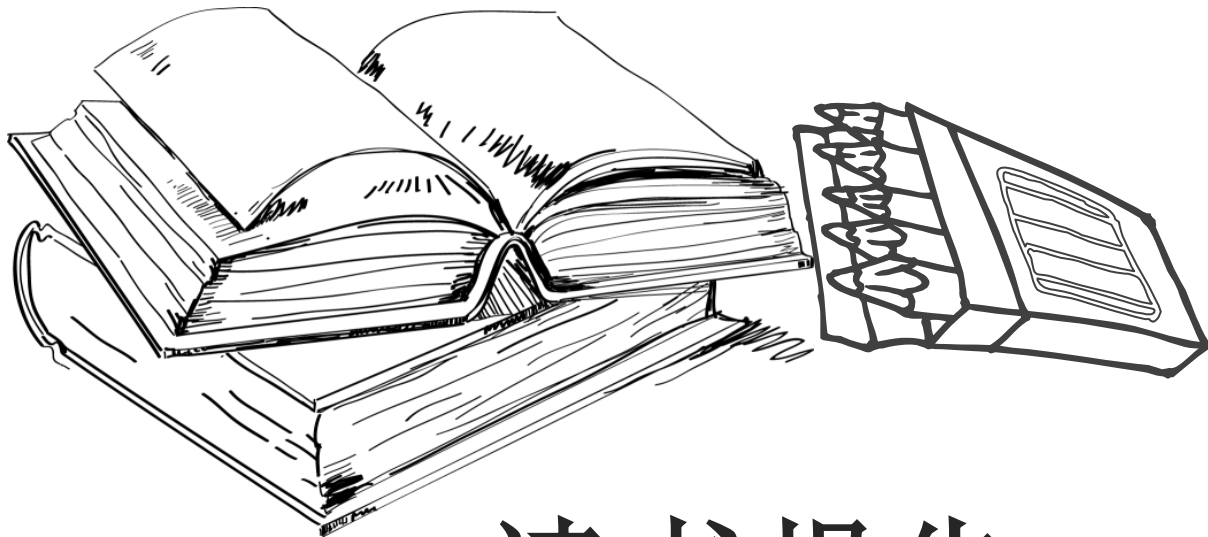




河南师范大学

HENAN NORMAL UNIVERSITY

236



# 读书报告

汇报人: 贾申宗

时间: 2019年5月26日



河南师范大学

HENAN NORMAL UNIVERSITY



International Journal of  
*Molecular Sciences*



*Article*

# MicroRNA-29a Disrupts DNMT3b to Ameliorate Diet-Induced Non-Alcoholic Steatohepatitis in Mice

IF = 3.687



河南师范大学

HENAN NORMAL UNIVERSITY



# 目录

DIRECTORY

01

研究背景

02

材料与amp;方法

03

实验结果

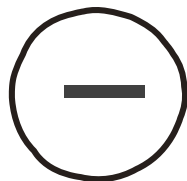
04

结论与分析

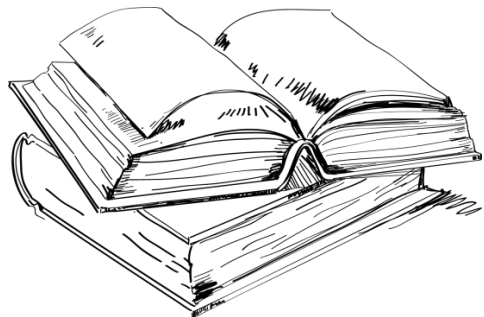


河南师范大学

HENAN NORMAL UNIVERSITY



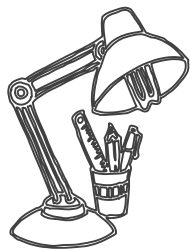
## 研究背景



随着肥胖和代谢综合症的流行，非酒精性脂肪肝(NAFLD)已成为全球最常见的慢性肝病。非酒精性脂肪性肝炎(NASH)是NAFLD的极端发展形式，被认为是肝硬化的关键诱发因素。然而，肝脏脂肪变性在NASH和肝纤维化的发病机制中的作用仍然未知，并且很少有治疗剂改善NASH动物模型中的肝组织学或蛋白合成功能

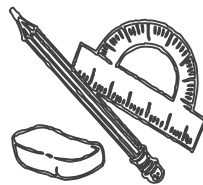


# 研究背景



胆碱和蛋氨酸是维持肝功能的膳食甲基供体。蛋氨酸-胆碱缺乏饮食(MCD)会诱导形成NASH动物模型，并迅速发展为肝纤维化和肝癌。已有证据表明MCD饮食动物模型中的肝纤维化过程是通过促炎性细胞因子和TGF- $\beta$ 信号传导激活肝星状细胞(HSC)以及转化HSC的一组新的表观遗传标记来启动，用DNA甲基化抑制剂控制表观遗传活性可减缓肝损伤和纤维化。

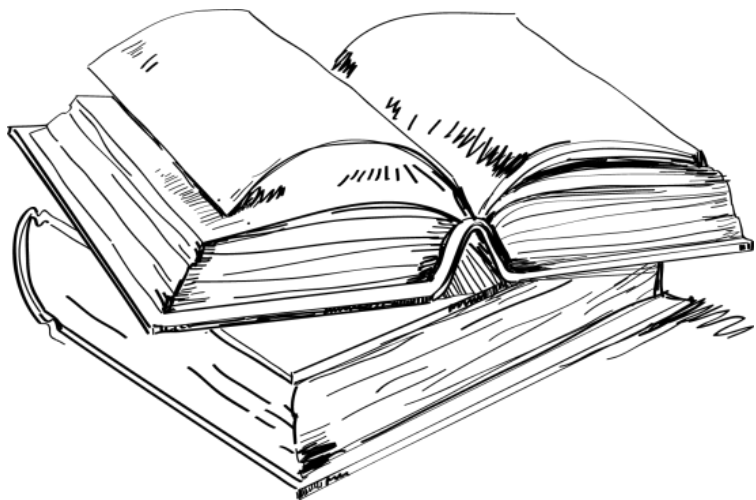
MicroRNA(miRNA)是一类内生的、长度约为20-24个核苷酸的小RNA，其在细胞内具有多种重要的调节作用。研究发现MicroRNA-29a可在肝损伤后减少肝脏炎症和纤维化。同时，据报道DNA甲基转移酶参与NASH的发展。本试验的目的是研究miR-29a对NASH发展中DNA甲基转移酶信号传导和表观遗传程序的调节。





河南师范大学

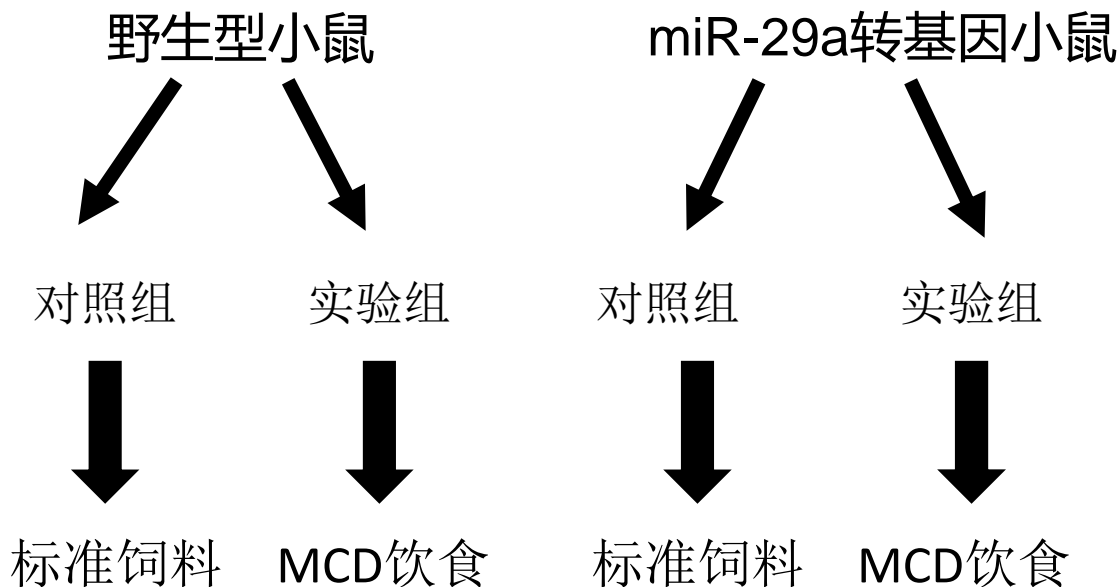
HENAN NORMAL UNIVERSITY



二

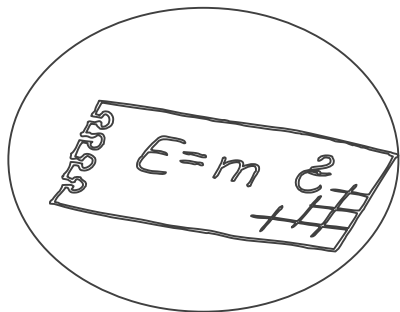
材料与方法

# 材料与amp;方法



每组6-8只小鼠，每天记录体重，饲喂4周后，实施安乐死。取肝脏组织进行组织学分析和生化分析。

# 材料与amp;方法



## HE染色和天狼星红染色

通过HE染色评估脂滴的大小，天狼星红染色来评估肝纤维化程度。



## 8-OHdG免疫组化

采用8-OHdG的免疫组织化学染色，检测肝脏中的氧化应激。



## 实时荧光定量

进行RT-PCR，对肝脏中的tgfb1，IL-6和血红素加氧酶-1 (ho-1) 基因的表达进行检测。

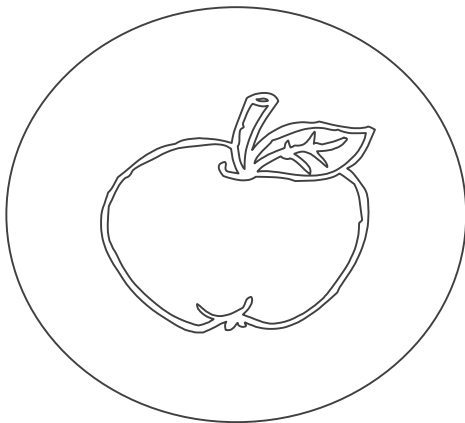


# 材料与amp;方法



Western blot 分析相关蛋白表达量

通过Western blot 验证MCD  
饮食是否改变了肝组织中  
DNA甲基转移酶蛋白的 表达。



分离与培养原代肝星状细胞

培养原代肝星状细胞进行转染。



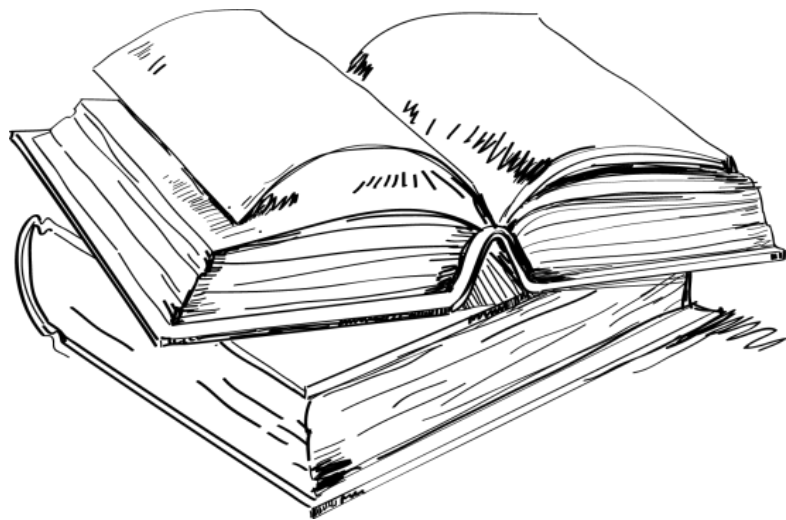
双荧光素酶报告基因测定

验证DNA甲基转移酶是否  
为miR-29a的直接靶标。



河南师范大学

HENAN NORMAL UNIVERSITY



三

实验结果

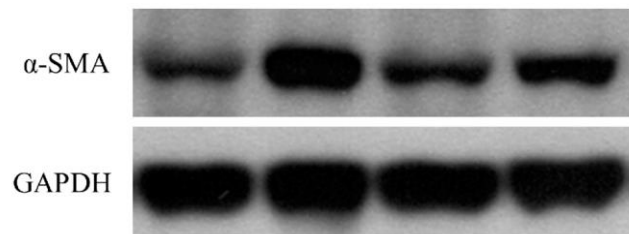
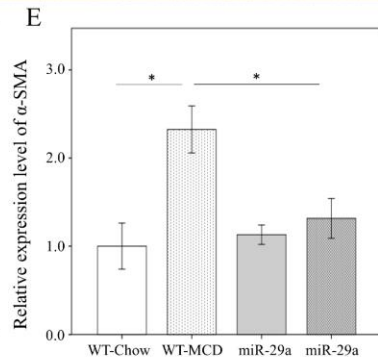
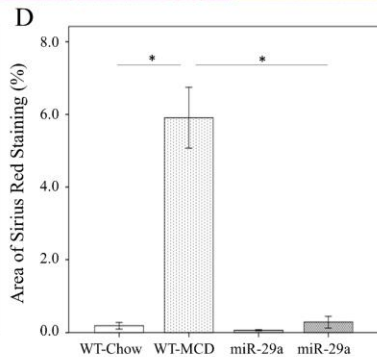
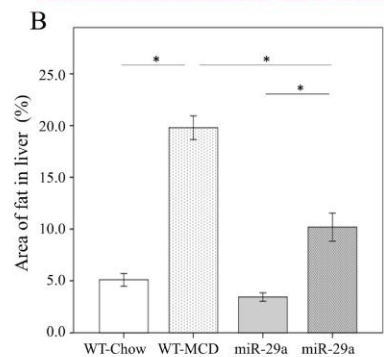
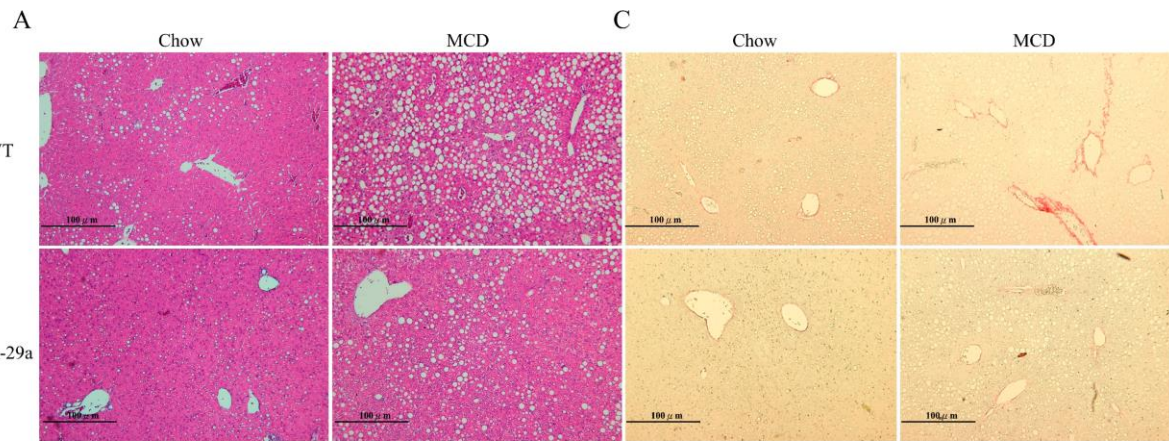
# 1.miR-29a的过表达显著降低了MCD饮食小鼠的肝细胞脂肪变性和纤维化

Table 1. Comparison of the changes in the four groups.

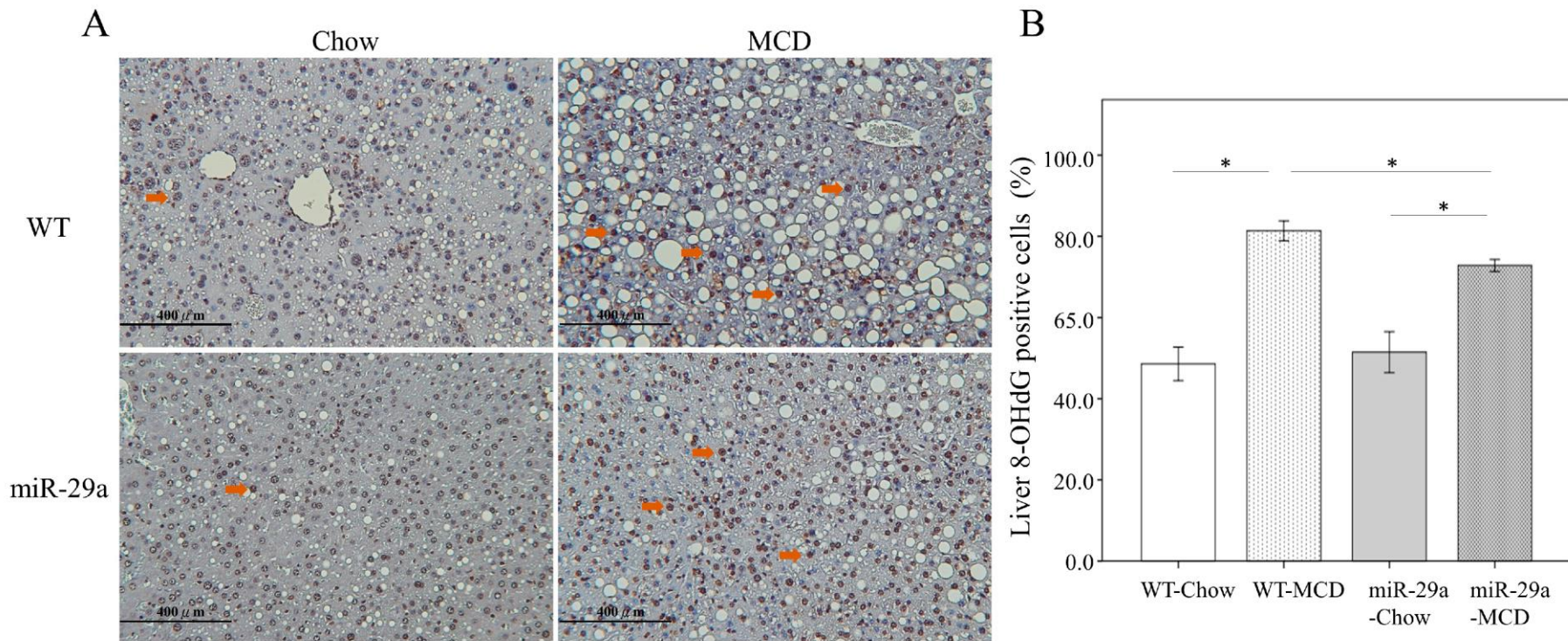
	WT-Chow	WT-MCD	miR-29a-Chow	miR-29a-MCD
Body weight (g)	27.79 ± 4.10	14.69 ± 1.72 <sup>a</sup>	24.40 ± 1.81 <sup>a</sup>	14.36 ± 0.7 <sup>b</sup>
Body weight gain (%)	22.63 ± 6.20	-46.40 ± 13.79 <sup>a</sup>	21.06 ± 4.88	-36.3 ± 6.68 <sup>b,c</sup>
Liver (g)	1.08 ± 0.21	0.56 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.97 ± 0.21	0.49 ± 0.04 <sup>b</sup>
Liver/body weight (%)	3.88 ± 0.34	3.79 ± 0.32	4.02 ± 1.02	3.41 ± 0.31
AST (U/L)	73.00 ± 31.00	192.6 ± 59.00 <sup>a</sup>	65.25 ± 21.41	148.09 ± 36.75 <sup>b,c</sup>
ALT (U/L)	20.00 ± 10.82	102.6 ± 92.58 <sup>a</sup>	15.75 ± 5.59	103.09 ± 54.05 <sup>b</sup>

WT, wild type; MCS, methionine-choline-deficient; Data expressed as mean ± standard deviation; <sup>a</sup>  $p < 0.05$  versus WT-MCS; <sup>b</sup>  $p < 0.05$  versus miR-29a-MCS; <sup>c</sup>  $p < 0.05$  versus WT-MCD.

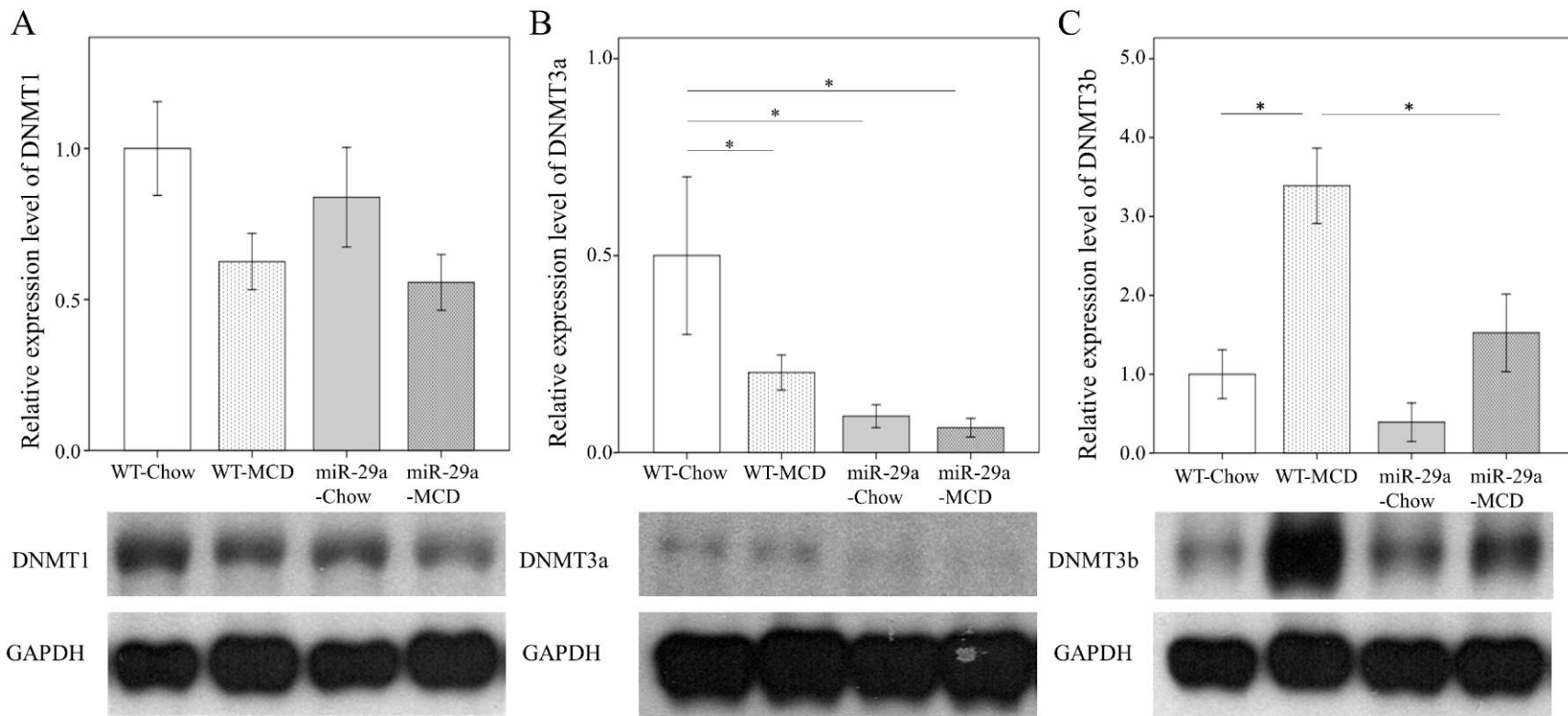
# 1.miR-29a的过表达显着降低MCD饮食小鼠的肝细胞脂肪变性，纤维化和损伤



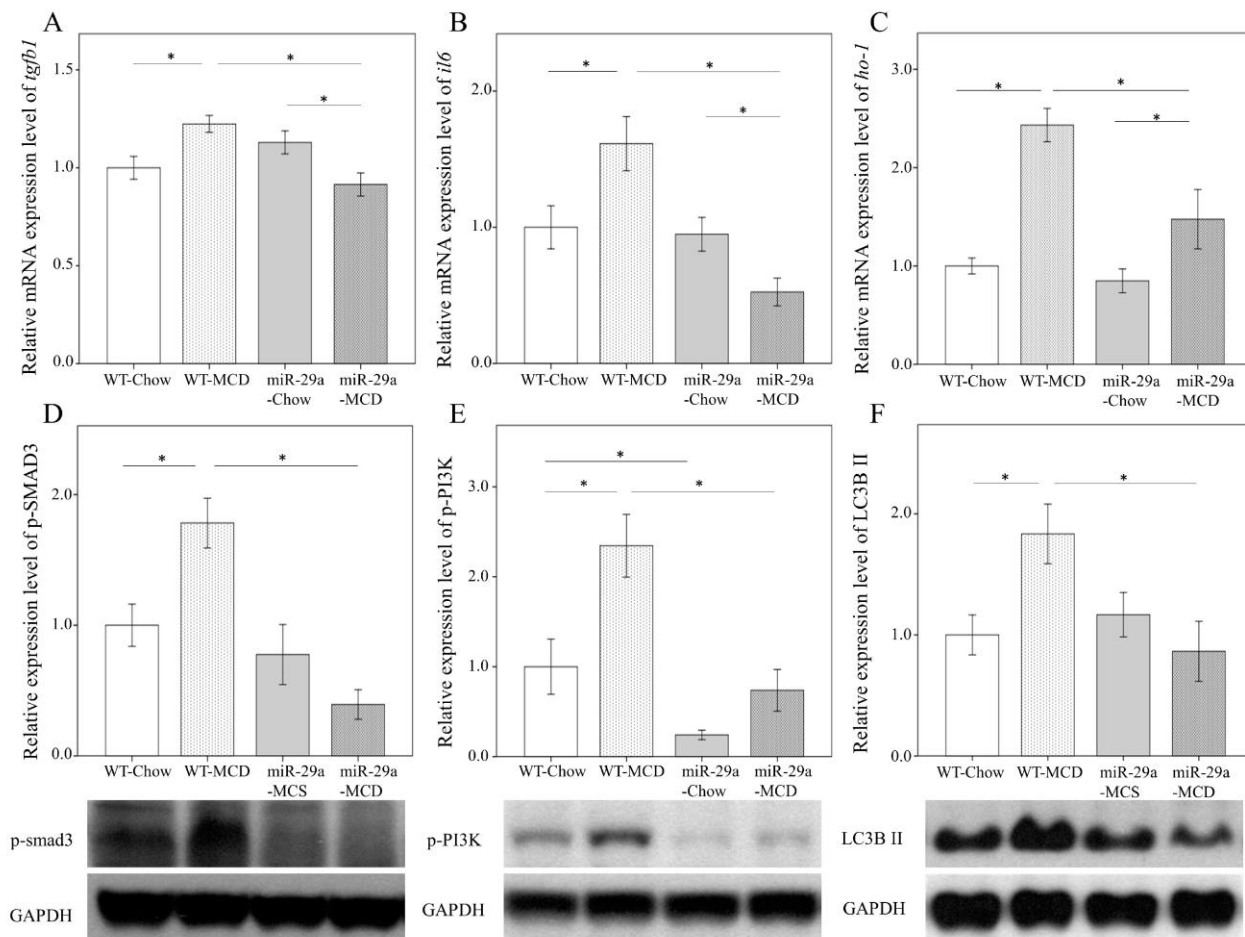
## 2.过表达miR-29a降低MCD饮食小鼠的氧化应激



### 3.过表达miR-29a降低MCD饮食小鼠中的DNA甲基转移酶水平



## 4.miR-29a过表达降低MCD饮食小鼠肝脏中的炎症细胞因子和自噬表达

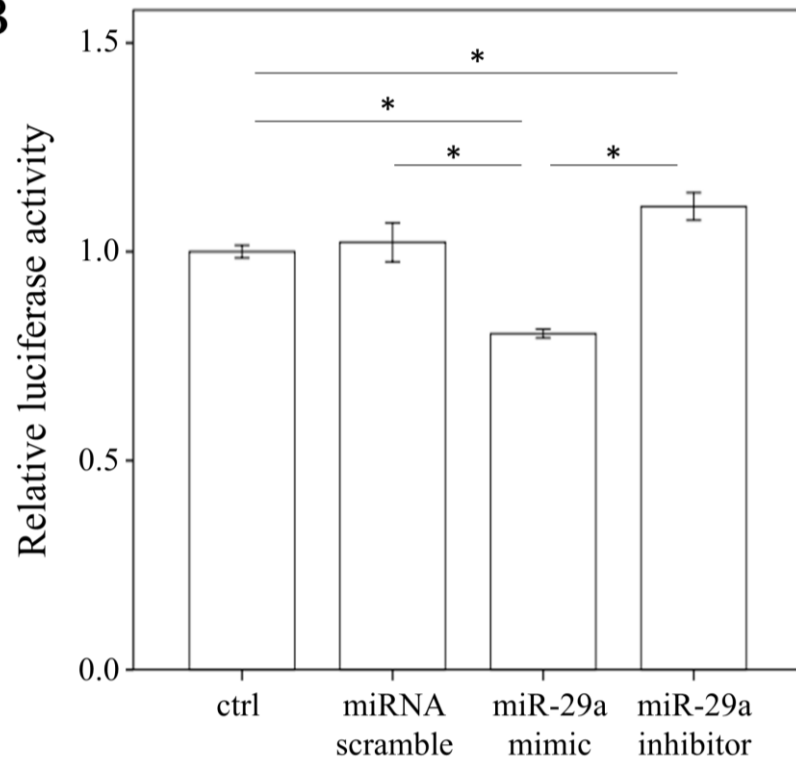


## 5. 验证DNMT3b是miR-29a的直接靶标

A



B

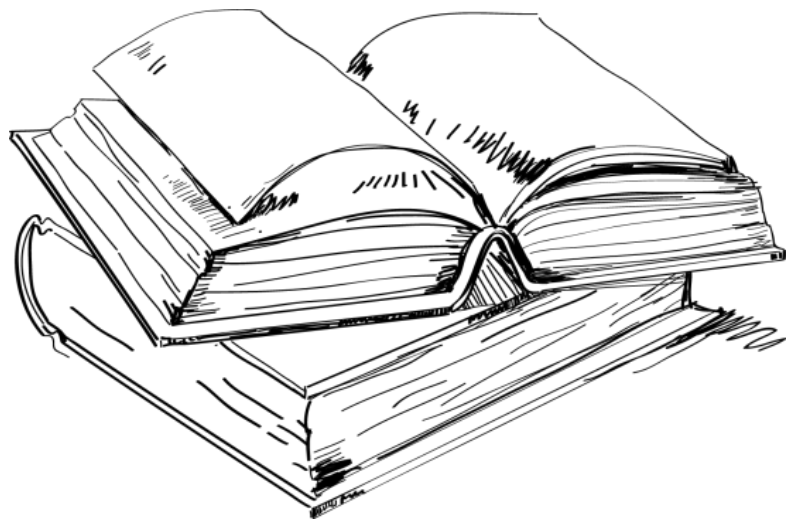






河南师范大学

HENAN NORMAL UNIVERSITY



## 四

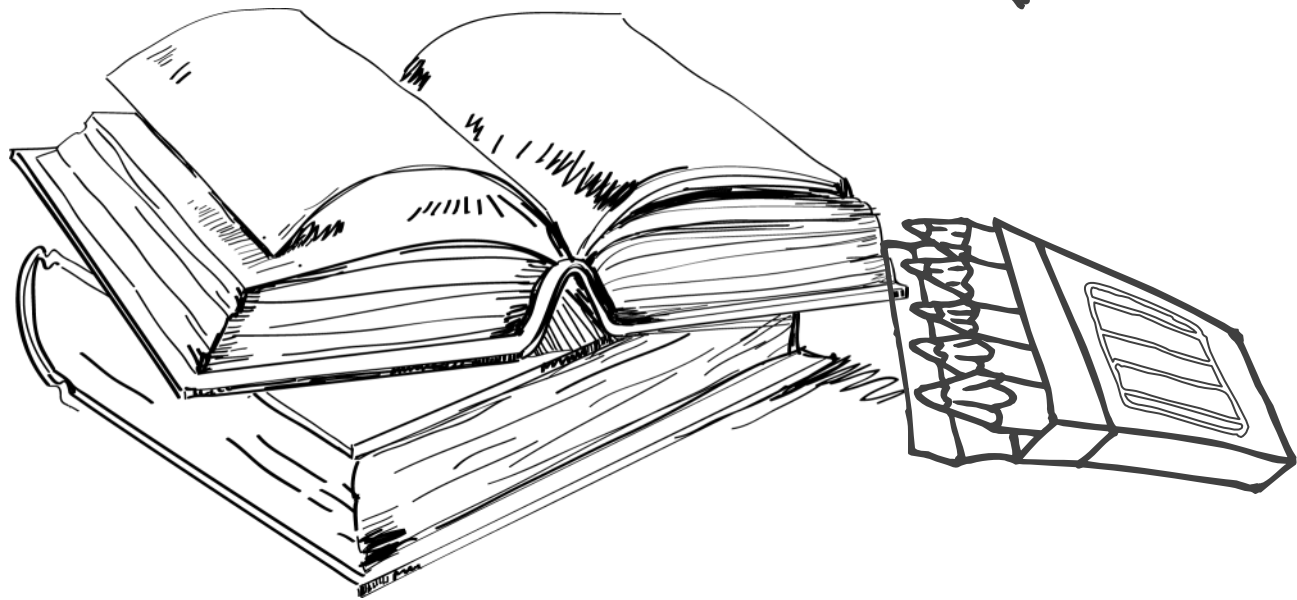
## 结论与分析

## 四. 结论与分析



1.miR-29a可降低MCD饮食诱导的NASH动物模型中促炎细胞因子和自噬的表达并减少ROS的产生。

2.miR-29a通过靶向DNMT3b调节肝脏炎症中的表观遗传机制并减轻肝纤维化程度。



**敬请各位老师同学批评指正!**