

# 特发性扩张型心肌病心衰相关基因和 miRNA 的筛选与分析

孙豪杰<sup>1</sup>, 王杨淦<sup>2</sup>

(武汉大学中南医院 1. 心血管内科; 2. 综合医疗科, 武汉 430071)

**【摘要】目的:**筛选特发性扩张型心肌病(idiopathic dilated cardiomyopathy, IDCM)心衰发展过程中潜在的关键基因和 miRNA。**方法:**纳入 GEO 数据库中 2 个基因表达谱芯片, 消除数据之间的批次效应并进行标准化后, 筛选出共同差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs), 然后进行基因本体(gene ontology, GO)分析和 KEGG 富集分析, 利用 STRING 构建蛋白质相互作用网络, 利用 miRNet 获得靶向 DEGs 的 miRNA, 构建 miRNA-DEGs 网络, 并用 Cytoscape 分析关键基因和 miRNA。**结果:**根据  $|\log\text{FC}| > 0.4, P < 0.05$  筛选出 DEGs 共 210 个, 主要富集在 PI3K 信号通路、MAPK 信号通路及与肿瘤相关的通路等。筛选出关键基因 STAT3、MYC 和 CCND1 等, 以及关键 miRNAs 如 miR-34a-5p、miR-17-5p 和 miR-20a-5p。**结论:**基于生物信息学方法对特发性扩张型心肌病心衰发展过程中潜在的关键基因和 miRNA 进行了筛选与分析, 共筛选出 210 个差异基因及 7 个功能模块, 分析了 3 个关键 miRNAs, 为进一步研究 IDCM 心衰的发生机制和治疗靶点提供思路。

**【关键词】**特发性扩张型心肌病; 心衰; 差异表达基因; miRNA

**【中图分类号】**R541.6; R542.2

**【文献标志码】**A

**【收稿日期】**2020-07-11

## Screening and analyzing related genes and miRNA in heart failure caused by idiopathic dilated cardiomyopathy

Sun Haojie<sup>1</sup>, Wang Yanggan<sup>2</sup>

(1. Department of Cardiology; 2. Department of General Medicine, Zhongnan Hospital of Wuhan University)

**【Abstract】Objective:** To screen potential hub genes and miRNA in the process of heart failure caused by idiopathic dilated cardiomyopathy (IDCM). **Methods:** Two gene expression profiling chips from GEO database were included. After eliminating batch effects and normalizing the data, common differentially expressed genes (DEGs) were screened out. Then, gene ontology (GO) analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed. Protein-protein interaction (PPI) network was constructed by STRING online tool. miRNet was used to obtain miRNA targeting DEGs, and miRNA-DEGs network was constructed. And Cytoscape was used to analyze hub genes and miRNA. **Results:** According to  $|\log\text{FC}| > 0.4$  and  $P < 0.05$ , a total of 210 DEGs were screened out. These DEGs were mainly enriched in PI3K signaling pathway, MAPK signaling pathway and tumor-related pathways. Hub genes including STAT3, MYC and CCND1 as well as key miRNAs such as miR-34a-5p, miR-17-5p and miR-20a-5p were selected. **Conclusion:** Based on bioinformatics methods, the hub genes and miRNA in the process of heart failure caused by IDCM were screened and analyzed, a total of 210 differentially expressed genes and 7 functional modules were screened, and 3 key miRNAs were analyzed, which provided ideas for further research on the mechanism and therapeutic targets of IDCM heart failure.

**【Key words】** idiopathic dilated cardiomyopathy; heart failure; differentially expressed genes; miRNA

特发性扩张型心肌病 (idiopathic dilated cardiomyopathy, IDCM) 是一种左心室或双心室扩张导致收缩功能受损, 伴进行性心力衰竭、心律失常、血栓栓塞和猝死等临床表现的结构心脏病, 发病率高达 1:250<sup>[1]</sup>。虽然目前关于 IDCM 的生物信息学研究越来越多, 已有超过 40 个基因证明与 IDCM 相

关<sup>[2]</sup>, 例如编码细胞骨架、收缩或内核膜蛋白的基因如肌动蛋白、结蛋白和层粘连蛋白 A 和 C 等<sup>[3-4]</sup>; 另有一些研究筛选出了可用于诊断 IDCM 所致心衰的生物标志物, 如肝细胞生长因子、结蛋白等<sup>[5-7]</sup>。但是 IDCM 的具体发生发展机制尚不完全明确, 且临床上对 IDCM 的治疗比较局限, 患者一旦确诊为 IDCM 心衰, 相应的治疗措施仅有针对心衰、心律失常和栓塞等并发症的处理以及心脏移植术。因此, 为了增加诊断、治疗机会, 更准确地了解 IDCM 所致心衰的基因改变及分子间的相互作用, 本文利用生物信息学方法对 IDCM 心衰的潜在分子机制进行了更加

作者简介: 孙豪杰, Email: haojiesun2018@whu.edu.cn,

研究方向: 心力衰竭研究和治疗。

通信作者: 王杨淦, Email: ygwang2015@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81873507)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20210419.1415.008.html>

(2021-04-20)

深入的研究。

为了筛选 IDCM 心衰潜在生物标志物和途径, 本文从基因表达综合数据库 GEO 中分析了 2 个左室心肌组织基因表达数据集 GSE5406 和 GSE57338, 共纳入 168 例 IDCM 心衰样本和 152 例正常样本, 消除批次效应并进行标准化后, 筛选出 210 个共同差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs), 通过基因本体注释、信号通路富集分析、蛋白质相互作用网络分析、miRNA-DEGs 网络分析, 筛选出关键生物标志物, 为后续的研究提供参考。

### 1 资料与方法

#### 1.1 资料来源

从国家生物技术信息中心的基因表达综合数据库 (gene expression omnibus, GEO) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 中下载数据集 GSE5406 和 GSE57338。基因表达谱 GSE5406 是基于平台 GPL96[HG-U133A]Affymetrix 人类基因组 U133A 阵列生成的, 此项研究纳入 86 例 IDCM 心衰左室心肌样本和 16 例正常左室心肌样本。基因表达谱 GSE57338 是基于平台 GPL11532[HuGene-1\_1-st]Affymetrix 人类基因 1.1 st 阵列生成的, 此项研究纳入 82 例 IDCM 心衰左室心肌样本和 136 例正常左室心肌样本。对数据标准化和交叉可比性进行评估, 结果如图 1 所示, 选取的样本居中且数值分布标准, 表明这 2 个微阵列数据具有高质量性和交叉可比性。

#### 1.2 DEGs 的筛选

下载 2 个数据集的“Series Matrix File”表达量数据矩阵文件, 利用 R 语言结合注释文件将不同平台的探针名转化为官方基因名称。当多个探针对应同一个基因时, 取这些探针

表达量的平均值, 作为基因的表达水平。由于每个芯片平台测得的基因相对于整个基因组而言都或有欠缺, 所以在进行数据合并时仅将 2 个芯片平台均测得的基因保留。同时为了增加样本量, 在不同的数据集之间进行分析, 用数据集获得的 logFC 的平均值来表示基因的表达水平。 $\log FCA = \log(a+b)/2$ , FCA 表示平均折叠变化(average fold change),  $a$  和  $b$  分别表示在 GSE5406 中和 GSE57338 中通过 R 语言计算出来的折叠变化(fold change, FC)<sup>[8]</sup>。

#### 1.3 基因本体与通路分析

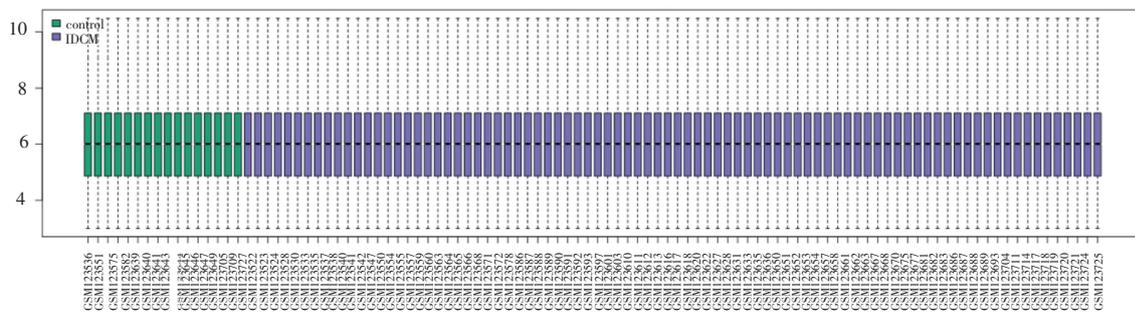
为了探究 DEGs 富集的生物生物学功能, 从而对特定基因的生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞组分(cell component, CC)进行预测。利用 DAVID 在线工具 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能注释和京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 路径富集分析, 设置 Benjamini 校正后的  $P < 0.05$ 。

#### 1.4 PPI 网络构建分析

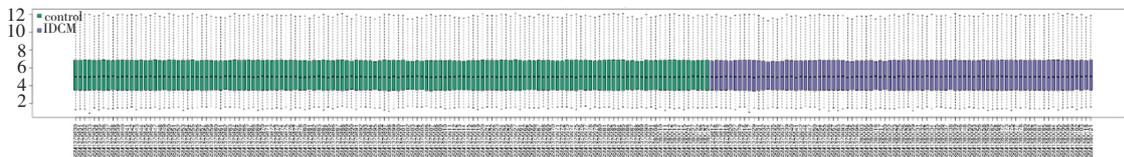
STRING (<http://string-db.org/>) 是一个能检索已知的和预测的蛋白质相互作用的数据库。利用 STRING 对 210 个 DEGs 进行蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 分析。选择置信(综合)评分  $> 0.4$  作为 PPI 的阈值。下载 PPI 对列表, 利用 Cytoscape 软件对 PPI 网络做可视化处理。

#### 1.5 靶向 DEGs 的 miRNA

将 DEGs 上传到 miRNet 数据库 (<http://www.mirnet.ca/>), 获得靶向 DEGs 的 miRNA。miRNet 数据库是可以建立 miR-目标网络、进行统计分析和功能注释的在线工具。设置最短路径过滤(shortest path filter), 即在关键节点之间保留最短路径, 下载 miR-DEGs 对列表, 利用 Cytoscape 软件做可视化处理。



A. 代表 GSE5406



B. 代表 GSE57338

注: X 轴表示选择的样本, Y 轴表示 log<sub>2</sub> 表达值, 方框图表示所选样本数据分布, 蓝色代表正常左室心肌样本, 红色 IDCM 心衰左室心肌样本, 其中位数是居中的, 表明数据是标准化和交叉可比的

图 1 微阵列数据的交叉可比性评估

1.6 miR-DEGs 网络可视化构建分析

将 PPI 列表和 miR-DEGs 列表导入 Cytoscape 软件, 构建可视化的 miR-DEGs 网络图, 利用软件的插件 MCODE 识别关键模块, 将 degree cutoff 设置为 2, 将 node score cutoff 设置为 0.2。

2 结果

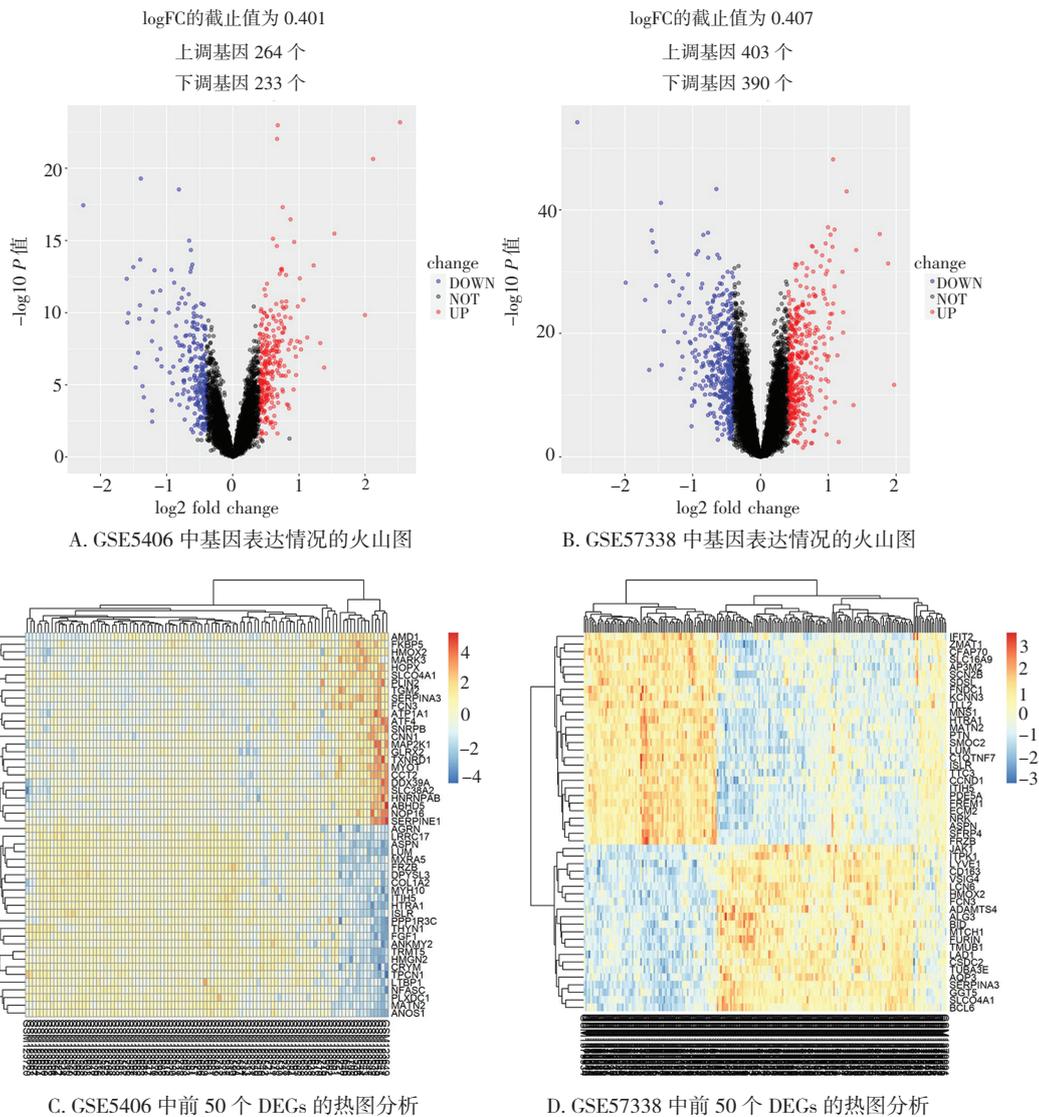
2.1 DEGs 的筛选

根据 R 语言设置的 logFC 的绝对值大于 0.4, P 值小于

0.05, 在 GSE5406 和 GSE57338 中分别筛选出来 497 个和 793 个 DEGs(图 2)。利用韦恩图取 2 个数据集 DEGs 的交集, 共发现 210 个共同 DEGs(图 2E), 其中上调基因有 102 个, 前 5 位分别是 ASPN、NPPA、LUM、MXRA5、HBB, 下调基因有 108 个, 前 5 位分别是 SERPINA3、PLA2G2A、CD163、SERPINE1、MYOT(表 1)。

2.2 DEGs 的功能富集与通路分析

利用 DAVID 结合 R 语言, 分别对上下调 DEGs 进行 GO 分析。图 3 所示上调 DEGs 的 GO 分析结果, 包括生物过程 BP(图 3A)、分子功能 MF(图 3B)和细胞组分 CC(图 3C)中前 10 个最显著的 GO terms。上调 DEGs 参与的 BP 主要富集



E. GSE5406 和 GSE57338 中共有 DEGs 的 Venn 图

图 2 2 个数据集的火山图、热图和 Venn 图

在细胞黏附、轴突生成、对血压的调节和对病毒的应答等过程;介导的 MF 主要有肝素结合、钙离子和钙调蛋白的结合以及生长因子的激活等;涉及的 CC 主要是细胞外基质、胞外结构组织和细胞外泌体等。下调 DEGs 的 GO terms 主要富集在炎症、免疫应答、细胞外基质组分及蛋白结合等方面。

表 1 前 5 位上调和下调基因

基因序号	logFC <sub>A</sub>	变化
ASPN	2.241 3	UP
NPPA	1.983 9	UP
LUM	1.734 0	UP
MXRA5	1.385 7	UP
HBB	1.374 8	UP
SERPINA3	-1.903 2	DOWN
PLA2G2A	-1.685 6	DOWN
CD163	-1.593 8	DOWN
SERPINE1	-1.519 6	DOWN
MYOT	-1.476 9	DOWN

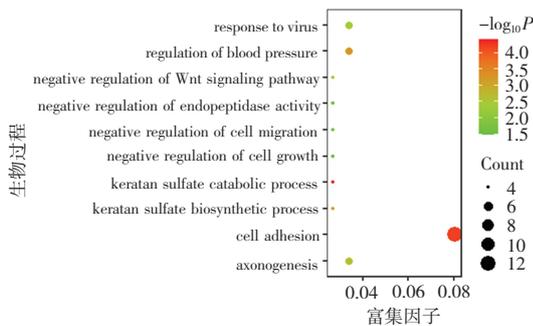
对 210 个 DEGs 进行 KEGG 路径分析,共发现 39 条路径,综合富集的基因数目和显著性,将前 10 条途径用条形图展现在图 3D 中。DEGs 主要富集在磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 等信号通路及人类嗜 T 细胞病毒 I (human T-cell leukemia/lymphoma virus, HTLV-I) 感染、肿瘤涉及的通路和肿瘤中的糖蛋白和 miRNA 的表达等途径。

### 2.3 PPI 网络和 miR-DEGs 网络构建分析

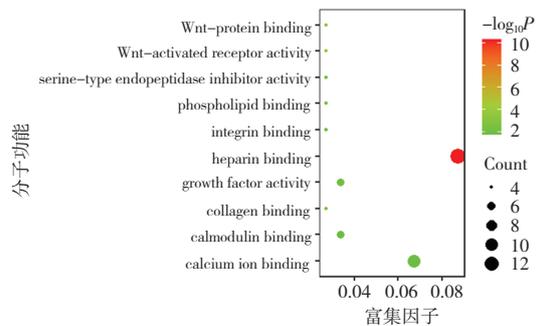
上传 210 个 DEGs,在 STRING 中识别出 494 对 PPI,在 miRNet 中识别出 860 对 miR-DEGs,然后将 2 个列表导入 Cytoscape 中进行合并,得到复杂的 miR-DEGs 网络。利用 MCODE 插件识别出 7 个模块,图 4 展示了前 3 个关键模块。模块 1 发现关键下调基因 STAT3、MYC、FOS、CCL2、SERPINE1、TIMP1、BCL2L1、THBS1、MAP2K1、CEBPB、SPP1 和关键上调基因 CCND1、CXCL12 以及关键 microRNAs,包括 miR-34a-5p 和 miR-17-5p 等;模块 2 发现 7 个上调基因;模块 3 发现 9 个基因和 6 个 miRNAs,包括 miR-20a-5p 等。

### 3 讨论

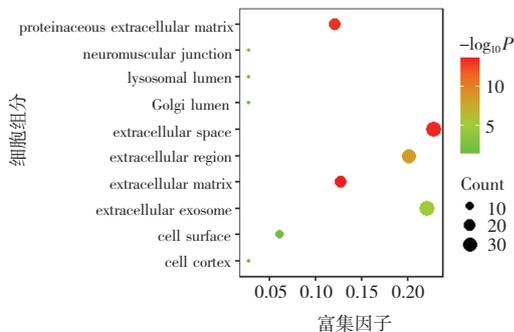
本文基于对数据集 GSE5406 和 GSE57338 的研究,筛选出 210 个 DEGs。GO 分析发现这些 DEGs 主要涉及免疫炎症、细胞外基质和结构改变等生物学功能。通路富集提示这些 DEGs 主要参与 PI3K 信号通路、MAPK 信号通路和 HTLV-I 感染等途径。有研究表明,上调 miR-132 可以激活 PI3K/Akt 信号转导途径,从而促进扩张型心肌病大鼠心肌细胞增殖,抑制心肌细胞凋亡、心肌纤维化和炎症反应等<sup>[9]</sup>,提示靶向激活 PI3K/Akt 信号通路可能会改善 IDCM 心衰症状,需要进一步研究验证。Huang L 等<sup>[10]</sup>通过生物信息学分析发现,MAPK 信号通路是扩张型心



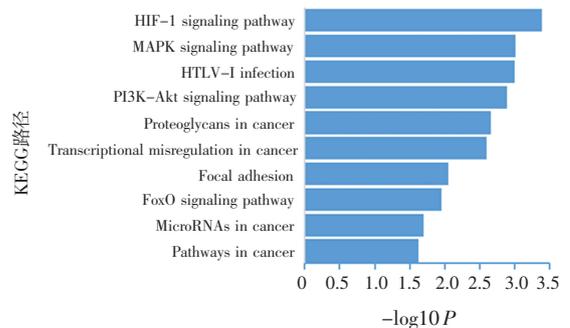
A. 前 10 条上调 DEGs 的生物过程气泡图



B. 前 10 条上调 DEGs 的分子功能气泡图

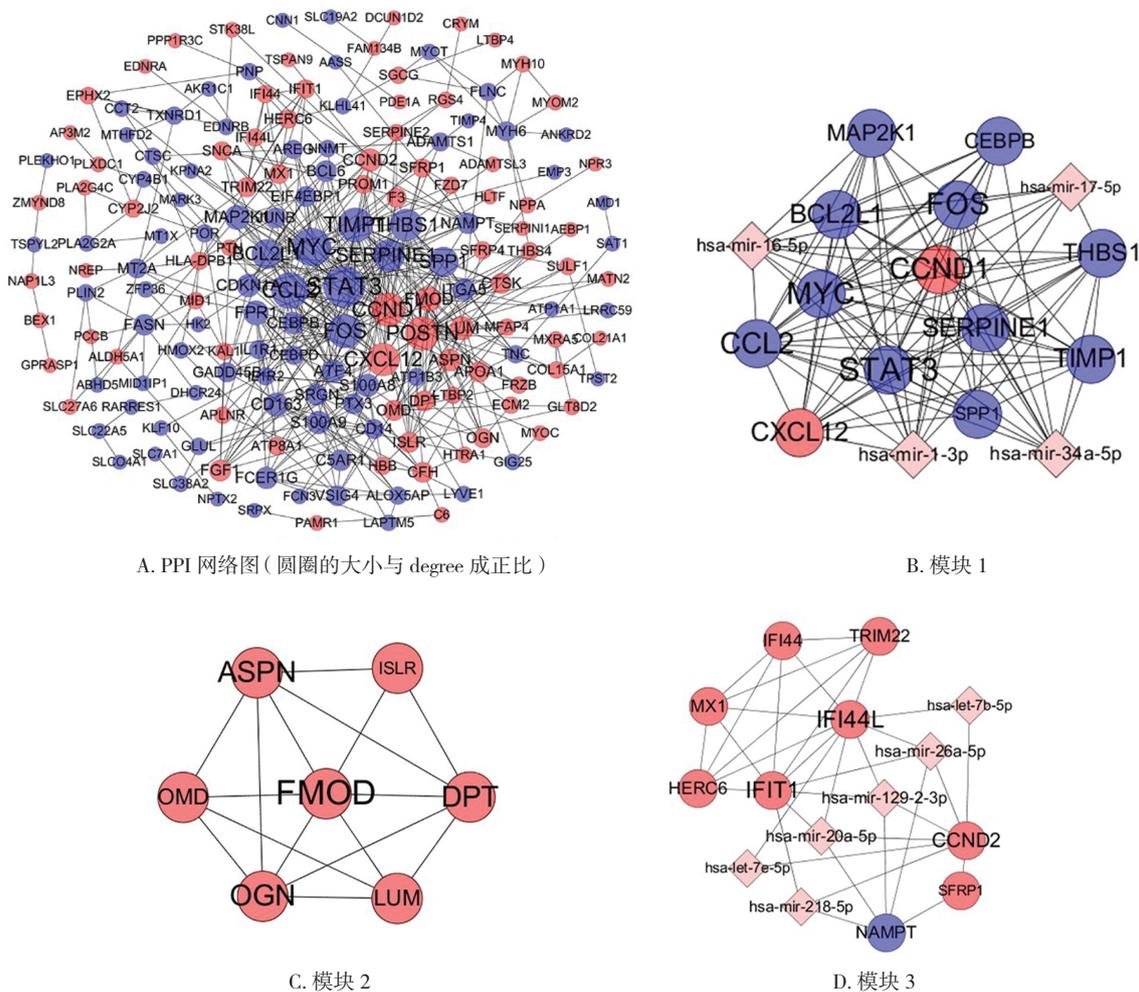


C. 前 10 条上调 DEGs 的细胞组分气泡图



D. 前 10 条上调 DEGs 的 KEGG pathway 条形图

图 3 DEGs 的 GO 富集气泡图与 KEGG 路径条形图



注:上调和下调基因分别用红色和蓝色标记,标签的大小与 degree 的大小成正比;基因用圆形表示,miRNA 用菱形表示

图 4 PPI 网络图和 3 个功能模块图

肌病的中枢通路,一些与 MAPK 信号通路相关的 miRNAs 的异常表达通过调节多种生物学过程,参与扩张型心肌病的发生。此外,有研究表明,通过沉默结缔组织生长因子可以抑制 MAPK 信号通路,从而减轻扩张型心肌病大鼠的心肌纤维化和左室肥大<sup>[11]</sup>。由此推测 MAPK 信号通路可能与 IDCM 心衰的发病密切相关,值得深入探讨。然而,有关于 HTLV-I 感染在 IDCM 心衰进展中的影响尚未见报道,有待进一步研究发现。

miRNA-DEGs 网络分析发现 3 个重要的 miR-DEG 模块,其中包含与胞外基质、细胞凋亡和心血管疾病相关的关键 DEGs 和 miRNAs。心脏内源性信号传导及转录激活因子 STAT3 特异性缺失的小鼠在感染病毒后表现出心肌纤维化和心功能降低<sup>[12]</sup>,STAT3 活性的整体降低又会导致肌丝断裂和收缩功能障碍并使心脏代谢稳态发生改变<sup>[13]</sup>,然而

心肌细胞中 STAT3 组成性激活能诱导依赖补体 C3 的免疫介导性心肌炎<sup>[14]</sup>,STAT3 活性的显著增强又会导致严重的炎症反应和左室破裂等不良后果<sup>[15]</sup>,这些研究提示心脏中 STAT3 不同程度的激活可能会导致不同的结果,因此推测 STAT3 在 IDCM 心衰中可能发挥着复杂作用,值得进一步研究确定。MYC 编码一种在细胞周期进展和凋亡中发挥作用且与免疫炎症反应有关的蛋白质。有研究表明,下调 miR-451a 通过靶向转录因子 MYC 而促进 DCM 患者 CD4<sup>+</sup> T 细胞的活化和增殖,可能参与 DCM 的免疫发病机制<sup>[16]</sup>。Qiu LL 等<sup>[17]</sup>发现,MYC 是 IDCM 特异性基因网络的枢纽,且在 IDCM 心衰样本中下调,这与本研究结果相符。以往的研究中 MYC 在肥厚性因子的刺激下迅速升高<sup>[18]</sup>,发挥致心肌肥厚的作用,而在 IDCM 心衰中 MYC 的下调提示可能存在不同的作用,需要深入研究探索。细胞周期蛋白 D1

(cyclin D1, CCND1)属于高度保守的细胞周期蛋白。有研究表明,其上调表达是 DCM 的保护因子,可以抑制由于肌联蛋白(titin, TTN)功能不全引起的 DCM<sup>[19]</sup>,因此本研究中所发现 IDCM 心衰患者中 CCND1 的表达上调可能发挥保护作用。

柯萨奇病毒引起的急性病毒性心肌炎中趋化因子 CXCL12 显著增加,加重了心肌损伤和炎症反应<sup>[20]</sup>,病毒性心肌炎是扩张型心肌病的病因学前兆,由此推测 CXCL12 可能参与 IDCM 心衰的发生发展,值得进一步研究。在扩张型心肌病心肌组织中,趋化因子 CCL2 水平上调,参与扩心病的免疫调节和炎症过程<sup>[21]</sup>。FOS 基因编码亮氨酸拉链蛋白,是转录因子复合物(transcription factor AP-1, FOS-AP-1)的组成之一,FOS-AP-1 能够抑制 MMP-9 的活性,减轻心衰时心室重构<sup>[22]</sup>。SERPINE1 基因编码丝氨酸蛋白酶抑制剂家族成员 1 (serpin family E member 1, SERPINE1),其被报道在心衰中显著降低,可用于心衰的诊断<sup>[23]</sup>。TIMP1 编码的蛋白质是基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)的抑制剂,有研究表明 MMP-2、MMP-9 及其抑制物 TIMP1 可作为 DCM 的预测指标,用于评价不同年龄患者对治疗的反应性<sup>[24]</sup>,因此 TIMP1 可能是 IDCM 心衰患者潜在的诊断标志物。BCL2L1 基因编码的蛋白质属于 BCL-2 家族蛋白,主要参与和细胞凋亡相关的活动。凝血酶敏感蛋白 1 (thrombospondin 1, THBS1)可激活转化生长因子 $\beta$ 、调节炎症和基质代谢,其在心脏纤维化中的作用仍存在争议,高度取决于研究的疾病状态<sup>[25]</sup>,因此该基因在 IDCM 心衰患者心脏组织纤维化表型中的作用有待后续的实验探究。丝裂原激活蛋白激酶激酶 1 (mitogen-activated protein kinase kinase 1, MAP2K1)是双重特异性蛋白激酶家族的一员,据报道使用 MAP2K1 抑制剂能够改善 LMNA 基因突变所致的扩张型心肌病小鼠的左室心功能<sup>[26]</sup>,提示靶向抑制 MAP2K1 可能是 LMNA 突变所致扩张型心肌病的潜在治疗靶点。CCAAT 增强子结合蛋白 $\beta$  (CCAAT enhancer binding protein beta, CEBPB)编码一个在免疫炎症反应中发挥重要作用的转录子,参与炎症性心肌病的形成<sup>[27]</sup>。SPP1 基因编码分泌性磷蛋白 1 (secreted phosphoprotein 1, SPP1),可能参与扩张型心肌病心肌纤维化的形成过程<sup>[28]</sup>。

以上分析表明,基因 STAT3、MYC、CXCL12、CCL2、FOS、BCL2L1、THBS1、CEBPB 和 SPP1 可能从胞内结构、胞外基质、免疫炎症和细胞增殖凋亡等生物学功能和信号通路方面参与 IDCM 心衰的发生

发展,每个基因的具体作用机制还需大量的实验研究和临床病例证实。另外基因 CCND1 和 MAP2K1 可能作为 IDCM 心衰的治疗靶点值得深入研究。

近年来,miRNAs 与心血管疾病之间的关系受到越来越多的关注。有研究表明在中度扩张型心肌病患者中,女性患者应用抑制 miR-34a-5p 的治疗相比于男性患者更有效<sup>[29]</sup>,因此对靶点 miR-34a-5p 的抑制或许能为女性 IDCM 心衰患者带来福音。研究发现沉默 miR-17-5p 的表达,可以降低心肌细胞的凋亡和修复血管损伤从而保护心肌梗死后心功能<sup>[30]</sup>,而 miR-17-5p 在 IDCM 心衰患者中的具体影响机制尚未明确,需进一步研究探索。在心梗后心衰大鼠或者患者的循环血液中,miR-20a-5p 的表达水平与左室舒张末期内径或者容积呈显著相关,可作为心梗后心衰左室重构的潜在生物标志物<sup>[31]</sup>,由此推测 miR-20a-5p 水平的变化或许能够预测 IDCM 心衰患者左室扩张重构的发生,还需要进一步的实验验证。

相比于以往的研究<sup>[32]</sup>,本研究纳入了 2 个数据集,为进一步研究 IDCM 心衰的发病机制和治疗靶点提供了更加可靠的依据。尽管如此,仍存在一些局限性。首先,本研究虽然纳入了 2 个数据集,但样本量不多,在以后的研究中需筛选出更多符合要求的数据集,纳入更多的样本来验证本研究的发现。其次,纳入的基因表达谱芯片来源于对左室心肌组织的分析,不能全面揭示 IDCM 心衰患者的分子病理基础,在后续的研究中需对全心组织、血浆和血清等样本进行全面分析。最后,没有将样本按照年龄分层来进一步分析,因为有研究表明年龄和性别对基因的表达水平有一定的影响<sup>[33]</sup>,然而本次研究无法获得与年龄匹配的心脏组织样本,所以并未进行相关研究。

综上所述,通过对 2 个数据集的分析,筛选出了一些可能与 IDCM 心衰发生发展相关的潜在基因如 STAT3、MYC 和 CCND1 等以及 miRNAs,包括 miR-34a-5p、miR-17-5p 和 miR-20a-5p,为进一步研究 IDCM 心衰患者的分子机制提供有价值的信息,并为寻找新的治疗策略提供线索。

## 参 考 文 献

- [1] Hershberger RE, Hedges DJ, Morales A. Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture[J]. Nat Rev Cardiol, 2013, 10(9): 531-547.
- [2] Tayal U, Prasad S, Cook SA. Genetics and genomics of dilated

- cardiomyopathy and systolic heart failure[J]. *Genome Med*, 2017, 9(1): 20.
- [3] Gerull B, Gramlich M, Atherton J, et al. Mutations of TTN, encoding the giant muscle filament titin, cause familial dilated cardiomyopathy[J]. *Nat Genet*, 2002, 30(2): 201–204.
- [4] Schmidt HH, Lochs H. Lamin A/C gene mutation associated with dilated cardiomyopathy with variable skeletal muscle involvement[J]. *Circulation*, 2001, 103(4): E20.
- [5] Bielecka-Dabrowa A, von Haehling S, Aronow WS, et al. Heart failure biomarkers in patients with dilated cardiomyopathy[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(3): 2404–2410.
- [6] Wang Y, da Consolação V, Moreira M, Khan A, et al. Prognostic significance of circulating levels of hepatocyte growth factor in patients with chagas' disease and idiopathic dilated cardiomyopathy[J]. *Cardiology*, 2012, 121(4): 240–246.
- [7] Pawlak A, Gil RJ, Kulawik T, et al. Type of desmin expression in cardiomyocytes: a good marker of heart failure development in idiopathic dilated cardiomyopathy[J]. *J Intern Med*, 2012, 272(3): 287–297.
- [8] Li YN, Jiang Q, Ding ZW, et al. Identification of a common different gene expression signature in ischemic cardiomyopathy[J]. *Genes*, 2018, 9(1): 56.
- [9] Zhang CJ, Huang Y, Lu JD, et al. Upregulated microRNA-132 rescues cardiac fibrosis and restores cardiocyte proliferation in dilated cardiomyopathy through the phosphatase and tensin homolog-mediated PI3K/Akt signal transduction pathway[J]. *J Cell Biochem*. 2018[Epub ahead of print]. DOI: 10.1002/jcb.27081.
- [10] Huang GY, Cao MM, Huang ZQ, et al. Small RNA-sequencing identified the potential roles of neuron differentiation and MAPK signaling pathway in dilated cardiomyopathy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 114: 108826.
- [11] Hong L, Lai HL, Fang Y, et al. Silencing CTGF/CCN2 inactivates the MAPK signaling pathway to alleviate myocardial fibrosis and left ventricular hypertrophy in rats with dilated cardiomyopathy[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(11): 9519–9531.
- [12] Lindner D, Hilbrandt M, Marggraf K, et al. Protective function of STAT3 in CVB3-induced myocarditis[J]. *Cardiol Res Pract*, 2012, 2012: 437623.
- [13] Kurdi M, Zgheib C, Booz GW. Recent developments on the crosstalk between STAT3 and inflammation in heart function and disease[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 3029.
- [14] Camporeale A, Marino F, Papageorgiou A, et al. STAT3 activity is necessary and sufficient for the development of immune-mediated myocarditis in mice and promotes progression to dilated cardiomyopathy[J]. *EMBO Mol Med*, 2013, 5(4): 572–590.
- [15] Hilfiker-Kleiner D, Shukla P, Klein G, et al. Continuous glycoprotein-130-mediated signal transducer and activator of transcription-3 activation promotes inflammation, left ventricular rupture, and adverse outcome in subacute myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2010, 122(2): 145–155.
- [16] Zeng ZP, Wang K, Li YY, et al. Down-regulation of microRNA-451a facilitates the activation and proliferation of CD4<sup>+</sup> T cells by targeting Myc in patients with dilated cardiomyopathy[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(14): 6004–6013.
- [17] Qiu LL, Ding XJ, Zhu HT, et al. Comparative RNA profile analysis of idiopathic dilated cardiomyopathy and ischemic cardiomyopathy[J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(1): 4238.
- [18] Lee HG, Chen Q, Wolfram JA, et al. Cell cycle re-entry and mitochondrial defects in Myc-mediated hypertrophic cardiomyopathy and heart failure[J]. *PLoS One*, 2009, 4(9): e7172.
- [19] Liao D, Chen WM, Tan CY, et al. Upregulation of Yy1 suppresses dilated cardiomyopathy caused by Ttn insufficiency[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 16330.
- [20] Corsten MF, Heggermont W, Papageorgiou AP, et al. The microRNA-221/–222 cluster balances the antiviral and inflammatory response in viral myocarditis[J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(42): 2909–2919.
- [21] Guo J, Zhang HF, Xiao JJ, et al. Monocyte chemotactic protein-1 promotes the myocardial homing of mesenchymal stem cells in dilated cardiomyopathy[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(4): 8164–8178.
- [22] Sanchis L, Andrea R, Falces C, et al. Prognosis of new-onset heart failure outpatients and collagen biomarkers[J]. *Eur J Clin Invest*, 2015, 45(8): 842–849.
- [23] Yu AZ, Zhang JY, Liu HY, et al. Identification of nondiabetic heart failure-associated genes by bioinformatics approaches in patients with dilated ischemic cardiomyopathy[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(6): 2602–2608.
- [24] Antonov IB, Kozlov KL, Pal'tseva EM, et al. Matrix metalloproteinases MMP-1 and MMP-9 and their inhibitor TIMP-1 as markers of dilated cardiomyopathy in patients of different age[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2018, 164(4): 550–553.
- [25] Chang C, Zhao QS, Gonzalez JP, et al. Hematopoietic Id deletion triggers endomyocardial fibrotic and vascular defects in the adult heart[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3079.
- [26] Muchir A, Wu W, Sera F, et al. Mitogen-activated protein kinase kinase 1/2 inhibition and angiotensin II converting inhibition in mice with cardiomyopathy caused by lamin A/C gene mutation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 452(4): 958–961.
- [27] Chen J, Wang HY, Zeng CY. Transcriptome network analysis of potential candidate genes for heart failure[J]. *Genet Mol Res*, 2013, 12(4): 4687–4697.
- [28] Satoh M, Nakamura M, Akatsu T, et al. Myocardial osteopontin expression is associated with collagen fibrillogenesis in human dilated cardiomyopathy[J]. *Eur J Heart Fail*, 2005, 7(5): 755–762.
- [29] Bernardo BC, Ooi JY, Matsumoto A, et al. Sex differences in response to miRNA-34a therapy in mouse models of cardiac disease: identification of sex-, disease- and treatment-regulated miRNAs[J]. *J Physiol*, 2016, 594(20): 5959–5974.
- [30] Yang S, Fan T, Hu Q, et al. Downregulation of microRNA-17-5p improves cardiac function after myocardial infarction via attenuation of apoptosis in endothelial cells[J]. *Mol Genet Genomics*, 2018, 293(4): 883–894.
- [31] Gao GY, Chen WW, Liu M, et al. Circulating microRNAs as novel potential biomarkers for left ventricular remodeling in postinfarction heart failure[J]. *Dis Markers*, 2019, 2019: 5093803.
- [32] Huang HJ, Luo BB, Wang BQ, et al. Identification of potential gene interactions in heart failure caused by idiopathic dilated cardiomyopathy[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 7697–7709.
- [33] Boheler KR, Volkova M, Morrell C, et al. Sex- and age-dependent human transcriptome variability: implications for chronic heart failure[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(5): 2754–2759.