

## 急性脑梗死病人血清 miR-23b、miR-34a 水平与颈总动脉内膜中层厚度相关性研究

李雨弥, 唐 勇

(成都市第二人民医院急诊科, 四川 成都 610011)

**摘要:**目的:探究微小RNA-23b(miR-23b)、微小RNA-34a(miR-34a)在急性脑梗死(ACI)病人血清的表达水平与颈总动脉内膜中层厚度(IMT)的相关性研究。方法:选择2016-06~2019-01于本院收治的168例ACI病人进行研究,称ACI组;并收取同期本院172例体检正常者进行对照研究,称对照组。比较分析两组一般资料;采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测两组血清miR-23b、miR-34a、血管细胞粘附分子-1(VCAM-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平;使用彩色多普勒超声仪检测IMT;分析ACI病人血清miR-23b、miR-34a、IMT水平与VCAM-1、TNF- $\alpha$ 的关系及miR-23b、miR-34a水平与IMT水平的相关性;Logistic回归分析ACI的影响因素。结果:ACI组病人血清总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白、miR-23b、miR-34a、IMT、VCAM-1、TNF- $\alpha$ 水平均高于对照组( $P < 0.05$ ),高密度脂蛋白低于对照组( $P < 0.05$ );ACI病人血清miR-23b、miR-34a、IMT水平均与VCAM-1、TNF- $\alpha$ 水平、miR-23b、miR-34a表达水平与IMT均呈正相关( $P < 0.05$ );低密度脂蛋白、miR-23b、miR-34a、IMT、VCAM-1、TNF- $\alpha$ 是影响ACI发生的危险因素( $P < 0.05$ )。结论:ACI病人血清miR-23b、miR-34a高表达,两者均与IMT呈正相关,miR-23b、miR-34a可能与IMT相互作用,共同影响ACI疾病的发展过程。

**关键词:**急性脑梗死;微小RNA-23b;微小RNA-34a;颈总动脉内膜中层厚度;相关性

中图分类号: R540.4+9

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2021)01-0023-05

## THE CORRELATIONS BETWEEN LEVELS OF SERUM miR-23b AND miR-34a AND INTIMA-MEDIA THICKNESS OF COMMON CAROTID ARTERY IN PATIENTS WITH ACUTE CEREBRAL INFARCTION

LI Yu-mi, TANG Yong

(Emergency department of Chengdu Second People's Hospital Chengdu 610011, Sichuan China)

**Abstract: Objective:** To explore the correlations between the levels of serum microRNA-23b (miR-23b), microRNA-34a (miR-34a) and carotid intima-media thickness (IMT) in patients with acute cerebral infarction (ACI). **Methods:** 168 patients with ACI admitted to our hospital from June 2016 to January 2019 were selected as the ACI group; 172 cases of normal physical examination in our hospital during the same period were collected for the comparative study, which was called the control group. The general data of the two groups were compared and analyzed; the levels of serum miR-23b, miR-34a, vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) were measured by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR); IMT was detected by color Doppler ultrasound; the relationships between levels of serum miR-23b, miR-34a, IMT and VCAM-1, TNF- $\alpha$ , and the correlations between levels of miR-23b, miR-34a and IMT in ACI patients were analyzed; Logistic regression was used to analyze the influencing factors of ACI. **Results:** The levels of serum total cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein, miR-23b, miR-34a, IMT, VCAM-1 and TNF- $\alpha$  in ACI group were higher than those in control group (all  $P < 0.05$ ), and high density lipoprotein was lower than that in control group ( $P < 0.05$ ); the levels of serum miR-23b, miR-34a and IMT were positively correlated with levels of VCAM-1, TNF- $\alpha$ , miR-23b and miR-34a in ACI patients (all  $P < 0.05$ ); low density lipoprotein, miR-23b, miR-34a, IMT, VCAM-1 and TNF- $\alpha$  were risk factors for ACI ( $P < 0.05$ ). **Conclusions:** The levels of se-

收稿日期: 2020-09-15; 修回日期: 2020-12-06

作者简介: 李雨弥(1984-),女,成都市第二人民医院急诊科主治医师。

rum miR-23b and miR-34a in patients with ACI are high, both of them are positively correlated with IMT, and miR-23b and miR-34a may interact with IMT and affect the development of ACI.

**Key words:** acute cerebral infarction; microRNA-23b; microRNA-34a; intima-media thickness of common carotid artery; correlation

急性脑梗死 (acute cerebral infarction, ACI) 是脑部供血动脉形成血栓、发生粥样硬化或异物流入颈动脉、脑动脉等引起脑部供血不足, 进而引发脑组织坏死或软化的心血管疾病, 其发病率、致死率极高, 严重威胁病人生命安全<sup>[1]</sup>。ACI 发病除糖尿病、高血压、高血脂等传统因素外, 表达失衡的微小 RNA (microRNA, miRNA) 是影响动脉粥样硬化、炎症反应的重要因素, miRNA 可能在心脑血管疾病的发展进程中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。miR-29b 是 miRNA 其中一员, 其在 ACI 病人血清中表达下调, 与促炎细胞因子水平有关, 其有望成为 ACI 诊治、预后评估的标志物<sup>[3]</sup>。微小 RNA-23b (miRNA-23b, miR-23b) 在脑外伤中表达异常, 其可减轻脑水肿, 抑制神经元凋亡, 缓解长期神经功能缺失, miR-23b 其可能是脑外伤的潜在治疗靶标<sup>[4]</sup>。微小 RNA-34a (miRNA-34a, miR-34a) 可调节血管内皮细胞凋亡, 与脑水肿和动脉硬化、血管性痴呆等疾病有关, 其可能成为缺血性血管损伤类疾病治疗靶标<sup>[5]</sup>。但 miR-23b、miR-34a 在 ACI 病人血清中的水平及与颈总动脉内膜中层厚度 (intima-media thickness, IMT) 的关系尚未有相关报道。基于此, 本研究通过检测 miR-23b、miR-34a 在 ACI 病人血清中的表达水平、分析两者与 IMT 的关系, 以期为早期防治 ACI 提供可靠依据。

## 1 一般资料与方法

### 1.1 一般临床资料

选取 2016-06~2019-01 于本院诊治的 ACI 病人 168 例进行研究 (ACI 组), 其中男 88 例, 女 80 例; 年龄 37~79 岁, 平均年龄 (59.64 ± 5.80) 岁; 身体质量指数 (body mass index, BMI) 为 18.94~26.02 kg/m<sup>2</sup>, 平均 BMI 为 (22.84 ± 2.45) kg/m<sup>2</sup>。并以同时间段内于本院体检正常者 172 例进行对照研究 (对照组), 其中男 91 例, 女 81 例; 年龄 39~78 岁, 平均年龄 (58.95 ± 5.71) 岁; BMI 为 18.09~26.15 kg/m<sup>2</sup>, 平均 BMI 为 (22.63 ± 2.38) kg/m<sup>2</sup>。两组性别、年龄、BMI 等方面比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性。收集两组总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白等生化指标水平。

**诊断标准:** 参照《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014》ACI 相关评判标准<sup>[6]</sup>。纳入标准: (1) 符合 ACI 诊断标准; (2) 所有病人均经 MRI/头颅 CT 影像学检查、确诊; (3) 病人发病入院就诊时间 ≤ 72 h; (4) 所有病人均首次发病; (5) 生理病理检查资料齐全者。

**排除标准:** (1) 合并短暂性脑出血、心肌梗死或其他心脑血管疾病者; (2) 合并心、肝、肾并发症, 严重感染者; (3) 合并恶性肿瘤、手术诱发卒中者; (4) 合并凝血功能障碍、痛风、自身免疫性疾病、精神障碍、恶性肿瘤者; (5) 近期使用抗炎药物、抗血小板凝集、免疫抑制剂者。

所有病人家属签署知情同意书, 且该项研究方法符合相关伦理学要求, 经本院伦理委员会审核批准后施行本项研究。

### 1.2 主要试剂与仪器

TRIzol 试剂 (货号: YDJ2531) 购买于上海羽朵生物科技有限公司, TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit (货号: 4366596) 购买于上海睿铂赛生物科技有限公司, TaqMan<sup>®</sup> Universal PCR Master Mix (货号: AB-4324018) 购买于上海嵘崑达实业有限公司; 人血管细胞粘附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 酶联免疫吸附剂测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (货号: EK0537) 购买于上海和序生物科技有限公司; 人肿瘤坏死因子- $\alpha$  (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒 (货号: EH009) 购买于上海吉泰依科赛生物科技有限公司。

Implen 超微量紫外分光光度计 (型号: NP-80) 购买于无锡莱弗思生物实验器材有限公司, ABI stepone plus 实时荧光定量 PCR (Quantitative Real-time PCR, qRT-PCR) 仪 (型号: 美国 ABI StepOne-Plus) 购买于北京安麦格贸易有限公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 样本采集与预处理** 收集 ACI 病人入院后次日和健康体检者体检当日空腹肘静脉血约 5mL, 静置 35min, 3500r/min 离心 13min, 分离得上层血清, 分装并密封保存于 20℃ 冰箱中, 用于 miR-23b、miR-34a、VCAM-1、TNF- $\alpha$  水平检测。

**1.3.2 qRT-PCR 法检测血清中 miR-23b、miR-34a 表达水平** 从冰箱中取出冻存血清样本, 无菌环境下

冰上解冻,加适量 TRIzol 裂解液,提取血清总 RNA,具体操作流程参考 TRIzol 试剂说明书。采用紫外分光光度计检测抽提 RNA 完整性、纯度及浓度。依照 TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit 说明

书操作,得 cDNA。按照 TaqMan® Universal PCR Master Mix 操作步骤将 cDNA 扩增,并进行 PCR 检测。miR-23b、miR-34a 均以 U6 为内参,采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 miR-23b、miR-34a 相对表达量(见表1)。

表1 miR-23b、miR-34a及内参U6的引物序列

名称	正向引物5'--3'	反向引物5'--3'
miR-23b	CTCCCAGCATCTTCGATCC	GAGGTCATCGCTGGGCATAA
miR-34a	TCTGTCTCTCTTGGCAGTGTCTT	AATGGTTGTTCTCCACTCTCTC
U6	GAGTACATCTTCAAGCCATCCTG	TGCTCTATCTTTCTTTGGTCTGC

**1.3.3 两组颈动脉IMT检测** 采用彩色多普勒超声仪扫描双侧颈总、颈外及颈内动脉,测量IMT,所用探头频率为7.5MHz。

**1.3.4 ELISA法检测血清VCAM-1、TNF-α水平** 检测两组受试者血清VCAM-1、TNF-α水平,检测步骤严格参照相应试剂盒说明书。

**1.4 统计学方法**

采用 SPSS 22.0 统计学软件分析所得实验数据。符合正态分布的计量数据以均数 ± 标准差描述,比较两组间实验数据,进行双边 t 检验;计数数据以“例”表示,行  $\chi^2$  检验;采用 Pearson 法分析 ACI 病人血清 miR-23b、miR-34a、IMT 水平与 VCAM-1、TNF-α 相关性,miR-23b、miR-34a 与 IMT 水平的关系;采用 Logistic 回归分析 ACI 发生的影响因素。当  $P < 0.05$  时,表示数据间比较差异具有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 两组一般资料比较**

与对照组相比,ACI 组病人总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白水平升高( $P < 0.05$ ),高密度脂蛋白降低( $P < 0.05$ )(见表2)。

表2 两组一般资料比较( $\bar{x} \pm s, n$ )

临床指标	对照组 (n=172)	ACI组 (n=168)	t/ $\chi^2$	P
年龄(岁)	58.95 ± 5.71	59.64 ± 5.80	1.105	0.270
男/女(例)	91/81	88/80	0.061	0.805
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	22.63 ± 2.38	22.84 ± 2.45	0.802	0.423
总胆固醇 (mmol/L)	4.54 ± 1.05	5.28 ± 1.24	5.943	0.000
三酰甘油 (mmol/L)	1.26 ± 0.36	1.70 ± 0.47	9.705	0.000
低密度脂蛋白 (mmol/L)	2.32 ± 0.71	3.19 ± 1.03	9.086	0.000
高密度脂蛋白 (mmol/L)	1.29 ± 0.37	0.94 ± 0.29	9.693	0.000

**2.2 两组血清miR-23b、miR-34a表达水平及IMT水平比较**

与对照组相比,ACI 组病人血清 miR-23b、miR-34a 表达水平较高( $P < 0.05$ ),IMT 增厚( $P < 0.05$ )(见表3)。

**2.3 两组血清VCAM-1、TNF-α水平比较**

与对照组相比,ACI 组病人血清 VCAM-1、TNF-α 水平较高( $P < 0.05$ )(见表4)。

表3 两组血清miR-23b、miR-34a表达水平及IMT水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	miR-23b	miR-34a	IMT(mm)
对照组	172	1.03 ± 0.30	1.07 ± 0.31	0.79 ± 0.14
ACI组	168	1.58 ± 0.43	1.49 ± 0.39	1.36 ± 0.32
t		13.704	11.006	21.362
P		0.000	0.000	0.000

表4 两组血清VCAM-1、TNF-α水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	VCAM-1(μg/L)	TNF-α(ng/mL)
对照组	172	235.02 ± 54.28	18.46 ± 4.31
ACI组	168	401.64 ± 79.57	49.78 ± 9.25
t		13.954	40.167
P		0.000	0.000

**2.4 ACI病人血清miR-23b、miR-34a、IMT水平与VCAM-1、TNF-α相关性分析**

Pearson 法分析显示,ACI 病人血清 miR-23b 与 VCAM-1、TNF-α 水平均呈正相关( $r=0.345、0.459, P$  均  $< 0.05$ );ACI 病人血清 miR-34a 与 VCAM-1、TNF-α 水平均呈正相关( $r=0.437、0.456, P$  均  $< 0.05$ );ACI 病人 IMT 水平与 VCAM-1、TNF-α 均呈正相关( $r=0.539、0.308, P$  均  $< 0.05$ )(见表5)。

**2.5 ACI病人血清miR-23b、miR-34a水平与IMT水平的关系**

Pearson 法相关性分析显示,ACI 病人血清 miR-23b、miR-34a 表达水平与 IMT 均呈正相关( $r=0.412、0.443, P$  均  $< 0.05$ )(见图1、2)。

表5 ACI病人血清miR-23b、miR-34a、IMT水平与VCAM-1、TNF-α的关系

指标	VCAM-1		TNF-α	
	r	P	r	P
miR-23b	0.345	0.000	0.459	0.000
miR-34a	0.437	0.000	0.546	0.000
IMT	0.539	0.000	0.308	0.006

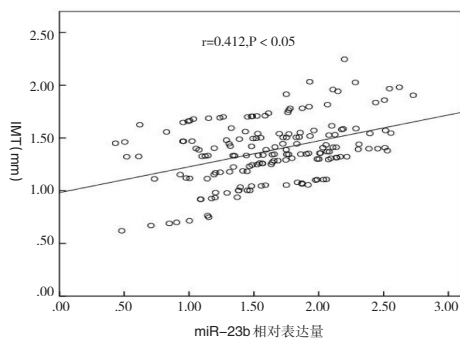


图1 ACI病人血清miR-23b表达水平与IMT的相关性

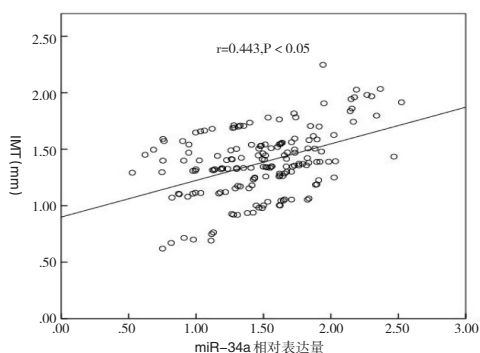


图2 ACI病人血清miR-34a表达水平与IMT的相关性

### 2.6 影响ACI的Logistic回归分析

以总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、miR-23b、miR-34a、IMT、VCAM-1、TNF-α为自变量,以是否发生ACI为因变量,行Logistic回归分析,分析结果显示低密度脂蛋白、miR-23b、miR-34a、IMT、VCAM-1、TNF-α是影响ACI发生的危险因素( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

ACI是临床常见的脑部供血不足引发脑组织缺血、缺氧,从而出现脑组织神经功能缺失、坏死症状的脑功能障碍疾病,其发病急,可引起脑水肿,具有高危性,对病人生命安全构成直接威胁<sup>[7]</sup>。因此,必须寻找可早期评估、诊治ACI的有效指标,改善大脑

供血状况,有效提高病人生存率和生活能力。

miRNA广泛分布于人体各组织、器官和外周血中,在个体生长代谢、信号传导、炎症反应等生理病理过程发挥一定调节作用<sup>[8]</sup>。miRNA参与脑水肿、脑外伤、动脉粥样硬化、心肌梗死、脑梗死等心脑血管类疾病的病理过程<sup>[9]</sup>。miR-181a-5p在冠心病中表达异常,在血管炎症和动脉粥样硬化形成中起重要作用,可延缓动脉粥样硬化的进程,有望成为治疗动脉粥样硬化的新策略<sup>[10]</sup>。miR-499在急性心肌梗死病人血浆中表达上调,其可作为治疗急性心肌梗死的潜在靶标<sup>[11]</sup>。miR-124在ACI病人血清中呈异常表达,动态监控miR-124水平有助于防治缺血性中风<sup>[12]</sup>。以上研究证实,miRNA表达失调与缺血性血管疾病的发病进展有关。miR-23b在心肌梗死病人血清中呈高表达,可促进心肌细胞凋亡,有望作为心肌梗死诊断的有效生物标志物<sup>[13]</sup>。miR-23b-3p是miR-23b其中一员,其在缺血性卒中病人血清中表达上调,可作为缺血性卒中预测、评估标志物<sup>[14]</sup>。本研究中miR-23b在ACI组病人血清中表达明显高于对照组,提示miR-23b可能在ACI发生发展中起到重要作用。miR-34a具有生物学调节作用,其在心肌梗死中上调,与心肌梗死后的重塑及缺血后心肌纤维化相关,有可能成为治疗心肌梗死的靶标<sup>[15]</sup>。miR-34a-5p是miR-34a家族成员,在急性缺血性卒中病人中呈过表达,具有潜在调节作用,可作为卒中治疗靶点和预后评估指标。本研究中miR-34a在ACI组病人血清中的表达水平明显高于对照组,提示miR-34a可能参与并影响ACI疾病的发生发展过程。颈动脉IMT水平升高是动脉粥样硬化内膜损伤评估的重要标志,其在ACI病人中具有较高水平,与炎症因子TNF-α呈正相关, TNF-α可作为ACI病人脑动脉狭窄的标记物和危险因素,且动态监控炎症因子及IMT水平,有利于评估病情程度和预后。本研究显示ACI组病人IMT水平明显高于对照组,提示颈动脉IMT可能在ACI发病过程中发挥一定作用。

研究显示,VCAM-1、TNF-α在ACI病人中呈高水平,经醒神通腑方联合胞二磷胆碱注射液治疗后,两者水平显著降低,两者参与的炎症反应可进一步促进脑梗死的发生与发展。本研究中ACI组病人血清VCAM-1、TNF-α水平明显高于对照组,提示VCAM-1、TNF-α可能在ACI疾病发展进程中起到一定作用。本研究显示,ACI病人血清miR-23b、miR-34a、IMT与VCAM-1、TNF-α(下转第51页)



- [13]Das S, Mitchell P, Ross N, et al. Decompressive Hemispherectomy in the Treatment of Malignant Middle Cerebral Artery Infarction: A Meta-Analysis[J]. *World Neurosurg*, 2019;123(20):8-16
- [14]Kilic M, Ertem DH, Ozdemir B. Timing of Decompressive Craniectomy for Malignant Middle Cerebral Artery Infarction: A Single-Center Analysis[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2019; 55(2):882-888
- [15]Javanshiri K, Waldo mL, Friberg N, et al. Atherosclerosis, Hypertension, and Diabetes in Alzheimer's Disease, Vascular dementia, and Mixed Dementia: Prevalence and Presentation[J]. *J Alzheimers Dis*, 2018;66(4):1753-1759

(上接第26页)

水平均呈正相关,提示 miR-23b、miR-34a、IMT 可能均与 VCAM-1、TNF- $\alpha$  相互作用共同影响 ACI 发生与发展。进一步分析发现,ACI 病人血清 miR-23b、miR-34a 表达水平与 IMT 均呈正相关,提示 miR-23b、miR-34a 可能与 IMT 相互影响,进而在 ACI 疾病发展中发挥重要作用。更进一步研究显示,低密度脂蛋白、miR-23b、miR-34a、IMT、VCAM-1、TNF- $\alpha$  是影响 ACI 发生的危险因素,提示低密度脂蛋白、miR-23b、miR-34a、IMT、VCAM-1、TNF- $\alpha$  水平升高,均可能增加 ACI 发病风险,及时动态监测低密度脂蛋白、miR-23b、miR-34a、IMT、VCAM-1、TNF- $\alpha$  水平,有助于及早防治 ACI。

综上所述,ACI 病人血清 miR-23b、miR-34a 均表达上调,两者均与颈动脉 IMT 关系密切,两者可能与颈动脉 IMT 相互影响,共同参与 ACI 发病进程。但本研究仍存在一些不足之处,即研究样本量较少,可能引起结果发生一定偏差,后续研究将进一步扩大样本量,进行更深入研究。

## 参考文献

- [1]He X, D-R Li, Cui C, et al. Clinical significance of serum MCP-1 and VE-cadherin levels in patients with acute cerebral infarction[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017;21(4):804-808
- [2]Nouraei N, Mowla S J. miRNA therapeutics in cardiovascular diseases: promises and problems[J]. *Front Genet*, 2015; 6(6): 232-241
- [3]Zhang Y Z, Wang J, Xu F. Circulating miR-29b and miR-424 as Prognostic Markers in Patients with Acute Cerebral Infarction[J]. *Clin Lab*, 2017;63(10):1667-1674
- [4]Sun L, Liu A, Zhang J, et al. miR-23b improves cognitive impairments in traumatic brain injury by targeting ATG12-mediated neuronal autophagy[J]. *Behav Brain Res*, 2018; 34(3):126-136
- [5]Liao L X, Zhao M B, Dong X, et al. TDB protects vascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation/reperfusion-induced injury by targeting miR-34a to increase Bcl-2 expression[J]. *Sci Rep*, 2016;6(11):959-968
- [6]中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南2014[J].*中华神经科杂志*, 2015;48(4):246-257
- [7]Naess H, Kurtz M, Thomassen L, et al. Serial NIHSS scores in patients with acute cerebral infarction[J]. *Acta Neurol Scand*, 2016; 133(6):415-420
- [8]Panganiban R P, Wang Y, Howrylak J, et al. Circulating microRNAs as biomarkers in patients with allergic rhinitis and asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016; 137(5):1423-1432
- [9]Buie J N J, Goodwin A J, Cook J A, et al. The role of miRNAs in cardiovascular disease risk factors[J]. *Atherosclerosis*, 2016; 254(11):271-281
- [10]Su Y, Yuan J, Zhang F, et al. MicroRNA-181a-5p and microRNA-181a-3p cooperatively restrict vascular inflammation and atherosclerosis[J]. *Cell Death Dis*, 2019; 10(5):365-373
- [11]Zhou R, Huang W, Fan X, et al. miR-499 released during myocardial infarction causes endothelial injury by targeting  $\alpha 7$ -nAChR[J]. *J Cell Mol Med*, 2019;23(9):6085-6097
- [12]Sun M, Hou X, Ren G, et al. Dynamic changes in miR-124 levels in patients with acute cerebral infarction[J]. *Int J Neurosci*, 2019; 129(7):649-653
- [13]Zhang J, Li Y, Zhao Q. Circulating miR-23b as a Novel Biomarker for Early Risk Stratification After ST-Elevation Myocardial Infarction[J]. *Med Sci Monit*, 2018;24(3):1517-1523
- [14]Wu J, Fan C L, Ma L J, et al. Distinctive expression signatures of serum microRNAs in ischaemic stroke and transient ischaemic attack patients[J]. *Thromb Haemost*, 2017; 117(5):992-1001
- [15]Huang Y, Qi Y, Du J Q, et al. MicroRNA-34a regulates cardiac fibrosis after myocardial infarction by targeting Smad4[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2014;18(12):1-11