hu HH, Chen DQ, Wang YN, et al. New insights into TGF- β /Smad signaling in tissue fibrosis[J]. Chem Biol Interact, 2018, 292:76-83.
- [14] 易嘉莉, 聂连桂, 李亚灵, 等. 外源性硫化氢调节 TGF- β 1/Smad7 信号通路改善高同型半胱氨酸血症所致的大鼠心肌纤维化[J]. 重庆医科大学学报, 2021, 46(2):151-155.
- [15] Yi JL, Nie LG, Li YL, et al. Exogenous hydrogen sulfide alleviates hyperhomocysteinemia-induced myocardial fibrosis in rats by regulating TGF- β 1/Smad7 signaling pathway[J]. J Chongqing Med Univ, 2021, 46(2):151-155.
- [16] 杨 泉, 曹云山. 芪参益气滴丸对心肌缺血大鼠的心肌保护作用及机制研究[J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29(6):501-505.
- [17] Yang Q, Cao YS. Study on mechanisms and myocardial protective effect of Qishen Yiqi dropping pills on rats with myocardial infarction[J]. Chin Crit Care Med, 2017, 29(6):501-505.
- [18] Ferreira JM, Ferreira SM, Ferreira MJ, et al. Circulating biomarkers of collagen metabolism and prognosis of heart failure with reduced or mid-range ejection fraction[J]. Curr Pharm Des, 2017, 23(22):3217-3223.

(责任编辑:周一青)