

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.06.008

组蛋白 H3 高乙酰化对心脏相关转录因子 Islet-1 的调控作用

余仲苏¹, 孔娟娟², 孙慧超¹, 朱 静², 田 杰¹

(1. 重庆医科大学附属儿童医院心内科; 2. 儿童发育疾病研究省部共建教育部重点实验室、儿科学重庆市重点实验室、重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地, 重庆 400014)

【摘 要】目的: 探讨组蛋白 H3 乙酰化修饰对心脏发育早期相关转录因子胰岛素基因增强结合蛋白 1 (Insulin gene enhancer protein 1, Islet-1) 的调控作用。方法: 体外培养心肌祖细胞, 分别用不同浓度组蛋白去乙酰化酶抑制剂辛二酰苯胺异羟肟酸 (Suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) 干预 (0、0.5、1.0、2.0、4.0 $\mu\text{mol/L}$), 噻唑蓝 (Methyl thiazoyl tetrazolium, MTT) 比色实验检测 SAHA 对细胞增殖的影响, 筛选出 SAHA 的合适干预浓度, 用 Western blot 技术检测心肌祖细胞组蛋白 H3 乙酰化状态, Real-time PCR 检测 Islet-1 的 mRNA 表达水平变化, 染色质免疫共沉淀 (Chromatin immunoprecipitation, ChIP) Real-time PCR 技术检测 Islet-1 启动子区组蛋白 H3 的乙酰化水平。结果: SAHA 0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 处理组较对照组细胞增殖率有所提高, 但差异没有统计学意义 ($P>0.05$), SAHA 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 处理组与对照组细胞增殖率相当 ($P>0.05$)。SAHA 4.0 $\mu\text{mol/L}$ 处理组与对照组比较, 细胞增殖受到抑制 ($P<0.05$)。SAHA 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 处理 48 h 后心肌祖细胞 H3 乙酰化水平与对照组比升高 7.23 倍 ($P<0.05$)。Islet-1 的 mRNA 表达与对照组比提高了 4.68 倍 ($P<0.05$), Islet-1 启动子区组蛋白 H3 乙酰化水平是对照组的 2.08 倍 ($P<0.05$)。结论: 在心肌祖细胞中, 组蛋白 H3 高乙酰化水平促进 Islet-1 表达, Islet-1 受到组蛋白 H3 乙酰化调控。

【关键词】胰岛素基因增强结合蛋白 1; 辛二酰苯胺异羟肟酸; 组蛋白 H3; 乙酰化; 表观遗传; 心肌祖细胞

【中国图书分类法分类号】R725.4

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-12-26

Effects of acetylation of histone H3 on the regulation of transcription factor Islet-1 in cardiac progenitor cells

YU Zhongsu¹, KONG Juanjuan², SUN Huichao¹, ZHU Jing², TIAN Jie¹

(1. Department of Cardiology, the Children's Hospital, Chongqing Medical University;

2. Key Laboratory of Child Development and Disorder Co-founded by Provincial Government and Ministry of Education, Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing, Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders)

【Abstract】Objective: To investigate the effects of acetylation of histone H3 on the regulation of heart development-related transcription factor insulin gene enhancer protein 1 (Islet-1). Methods: Cardiac progenitor cells were cultured in vitro and were treated with histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) at concentration of 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 $\mu\text{mol/L}$. Methyl thiazoyl tetrazolium (MTT) assay was used to detect the effect of SAHA on cell proliferation and to select suitable intervention concentration. Western blot was applied to detect the acetylation of histone H3 and Real-time PCR was employed to measure the mRNA expression of Islet-1. Chromatin Immunoprecipitation (ChIP) Real-time PCR was used to measure the level of the acetylation of histone H3 in promoter region of Islet-1. Results: The cell proliferation rate of SAHA was increased in 0.5 $\mu\text{mol/L}$ and 1.0 $\mu\text{mol/L}$ group than in control group but without significant difference ($P>0.05$). No difference in the cell proliferation rate was found between SAHA 2.0 $\mu\text{mol/L}$ group and control group ($P>0.05$). The cell proliferation in SAHA in 4.0 $\mu\text{mol/L}$ group was greatly affected ($P<0.05$). Western blot showed that the acetylation of histone H3 was increased by 7.23 fold in SAHA 2.0 $\mu\text{mol/L}$ group after 48 h ($P<0.05$). The expression of Islet-1 was increased by 4.68 fold ($P<0.05$), and the level of the acetylation of histone H3 in promoter region of Islet-1 was increased to 2.08 fold ($P<0.05$) compared with those in control group. Conclusion: The expression of Islet-1 can be promoted by increasing of the acetylation of histone H3 in promoter region of Islet-1. The expression of Islet-1 is regulated by the acetylation of

作者介绍: 余仲苏 (1985-), 男, 硕士,

研究方向: 先天性心脏病发病机制及表观遗传研究。

通信作者: 田 杰, 男, 教授, Email: jietian@cqmu.edu.cn。

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 资助项目 (编号: 2010CB529505); 重庆市自然科学基金资助项目 (编号: CSTC, 2009BA5084); 重庆医科大学校级科研课题资助项目 (编号: XBZD201014)。

histone H3 in cardiac progenitor cells.

【Key words】insulin gene enhancer protein 1; suberoylanilide hydroxamic acid; histon H3; acetylation; epigenetics; cardiac progenitor cells

表观遗传学从基因印迹、DNA 甲基化、组蛋白修饰等方面丰富人们对心脏发育的认识,本课题组前期对小鼠胚胎心脏发育过程进行研究,发现心脏相关转录因子:心肌增强因子 2c(Myocyte enhancer factor 2c, Mef2c), Nk2 型同源盒转录因子 5(Nk2 homeobox 5, Nkx2.5), T-box 蛋白 5(T-box protein 5, Tbx5)启动子区组蛋白乙酰化水平的变化趋势与其 mRNA 表达量变化规律相同^[1,2]。同时在乙醇引起组蛋白乙酰化失衡的研究中也发现组蛋白高乙酰化失衡会导致 Mef2c 及 Gata 结合蛋白 4(Gata binding protein 4, Gata4)的 mRNA 的表达升高^[3,4],提示心脏相关转录因子 Gata4、Nkx2.5、Mef2c 受到组蛋白乙酰化调控。而近年来发现胰岛素基因增强结合蛋白 1 (Insulin gene enhancer protein 1, Islet-1)是心脏发育早期一个重要的转录因子,且为心肌祖细胞的标志之一。Islet-1 表达受到抑制可影响线性心管的环化,导致心脏畸形^[5]。同时有研究发现在第二生心区 Islet-1 直接调控心脏发育相关转录因子 Mef2c^[6]。那么, Islet-1 作为心脏发育早期重要转录因子,是否也受到组蛋白乙酰化调控?目前尚无确切报道。本实验拟通过改变组蛋白乙酰化状态研究其调控 Islet-1 的机制。进一步从表观遗传学角度上完善对心脏发育的认识。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

Dulbecco 改良 Eagle 培养基 (Dulbecco's modified eagle medium, DMEM) (重庆医科大学附属儿童医院儿研所中心供应室提供);胎牛血清(Hyclone 公司,美国);抗乙酰化 H3 (Acetylated histone H3, acH3)鼠单克隆抗体(Millipore, 美国)工作浓度 1:1 000;抗 β -actin 鼠单克隆抗体(博士德, 中国)工作浓度 1:1 000;辛二酰苯胺异羟肟酸(Suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) (ALEXIS 公司, 瑞士);噻唑蓝 (Methyl thiazoyl tetrazolium, MTT)细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(凯基生物技术有限公司, 中国);核蛋白提取试剂盒(凯基生物技术有限公司, 中国);BCA 蛋白测定试剂盒(Pierce 欧若公司, 美国);RNA 提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司, 中国);逆转录试剂盒(TaKaRa 公司, 日本);实时定量 PCR 试剂盒(天根生化技术有限公司, 中国);染色质免疫共沉淀(Chromatin immunoprecipitation, ChIP)试剂盒 (Millipore, 美国);酶标仪(Thermo 公司, 美国);凝胶成像分析仪(基因公司, 中国香港);CFX 96 荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad 公司, 美国);心肌祖细胞株由美国芝加哥大学骨肿瘤分子生物学实验室惠赠。

1.2 MTT 比色实验

心肌祖细胞悬液密度控制为 1×10^5 个/ml,以每孔 200 μ l 接种于 96 孔板内。当细胞密度约 60%时更换为含组蛋白乙酰化酶抑制剂辛二酰苯胺异羟肟酸(Suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA)的培养基, SAHA 浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0 μ mol/L,每种浓度设 5 个复孔,对照组不加入 SAHA。37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2 培养箱中培养 24 h 后换液,再次加入相应浓度的 SAHA 继续培养 24 h 之后,每孔加入 20 μ l MTT (5 mg/ml),再培育 4 h,弃掉培养液,每孔加入 150 μ l 二甲基亚砜 (Dimethyl sulfoxide, DMSO),水平摇床上混匀 10 min,用酶标仪测定 550 nm 的吸光度值($A_{550 \text{ nm}}$)。通过以下公式计算,细胞增殖率 (%)=[(实验组 A 值-本底 A 值)/(正常组 A 值-本底 A 值)] $\times 100\%$ 。

1.3 心肌祖细胞的培养及分组处理

复苏心肌祖细胞后,用含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基培养至 80%左右按 1:2 比例传代,细胞培养至 50%时随机分为 3 组:SAHA 组、阴性对照组和空白组。SAHA 组在培养基中加入所需剂量(由 MTT 确定的最佳剂量)的 SAHA 后 24 h,再次加入等量 SAHA,共干预 48 h;阴性对照组加入与 SAHA 等体积的 DMSO 培养 48 h;空白组不加任何干预,正常培养基培养 48 h。

1.4 Western blot 检测

心肌祖细胞经过上述方式处理 48 h 后提取各组细胞核蛋白,检测各组核蛋白浓度,并调整蛋白上样量为 50 μ g。通过 15% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后电转至 0.22 μ m 的 PVDF 膜上,封闭液稀释一抗(1:1 000),4 $^{\circ}$ C 孵育 15 h,洗膜后封闭液稀释二抗(1:2 000),室温孵育 2 h。再次洗膜后化学发光成像,显示后的条带用 Quantity One 软件转化为灰度值,以乙酰化 H3/ β -actin(灰度值)表示乙酰化 H3 蛋白相对表达量,进行统计学分析。

1.5 Real-time PCR

心肌祖细胞经过上述方式处理 48 h 后即刻提取各组细胞 mRNA,逆转录为 cDNA 作为 Real-time PCR 的模板。Islet-1 引物序列:上游:5'-ACACCTTGGGCGGACCTGCTA TG-3'和下游:5'-TGAAACCACACTCGGATGACTCTG -3'。 β -actin 作为内参,其引物序列:上游:5'-CACACCCGCCACCAGTT-CG-3'和下游:5'-GTCCTTCTGACCCATTCCCACC-3'。根据 TIANGEN 公司 Real Master Mix 试剂盒说明书加入相应试剂、引物和模板 cDNA。Real-time PCR 反应体系为 10 μ l,设 3 复孔,扩增条件为预变性 95 $^{\circ}$ C 2 min,变性 95 $^{\circ}$ C 10 s,退火 63.7 $^{\circ}$ C 15 s,延伸 68 $^{\circ}$ C 20 s,共 40 次循环。所得 Ct 值根据以下公式运算: $\Delta \text{Ct}_{\text{处理组}} = \text{Ct}_{\text{处理组目的基因}} - \text{Ct}_{\text{处理组内参}}$, $\Delta \text{Ct}_{\text{对照组}} = \text{Ct}_{\text{对照组目的基因}} - \text{Ct}_{\text{对照组内参}}$, $\Delta \Delta \text{Ct} = \Delta \text{Ct}_{\text{处理组}} - \Delta \text{Ct}_{\text{对照组}}$,用 $(1+E)^{-\Delta \Delta \text{Ct}}$ 表示基因的相对表达量。

1.6 ChIP

心肌祖细胞经过上述方式处理 48 h 后,进行细胞计数每瓶大约 1×10^7 个细胞,按照 Millipore 公司 ChIP 试剂盒说明书

用 37% 甲醛进行交联, 利用超声破碎机破碎 DNA, 通过琼脂糖凝胶电泳检测多数 DNA 已达 200~1 000 bp, 使用 ChIP 级的 acH3 抗体进行 ChIP, 利用试剂盒里提供的正常小鼠 IgG 抗体沉淀作为阴性对照, 不加入任何抗体作为 input 组。经过沉淀, 洗脱, 逆交联, 纯化等一系列步骤后获得 DNA, 保存于 -20 ℃。

1.7 ChIP Real-time PCR

利用 ChIP 技术获得的 DNA 作为 Real-time PCR 的模板, 选取 Islet-1 DNA 序列第一外显子 5' 端前 1 000 bp DNA 序列视为启动子区, 设计引物。引物序列: 上游: 5'-TTAC-CTTTTCGTTTGACCTTTCG-3' 和下游: 5'-ACCCTGTACTC-CCCAATCTGAG-3'。根据 TIANGEN 公司 RealMasterMix 试剂盒说明书加入相应试剂、引物和模板 DNA。同时扩增目标抗体组、IgG 阴性对照组、input 组中 Islet-1 启动子。Real-time PCR 反应体系 10 μl, 设 3 复孔, 扩增条件为 98 ℃ 30 s, 变性 95 ℃ 10 s, 退火 63.7 ℃ 15 s, 延伸 72 ℃ 15 s, 共 44 次循环。所得 Ct 值根据以下公式运算: $\Delta\Delta Ct_{处理组} = Ct_{处理组目标抗体组} - Ct_{处理组 IgG 阴性对照组} - Ct_{处理组 input 组}$, $\Delta\Delta Ct_{对照组} = Ct_{对照组目标抗体组} - Ct_{对照组 IgG 阴性对照组} - Ct_{对照组 input 组}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta\Delta Ct_{处理组} - \Delta\Delta Ct_{对照组}$, $(1+E)^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示 Islet-1 启动子相对含量。

1.8 统计学处理

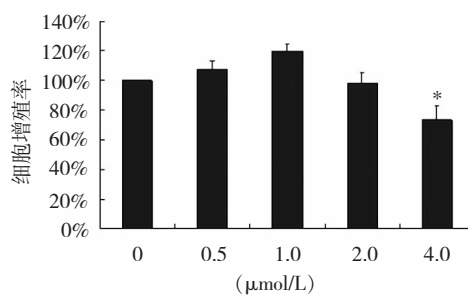
所有实验分组除处理因素外其他因素均相同。根据完全随机设计多个均数比较的样本量估计公式, 求得满足研究目的所需的样本量。该公式为 $n = \psi^2 (\sum S_i^2 / k) / [\sum (\bar{x}_i - \bar{x})^2 / (k-1)]$ 。

所有实验数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 使用 SPSS 17.0 计算机统计软件进行统计学分析。首先进行正态分布及方差齐性检验, Western blot 实验数据不满足正态分布, 故采用完全随机设计多个独立样本的秩和检验 (Kruskal-Wallis 秩和检验), $P < 0.05$ 认为差异存在统计学意义, 组间多重比较利用 Wilcoxon 秩和检验, $P < 0.025$ 认为差异存在统计学意义。其余实验数据满足正态分布及方差齐性, 采用单因素方差分析, 组间多重比较利用 Dunnett-t 检验, $P < 0.05$ 认为差异存在统计学意义。

2 结果

2.1 组蛋白去乙酰化酶抑制剂 SAHA 对心肌祖细胞增殖的影响

各实验组数据经方差分析差异有统计学意义 ($n=3$, $F=9.473$, $P=0.002$), 故进行多重比较, SAHA 0.5 μmol/L、1.0 μmol/L 的增殖率与空白组相比有所提高, 但差异不具有统计学意义 ($n=3$, P 值分别为 0.739、0.094 均大于 0.05), SAHA 2.0 μmol/L 处理的增殖率与空白组相比没有明显变化, 差异不具有统计学意义 ($n=3$, $P=0.999$)。SAHA 4.0 μmol/L 处理的增殖率是空白组的 73.21%, 差异具有统计学意义 ($n=3$, $P=0.021$)。见图 1。



*: 与空白组相比, $P < 0.05$

图 1 MTT 检测不同浓度 SAHA 对心肌祖细胞增殖的影响 ($n=3$)

Fig.1 Effect of different concentrations of SAHA detected by MTT assay on the proliferation of cardiac progenitor cells ($n=3$)

2.2 SAHA 对心肌祖细胞的组蛋白 H3 乙酰化水平的影响

各实验组数据经 Kruskal-Wallis 秩和检验, 差异有统计学意义 ($n=5$, $H=9.38$, $P=0.009$), 故进行多重比较, 加入 SAHA 2.0 μmol/L 处理的心肌祖细胞组蛋白 H3 乙酰化水平 (0.214 ± 0.047) 与空白组 (0.026 ± 0.010) 相比升高了 7.23 倍, 差异具有统计学意义 ($n=5$, $P=0.008 < 0.025$)。加入 DMSO 处理的阴性对照组心肌祖细胞组蛋白 H3 乙酰化水平 (0.026 ± 0.009) 与空白组相当, 差异没有统计学意义 ($n=5$, $P=1.000 > 0.025$)。见图 2。

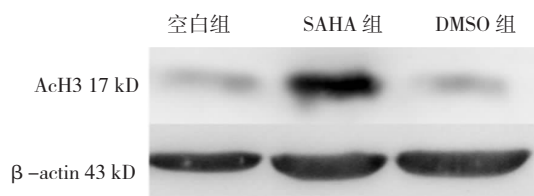


图 2 Western blot 检测心肌祖细胞组蛋白 H3 乙酰化水平 ($n=5$)

Fig.2 Histone H3 acetylation level of cardiac progenitor cells measured by Western blot ($n=5$)

2.3 SAHA 对心脏发育相关转录因子 Islet-1 mRNA 表达的影响

各实验组数据经方差分析差异有统计学意义 ($n=3$, $F=142.434$, $P=0.000$), 故进行多重比较, 加入 SAHA 2.0 μmol/L 处理的心肌祖细胞中 Islet-1 的 mRNA 表达 (1.062 ± 0.033) 与空白组 (0.187 ± 0.104) 相比升高约 4.68 倍, 差异具有统计学意义 ($n=3$, $P=0.000$)。加入 DMSO 处理的阴性对照组的 Islet-1 的表达 (0.145 ± 0.070) 与空白组相比仅为空白组的 0.775, 差异不具有统计学意义 ($n=3$, $P=0.729$)。见图 3。

2.4 SAHA 对心脏发育相关转录因子 Islet-1 启动子区的乙酰化状态的影响

各实验组数据经方差分析差异有统计学意义 ($n=3$, $F=127.056$, $P=0.000$), 故进行多重比较, 抗 acH3 抗体募集下来的 DNA-蛋白复合物中能检测到 Islet-1 的启动子, 根据启动子含量可反映 Islet-1 启动子区乙酰化水平。SAHA 2.0 μmol/L 处理组心肌祖细胞的 Islet-1 启动子区乙酰化水平 ($2.086 \pm$

0.040)是空白组的 2.08 倍,差异具有统计学意义($n=3, P=0.000$)。加入 DMSO 处理的阴性对照的 Islet-1 启动子区乙酰化水平(1.0219 ± 0.159)与空白组相当,差异不具有统计学意义($n=3, P=0.994$)。见图 4。

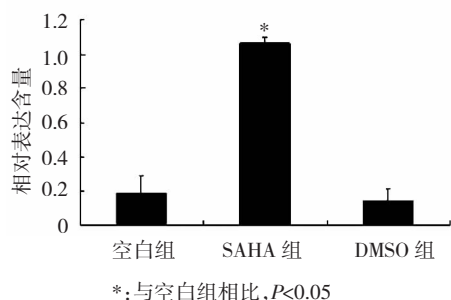


图3 Real-time PCR 检测心脏发育相关转录因子 Islet-1 的 mRNA 表达影响 ($n=3$)

Fig.3 Expression level of Islet-1 detected by Real-time PCR ($n=3$)

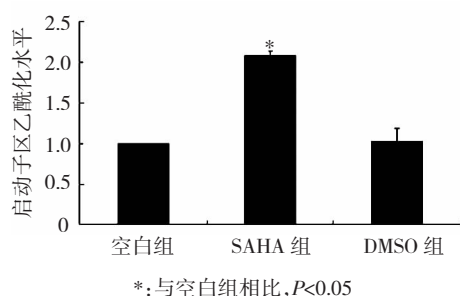


图4 ChIP Real-time PCR 检测 Islet-1 启动子区组蛋白 H3 乙酰化水平的影响 ($n=3$)

Fig.4 Histone H3 acetylation level in the promoter region of Islet-1 detected by ChIP Real-time PCR ($n=3$)

3 讨论

表观遗传学的兴起对人们探寻心脏发育过程提供了一个新的思路和方向,其是指不涉及 DNA 序列改变的基因表达变化或蛋白表达变化,这种基因和蛋白表达的变化能够通过细胞的增殖分化稳定的遗传给子代的现象,主要方式包括基因印迹、DNA 甲基化、组蛋白修饰及非编码 RNA 等^[7,8]。其中组蛋白乙酰化是一种重要的表观遗传作用方式,指组蛋白在乙酰化酶和去乙酰化酶的调节下维持其乙酰化水平的动态平衡,组蛋白乙酰化可以有效中和组蛋白赖氨酸携带的正电荷,从而削弱组蛋白与 DNA 的相互作用以改变染色质的构象使其变得松散^[9]。本课题组前期发现心脏发育相关转录因子 Gata4、Nkx2.5、Mef2c 的表达受到组蛋白 H3 乙酰化的调

控,改变组蛋白 H3 乙酰化水平状态后上述转录因子表达呈现相应升高或降低^[1-4]。

Islet-1 属于 LIM-Homeodomain 转录因子家族,最早作为胰岛素增强结合蛋白,在胰岛素基因表达调控的研究中被发现^[10]。而近年来 Islet-1 在心脏发育早期中的作用也随之越来越受到重视。敲除 Islet-1 基因,将导致严重心脏发育异常。并且 Islet-1 标记未分化的的心肌祖细胞,对于心肌祖细胞的存活,增殖和迁移也至关重要^[11]。而 Islet-1 的心肌祖细胞大部分将分化成流出道和右心室即第二生心区分化的部分。Brade 等^[5]的研究也再次证实第二生心区将发育为流出道和右心室以及心房大部分组织,而且 Islet-1 在心脏发育过程中起重要作用。一旦抑制 Islet-1 可影响线性心管的环化,进而形成心脏畸形。而 Islet-1 也可能参与心脏传导系统的发育^[12]。同时 Dodu 等^[6]的研究发现第二生心区 Mef2c 是 Islet-1 和 Gata 家族因子的靶基因,并直接受到 Islet-1 的调控。可见 Islet-1 在心脏发育过程中有着极其重要的作用,然而直接调控 mef2c 的 Islet-1 是否也受到组蛋白 H3 乙酰化的调控仍不清楚,基于这个层面我们着手研究组蛋白 H3 乙酰化对 Islet-1 的调控作用。

SAHA 是一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂^[13],本研究利用 SAHA 改变心肌祖细胞乙酰化水平,观测 Islet-1 变化情况。MTT 比色法结果显示 SAHA 在低浓度时对细胞增殖有一定促进作用,在 $2.0 \mu\text{mol/L}$ 时出现抑制作用但作用还不明显,而随着浓度的继续增加抑制作用逐渐明显。于是选用对细胞刚出现抑制但作用还不明显的浓度 $2.0 \mu\text{mol/L}$ 进行后续试验。通过 SAHA $2.0 \mu\text{mol/L}$ 处理 48 h 后的 Western blot 结果提示,SAHA 通过抑制组蛋白去乙酰化酶的活性从而使细胞的组蛋白 H3 乙酰化水平得到较大提高。而随后进行的 Real-time PCR 结果显示经 SAHA 处理的心肌祖细胞中 Islet-1 的 mRNA 表达水平明显升高。结合 Western blot 的结果可以认为,SAHA 大幅提高了组蛋白 H3 乙酰化水平,在高乙酰化水平下染色质结构变得松散从而激活 Islet-1 基因的转录。而 ChIP Real-time PCR 实验显示,与对照组相比,抗 acH3 抗体在 SAHA 处理组中募集到更多的 Islet-1 启动子,说明 Islet-1 启动子区的组蛋白 H3 乙酰化水平高于对照组。由此推测 SAHA 不仅使总的组蛋白 H3 乙酰化水平得到提高,并且能提升

Islet-1 基因启动子区域的组蛋白 H3 乙酰化水平, 进而使其染色质构象松散从而开启 Islet-1 基因大量表达。可见心肌祖细胞内 Islet-1 表达受到组蛋白 H3 乙酰化的调控, 心肌祖细胞的组蛋白 H3 乙酰化状态的改变会导致 Islet-1 基因表达异常, 并且可能进一步影响第二生心区的心肌祖细胞的增殖、存活和迁移, 同时会影响 Islet-1 的直接靶基因 Mef2c 的表达, 最终影响心脏发育的过程形成先天性心脏畸形。

心脏的发育的表观遗传机制仍有许多不甚清楚, 虽然已知组蛋白 H3 乙酰化能调控心脏发育相关转录因子 Mef2c, Gata4, Nkx2.5^[3], 而且本实验也已经证明 Islet-1 同样受到组蛋白 H3 乙酰化调控, 但 Islet-1 是通过什么途径影响其直接靶基因 Mef2c, 是否通过影响 Mef2c 的启动子区组蛋白 H3 乙酰化水平来调控仍需要进一步证实。

参 考 文 献

- [1] 杨雪芳, 田 杰, 陈国珍, 等. 小鼠胚胎心脏发育过程中组蛋白乙酰化酶亚型 p300 调控心脏特异转录因子的动态表达[J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(7):961-965.
- Yang X F, Tian J, Chen G Z, et al. Temporal regulation of p300 on heart-specific transcription factors during mouse cardiogenesis[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2010, 35(7):961-965.
- [2] Sun H, Yang X, Zhu J, et al. Inhibition of p300-HAT results in a reduced histone acetylation and down-regulation of gene expression in cardiac myocytes[J]. Life Science, 2010, 87(23-26):707-714.
- [3] Zhong L, Zhu J, Lv T, et al. Ethanol and its metabolites induce histone Lysine 9 Acetylation and an Alteration of the expression of heart development-related genes in cardiac progenitor cells[J]. Cardiovasc Toxicol, 2010, 10(4):268-274.

[4] 王琳轶, 田 杰, 钟立霖, 等. 姜黄素干预乙醇对心肌祖细胞 H3K9 的高乙酰化失衡及心脏发育相关基因表达异常[J]. 临床心血管病杂志, 2011, 27(4):303-306.

Wang L Y, Tian J, Zhong L L, et al. Curcumin intervenes the H3K9 acetylation imbalance and epimutation induced by alcohol in cardiac progenitor cells[J]. Journal of Clinical Cardiology, 2011, 27(4):303-306.

[5] Brade T, Gessert S, Kuhl M, et al. The amphibian second heart field: Xenopus islet-1 is required for Cardiovascular development[J]. Development Biology, 2007, 311(2):297-310.

[6] Dodou E, Verzi M P, Anderson J P, et al. Mef2c is a direct transcriptional target of ISL1 and GATA factors in the anterior heart field during mouse embryonic development[J]. Development, 2004, 131(16):3931-3942.

[7] Jirtle R L, Skinner M K. Environmental epigenomics and disease susceptibility[J]. Nature Reviews Genetics, 2007, 8(4):253-262.

[8] Dolinoy D C, Jirtle R L. Environmental epigenomics in human health and disease[J]. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2008, 49(1):4-8.

[9] Bannister A J, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications[J]. Cell Res, 2011, 21(3):381-395.

[10] Karlsson O, Thor S, Norberg T, et al. Insulin gene enhancer binding protein Isl-1 is a member of a novel class of proteins containing both a homeo- and a Cys-His domain[J]. Nature, 1990, 344(6269):879-882.

[11] Cai C L, Liang X Q, Shi Y Q, et al. Isl1 identifies a cardiac progenitor population that proliferates prior to differentiation and contributes a majority of cells to the heart[J]. Developmental Cell, 2003, 5(6):877-889.

[12] Sun Y, Liang X, Najafi N, et al. Islet 1 is expressed in distinct cardiovascular lineages, including pacemaker and coronary vascular cells[J]. Developmental Biology, 2007, 304(1):286-296.

[13] Garcia-Manero G, Yang H, Bueso-Ramos C, et al. Phase 1 study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid[SAHA]) in patients with advanced leukemias and myelodysplastic syndromes[J]. Blood, 2008, 111(3):1060-1066.

(责任编辑: 关蕴良)

《中华医学教育探索杂志》

欢迎赐稿、订阅

在线投稿网站: yxjyts.alljournals.ac.cn

邮发代号: 78-127