

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.22.016

miR-128-3p 靶向 TGF- β_2 /JNK 信号通路调控冠心病 内皮细胞膜微粒及炎症因子的机制研究*

牛媛媛¹, 付建平², 张宏博²

河北省衡水市人民医院:1. 急诊科;2. 心内科, 河北衡水 053000

摘要:目的 探讨 miR-128-3p 靶向转化生长因子 β_2 /c-Jun 氨基末端激酶(TGF- β_2 /JNK)信号通路调控冠心病(CHD)内皮细胞膜微粒(EMPs)及炎症因子的机制。方法 将 60 只大鼠随机分为正常组、模型组、miR-128-3p agomir 组、NC agomir 组、miR-128-3p inhibitor 组、NC inhibitor 组,每组 10 只,除正常组外,其余各组均建立 CHD 大鼠模型,miR-128-3p agomir 组、NC agomir 组、miR-128-3p inhibitor 组、NC inhibitor 组大鼠分别尾静脉注射 miR-128-3p 激动剂、NC agomir、miR-128-3p 抑制剂、NC inhibitor,模型组和正常组大鼠尾静脉注射相同剂量的生理盐水。采用 ELISA 检测各组大鼠血清 EMPs、一氧化氮(NO)、白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-1 受体拮抗剂(IL-1Ra)水平;采用 HE 染色观察各组大鼠心肌组织病理形态变化;采用蛋白质免疫印迹法检测各组大鼠心肌组织 TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平。结果 正常组大鼠各项检测指标均明显优于其他组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组心肌组织血清 EMPs、NO、IL-6、TNF- α 、TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);与模型组比较,miR-128-3p agomir 组大鼠血清 EMPs、IL-6、TNF- α 水平下降最明显,而 NO、IL-1Ra 水平升高最明显,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,miR-128-3p agomir 组大鼠心肌组织病理形态改善明显,心肌组织 TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平降低最明显,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 上调 miR-128-3p 能通过抑制 TGF- β_2 /JNK 信号通路相关蛋白(TGF- β_2 、JNK、p-JNK)水平,降低 CHD 大鼠 EMPs 及炎症因子水平,在 CHD 的发生和发展过程中可能具有保护作用。

关键词:miR-128-3p; 转化生长因子 β_2 /c-Jun 氨基末端激酶; 冠心病; 内皮细胞膜微粒; 炎症因子
中图分类号:R541.4;R446.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2024)22-3342-06

Mechanism of miR-128-3p targeting TGF- β_2 /JNK signaling pathway in regulating endothelial cell membrane microparticles and inflammatory factors in coronary heart disease*

NIU Yuanyuan¹, FU Jianping², ZHANG Hongbo²

1. Department of Emergency; 2. Department of Cardiology, Hengshui People's Hospital, Hengshui, Hebei 053000, China

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism of miR-128-3p targeting transforming growth factor- β_2 /c-Jun N-terminal kinase (TGF- β_2 /JNK) signaling pathway in regulating endothelial cell membrane microparticles (EMPs) and inflammatory factors in coronary heart disease (CHD). **Methods** Sixty rats were randomly divided into normal group, model group, miR-128-3p agomir group, NC agomir group, miR-128-3p inhibitor group and NC inhibitor group, with 10 rats in each group. CHD rat models were established in all groups except the normal group. miR-128-3p agomir group, NC agomir group, miR-128-3p inhibitor group and NC inhibitor group were injected with miR-128-3p agonist, NC agomir inhibitor, miR-128-3p inhibitor and NC inhibitor respectively, the model group and the normal group were injected with the same dose of normal saline through the tail vein. ELISA was used to detect the serum levels of EMPs, nitric oxide (NO), interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), and IL-1 receptor antagonist (IL-1ra). HE staining was used to observe the pathological changes of myocardial tissue. The protein levels of TGF- β_2 , JNK, and p-JNK in myocardial tissue were detected by Western blotting. **Results** The normal group was significantly better than the other groups ($P < 0.05$). There was NO significant difference in serum EMPs, NO, IL-6, TNF- α , TGF- β_2 , JNK, and p-JNK protein levels in myocardial tissue among the model group, NC inhibitor group, and NC agomir group ($P > 0.05$). Compared with the model group, the serum levels of EMPs, IL-6 and TNF- α in the

* 基金项目:河北省卫生健康委员会医学科学研究课题计划(20232173);河北省衡水市科技计划自筹经费项目(2021014084Z)。

作者简介:牛媛媛,女,主治医师,主要从事冠心病方面的研究。

miR-128-3p agomir group were decreased most significantly, while the levels of NO and IL-1Ra were increased most significantly ($P < 0.05$). Compared with the model group, the pathological morphology of myocardial tissue in the miR-128-3p agomir group was significantly improved, and the levels of TGF- β_2 , JNK, and p-JNK protein in myocardial tissue were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Up-regulation of miR-323-3p can reduce the levels of EMPs and inflammatory factors in rats with CHD by inhibiting the levels of TGF- β_2 /JNK signaling pathway related proteins (TGF- β_2 , JNK, p-JNK), which may play a protective role in the occurrence and development of CHD.

Key words: miR-128-3p; transforming growth factor β_2 /c-Jun N-terminal kinase; coronary heart disease; endothelial cell membrane microparticle; inflammatory factor

冠心病(CHD)是指冠状动脉发生动脉粥样硬化,在血管壁内形成斑块,引起血管狭窄或阻塞的心血管疾病,引发心律失常、心功能不全及心肌缺血和坏死等,严重危害患者健康^[1]。内皮细胞膜微粒(EMPs)是由内皮细胞在各种刺激下释放出的囊泡,可真实反映内皮细胞的功能和状态,并参与凝血过程,通过促进血小板的聚集导致血栓形成。有研究证实,EMPs在临床上被作为内皮细胞损伤和功能障碍的特异性标志物,其水平与血管内皮的损伤程度密切相关^[2]。内皮细胞功能受损时可释放白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症因子,加重内皮细胞的损伤和炎症反应,激活血小板和白细胞的黏附和聚集,进一步促进动脉粥样硬化进展。有研究表明,炎症因子活化、炎症反应均为造成动脉粥样硬化斑块不稳定的相关原因^[3]。转化生长因子 β_2 (TGF- β_2)是隶属于TGF- β 超家族的典型致纤维化因子,可调节细胞生长及分化,其高表达可持续激活体内 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)活性,加速 JNK 磷酸化,不断扩大信号级联反应,促进心肌损伤。关于 TGF- β_2 /JNK 信号通路的报道很少,相关研究表明,抑制 TGF- β_2 /JNK 信号通路可减少过氧化氢介导的心肌细胞凋亡^[4]。IL-1 受体拮抗剂(IL-1Ra)是一种重要的炎症调节因子,可以与 IL-1 结合并阻断其对受体的信号传导^[5]。目前临床对于 CHD 的治疗效果总体欠佳,因此,探寻新的治疗靶点是改善治疗效果的关键。微小 RNA(miR)是一类小分子非编码单链 RNA,通过与靶基因互补配对影响翻译水平,在转录后水平对生物体基因的表达起精细的调节作用,通过寻求相关 miR 可能为 CHD 的诊疗提供依据。本研究旨在探讨 miR-128-3p 对 CHD 的影响,以及 miR-128-3p 靶向 TGF- β_2 /JNK 信号通路调控 CHD 的 EMPs 及炎症因子的机制,以期对 CHD 的诊疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物 60 只 SPF 级 SD 雄性大鼠,鼠龄 4~6 周,平均体质量(220 ± 20)g,由北京协和医学院实验动物学部提供,许可证号:SCXK(京)2022-15,大鼠由本院实验动物中心饲养,温度(24 ± 2)℃,湿度 50%~80%,12 h 昼夜交替,正常饮食及饮水。本次动物实验在本医药大学动物实验室完成,按照《实验

动物管理条例》规定进行实验(许可号:20220109002)。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 试剂 丙硫氧嘧啶(武汉市合中生化制造有限公司,货号:51-52-5);牛磺胆酸钠(湖北魏氏化学试剂股份有限公司,货号:145-42-6);盐酸异丙肾上腺素(济南元泰化工有限公司,货号:51-30-9);戊巴比妥钠(Biocam 公司,批号:57330);miR-128-3p 激动剂、NC agomir、miR-128-3p 抑制剂,以及其 NC inhibitor 均由广州锐博生物科技有限公司提供;苏木素-伊红染色液(湖南金盛徠生物科学有限公司,批号:湘长械备 20190472 号);DAB 试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号:DA1010);磷酸盐缓冲液(PBS,上海源叶生物科技有限公司,货号:S16049-1L);Trizol RNA 抽提试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司,货号:B511321];JNK/磷酸化 JNK 一抗(北京百奥莱博科技有限公司,货号:YT814-PTX);TGF- β_2 一抗(北京同立海源生物科技有限公司,货号:GMP-TL645);二抗 IgG(武汉亚科因生物技术有限公司,货号:A21020-1);GAPDH(北京普利莱基因技术有限公司,货号:C1319-100)。

1.2.2 仪器 垂直电泳槽、电泳仪(中国北京六一仪器厂,型号:DYCZ-24DN、DYCZ-40);离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司,型号:TDZ4-WS);基因扩增仪(山东恒美电子科技有限公司,型号:HM-T96);酶标分析仪(Rayto 公司,型号:RT-6100);免疫分析仪(深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司,型号:UNION-A)。

1.3 动物分组及模型建立^[6] 对参与实验的大鼠常规饲养,设立正常组 10 只,以常规饲料喂养 6 周;其余大鼠均建立 CHD 大鼠模型,以 0.2%丙硫氧嘧啶、0.5%牛磺胆酸钠、2.0%胆固醇、10.0%猪油、87.3%基础饲料制成高脂肪饲料喂养,高脂肪饮食 6 周后,再以 5 mg/kg 的盐酸异丙肾上腺素对大鼠进行腹腔注射 3 d,1 次/d,结束后用 2.0%的 40 mg/kg 剂量戊巴比妥钠对大鼠进行腹腔注射麻醉,通过心电图观察大鼠 ST 段抬高 ≥ 0.1 mV,提示 CHD 大鼠建模成功。本次实验所有大鼠均制模成功,无死亡数据脱落。将剩下的 50 只大鼠随机分为模型组、miR-128-3p 激动剂组(miR-128-3p agomir 组)、miR-128-3p 激动剂阴

性对照组 (NC agomir 组)、miR-128-3p 抑制剂组 (miR-128-3p inhibitor 组)、miR-128-3p 抑制剂阴性对照组 (NC inhibitor 组), 每组 10 只。

1.4 方法 miR-128-3p agomir 组、NC agomir 组、miR-128-3p inhibitor 组、NC inhibitor 组大鼠分别尾静脉注射 miR-128-3p 激动剂、NC agomir、miR-128-3p 抑制剂、NC inhibitor 300 μg , 模型组和正常组大鼠尾静脉注射 2 mL 生理盐水, 各组大鼠给药 2 次/周, 共用 2 周^[7]。各组大鼠在末次给药 2 h 后用采血针对准大鼠腹主动脉使血液直接进入肝素钠采血管内, 静置 30 min 后, 以 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清液备用。再颈部脱臼处死大鼠, 解剖大鼠并取出心肌组织, 用 PBS 清洗后置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.5 各组大鼠血清 EMPs、一氧化氮 (NO)、IL-6、TNF- α 、IL-1Ra 水平检测 取 30 μg 血清标本匀浆, 离心 15 min, 取上清液, 设置标准品孔、空白孔和反应孔, 按照每孔 50 μL 分别加入不同浓度梯度的标准品、稀释样品和蛋白裂解物, 加酶, 密封板膜密封, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育 1 h, 弃去孔内液体甩干, 洗涤 5 次。加显色底物, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中避光孵育 15 min, 向各孔中加入终止液, 15 min 内采用多功能酶标仪检测 450 nm 波长处吸光度值, 采用 ELISA 试剂盒检测各组大鼠血清 EMPs、NO、IL-6、TNF- α 、IL-1Ra 水平。

1.6 各组大鼠心肌组织病理形态变化 取心肌组织用甲醛溶液浸泡固定, 48 h 后流水冲洗, 石蜡包埋切片机切薄片 (厚度 3 μm), 高浓度乙醇脱水, 通过二甲苯使切片透明, 用苏木精-伊红进行 HE 染色, 于 200 倍光学显微镜下观察各组大鼠心肌组织形态变化。

1.7 各组大鼠心肌组织 TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平检测 将各组心肌组织标本剪切为细小碎片, 加入裂解液, 以 12 000 r/min 离心 10 min, 留取上清液, 收集蛋白, 采用 Bradford 法检测 TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平。每 100 μL 的蛋白混合等体积 5 $\times$ 上样磷酸盐缓冲液, 50 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴箱加热 5 min, 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转印缓冲液配制好后放入 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内预冷, 然后全部转移到聚偏氟乙烯

膜上, 再加入脱脂奶粉, 全程封闭 1 h, 封闭将膜放入有一抗 TGF- β_2 (1 : 200)、JNK (1 : 200)、p-JNK (1 : 200) 稀释液孵育盆中, 温度选择 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 加入过氧化物酶抗兔 IgG 二抗 (1 : 2 500), 2 h 封闭完成后加入洗涤液进行洗涤, 每次 10 min, 重复 3 次。用 DAB 显色试剂盒在 X 胶片感光、显影、定影完成后在暗室中完成显色。内参以 GAPDH 蛋白为标准, 采用 IPP6.0 软件检测蛋白电泳带灰度值与 GAPDH 条带灰度值比值, 比较对比值。

1.8 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计软件进行数据分析处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 多组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠血清 EMPs、NO 水平比较 与正常组比较, 各组大鼠血清 EMPs 水平均升高, 而 NO 水平均降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组血清 EMPs、NO 水平比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 与模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组比较, miR-128-3p agomir 组大鼠血清 EMPs 水平均降低, 而 NO 水平均升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 miR-128-3p agomir 组比较, miR-128-3p inhibitor 组大鼠血清 EMPs 水平升高, 而 NO 水平降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 各组大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平比较 与正常组比较, 各组大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平均升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组血清 IL-6、TNF- α 水平比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 与模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组比较, miR-128-3p agomir 组大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平均降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 miR-128-3p agomir 组比较, miR-128-3p inhibitor 组大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平均升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 各组血清 EMPs、NO 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	EMPs (pg/L)	NO ($\mu\text{mol/L}$)
正常组	10	129.95 $\pm$ 2.21	20.12 $\pm$ 0.56
模型组	10	264.08 $\pm$ 13.34 *	11.98 $\pm$ 0.34 *
NC inhibitor 组	10	263.99 $\pm$ 14.15 *	12.06 $\pm$ 0.12 *
NC agomir 组	10	264.17 $\pm$ 13.29 *	11.41 $\pm$ 0.75 *
miR-128-3p agomir 组	10	136.45 $\pm$ 5.63 * #	18.08 $\pm$ 0.86 * #
miR-128-3p inhibitor 组	10	291.28 $\pm$ 14.47 * # Δ	9.32 $\pm$ 0.61 * # Δ
<i>F</i>		387.400	512.100
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组比较, # $P < 0.05$; 与 miR-128-3p agomir 组比较, Δ $P < 0.05$ 。

表 2 各组大鼠血清 IL-6、TNF-α 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)

组别	<i>n</i>	IL-6	TNF-α
正常组	10	1.52±0.78	8.12±1.34
模型组	10	18.89±2.23 [*]	19.36±5.47 [*]
NC inhibitor 组	10	19.01±2.12 [*]	19.42±5.61 [*]
NC agomir 组	10	19.12±2.35 [*]	19.45±5.76 [*]
miR-128-3p agomir 组	10	5.24±0.45 ^{*#}	11.78±1.25 ^{*#}
miR-128-3p inhibitor 组	10	26.31±3.42 ^{*#△}	28.23±5.59 ^{*#△}
<i>F</i>		197.700	22.900
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与正常组比较,^{*}*P*<0.05;与模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组比较,[#]*P*<0.05;与 miR-128-3p agomir 组比较,[△]*P*<0.05。

2.3 各组大鼠血清 IL-1Ra 水平比较 正常组、模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组、miR-128-3p agomir 组、miR-128-3p inhibitor 组 IL-1Ra 水平分别为:(45.23±5.49)、(20.07±3.18)、(20.12±3.21)、(33.48±3.59)、(39.37±4.64)、(15.01±3.12) pg/mL,各组 IL-1Ra 水平比较,差异均有统计学意义(*F*=94.430,*P*<0.001)。与正常组比较,各组大鼠血清 IL-1Ra 水平均降低,差异均有统计学意义(*P*<0.05);NC agomir 组血清 IL-1Ra 水平高于模型组和 NC inhibitor 组,差异均有统计学意义(*P*<0.05),与模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组比较,miR-

128-3p agomir 组大鼠血清 IL-1Ra 水平升高,差异有统计学意义(*P*<0.05);与 miR-128-3p agomir 组比较,miR-128-3p inhibitor 组大鼠血清 IL-1Ra 水平降低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。

2.4 各组大鼠心肌组织病理学形态比较 正常组大鼠心肌细胞排列整齐,细胞结构完整;模型组、NC inhibitor 组大鼠心肌细胞肿胀、排列紊乱,心肌纤维断裂;而 NC agomir 组、miR-128-3p agomir 组大鼠心肌组织病理改变减轻,其中 miR-128-3p agomir 组减轻最明显,miR-128-3p inhibitor 组大鼠心肌组织病理损伤明显加重。见图 1。

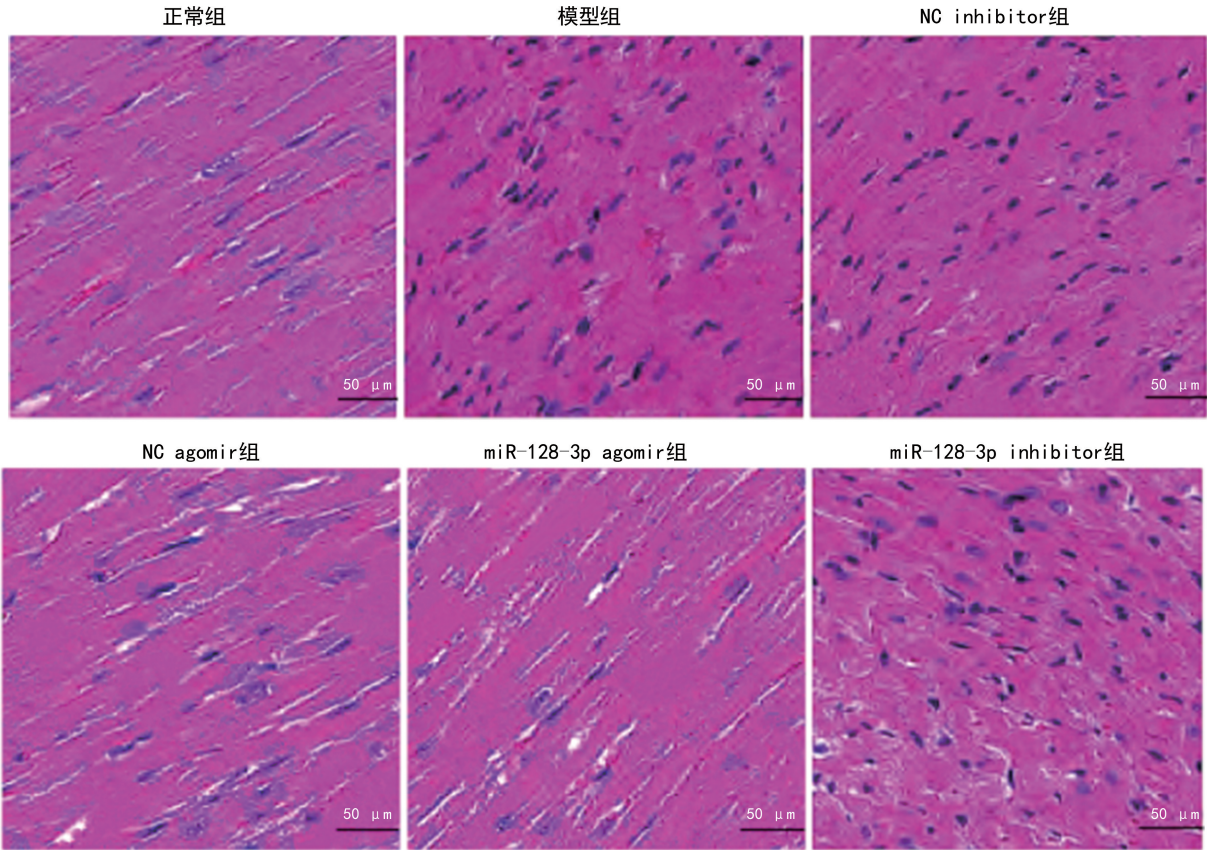


图 1 各组大鼠心肌组织病理学形态(200×)

2.5 各组大鼠心肌组织 TGF-β₂、JNK、p-JNK 蛋白水平比较 与正常组比较,各组大鼠心肌组织 TGF-

β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平均升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组心肌组织 TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);与模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组比较,miR-128-3p agomir 组大

鼠心肌组织 TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);与 miR-128-3p agomir 组比较,miR-128-3p inhibitor 组大鼠心肌组织 TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平均升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3、图 2。

表 3 各组心肌组织 TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TGF- β_2 蛋白	JNK 蛋白	p-JNK 蛋白
正常组	10	0.21±0.06	0.18±0.02	0.15±0.04
模型组	10	3.29±0.47 [*]	2.99±0.15 [*]	2.83±0.27 [*]
NC inhibitor 组	10	3.21±0.61 [*]	2.95±0.21 [*]	2.81±0.32 [*]
NC agomir 组	10	3.33±0.55 [*]	3.02±0.14 [*]	2.79±0.45 [*]
miR-128-3p agomir 组	10	0.42±0.08 ^{*#}	0.35±0.09 ^{*#}	0.27±0.07 ^{*#}
miR-128-3p inhibitor 组	10	4.36±0.78 ^{*#△}	3.67±0.92 ^{*#△}	3.72±0.28 ^{*#△}
<i>F</i>		117.600	146.900	292.800
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组、NC inhibitor 组、NC agomir 组比较,[#] $P<0.05$;与 miR-128-3p agomir 组比较,[△] $P<0.05$ 。

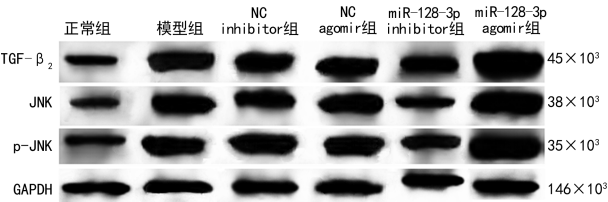


图 2 各组大鼠心肌组织 TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白表达情况

3 讨 论

近年来,发展中国家 CHD 发病率呈逐年上升趋势,甚至超过传染性疾病,成为主要的致死和致病因素,对患者机体造成严重伤害,加重患者经济负担,故寻找更加安全有效的靶向治疗十分必要^[8]。相关实验证据表明,miR 可调控细胞发育、分化、增殖和凋亡^[9]。本文通过收集不同实验分组发现过表达的 miR-128-3p 对 CHD 大鼠的 EMPs、炎症因子及 TGF- β_2 /JNK 信号通路均有不同影响。

EMPs 主要由内皮细胞分泌,在高血压、糖尿病、CHD 等疾病中呈较高水平,可作为监测内皮细胞功能的标志物,内皮细胞功能异常会导致血管功能紊乱、炎症反应过度激活和血液易于凝结,进而促进 CHD 发展。有研究证实,CHD 患者外周血中 EMPs 水平明显升高,能反映内皮细胞功能及其障碍程度^[10]。NO 能够促使血管平滑肌松弛,增加血管内径和血流量,改善冠状动脉供血,可降低冠状动脉阻力,减轻心肌缺血症状。有研究发现,EMPs 能够抑制 NO 合酶磷酸化,使 NO 生成减少^[11]。IL-6、TNF- α 是参与动脉粥样斑块炎症反应的促炎性细胞因子,能够增加血管内皮细胞通透性,加重动脉粥样硬化症状。本研究结果显示,与模型组比较,miR-128-3p agomir 组大鼠血清 EMPs、IL-6、TNF- α 水平均明显降低,NO 水平升高,由此表明 miR-128-3p 对内皮细胞

EMPs 及炎症因子活性可发挥抑制作用,减轻 CHD 大鼠炎症反应,改善血管内皮细胞功能。IL-1Ra 是一种重要的内源性抗炎性细胞因子,其抗炎反应机制是通过与 IL-1 竞争结合 IL-1 受体特异性地抑制炎症反应。本研究发现,miR-128-3p agomir 组大鼠血清 IL-1Ra 水平明显升高,提示 miR-128-3p 可能通过提高血清 IL-1Ra 水平降低 CHD 发生风险,与文献^[12-13]研究结果一致,患者血清 IL-1Ra 水平明显升高,发生冠状动脉再狭窄的风险较低。miR 是小的非编码 RNA 分子,可以调节目标信使 RNA 的翻译效率,在 CHD 中存在 miR 异常表达现象,miR-128-3p 作为在 CHD 中差异表达的 miR 之一,其过表达可明显抑制脂多糖诱导的炎症反应,延缓心肌组织纤维化等进程。郑力辉等^[14]研究表明,EMPs 可作为监测和评估 CHD 患者内皮细胞损伤程度的指标,可能通过增强炎症反应性血管损伤而在 CHD 发生和发展过程中发挥重要作用。有研究发现,在心肌梗死小鼠中 miR-128-3p 水平呈低表达,上调其水平可使小鼠心肌细胞免于凋亡^[15]。邢佳依等^[16]研究认为,下调 miR-128-3p 水平可促进炎症反应进展,心房颤动大鼠血清 IL-18、IL-6、TGF- β_1 水平均升高,加重大鼠心肌纤维化。

本研究结果显示,与模型组比较,miR-128-3p agomir 组大鼠心肌组织 TGF- β_2 、JNK、p-JNK 蛋白水平均明显下降,心肌组织病理学形态改善,说明上调 miR-128-3p 水平可能通过调控 TGF- β_2 /JNK 信号通路发挥改善 CHD 的作用。TGF- β 超家族中的 TGF- β_1 、TGF- β_2 、TGF- β_3 能靶向多个器官,影响机体炎症反应、组织修复及重塑等。有研究证实,TGF β_2 的翻译和表达过程在编码 TGF β_2 的相关等位基因频率增高时可能发生异常,这可能会对心肌细胞的增殖和分化过程产生不良影响,在免疫炎症机制作用下的异常

状态可能导致心房肌细胞出现纤维化现象^[17]。JNK 可被诸多生物刺激所激活,参与细胞增殖、应激及细胞凋亡等多种生理、病理过程,JNK 信号通路通常过度激活,极易导致心血管炎症反应和心肌细胞凋亡,加重 CHD 症状。miR-128-3p 是内源性高度保守的单链非编码小 RNA 成员,其非编码基因位于人类染色体 2q21.3 区域,其作用机制是通过靶基因的 3' 非翻译区调控靶基因表达,参与多种心血管疾病的调控。有临床研究证实,过表达 miR-128-3p 可抑制血管紧张素 II 诱导的人心肌纤维化变性^[18]。蔡贵东等^[19]研究发现,过表达 miR-323-3p 有利于 CHD 大鼠心肌细胞结构恢复,心肌组织病理改变明显减轻,认为 miR-323-3p 可能通过抑制 TGF- β_2 /JNK 信号通路相关蛋白 TGF- β_2 、p-JNK 水平,实现抑制 CHD 大鼠心肌细胞凋亡的作用,此研究与本研究结果相似。李林等^[20]研究表明,慢性心力衰竭大鼠 p-JNK 和 TGF- β_1 水平相对于正常对照大鼠升高,经药物治疗后 p-JNK 和 TGF- β_1 呈降低趋势,确认药物可通过调控 TGF- β_1 /JNK 信号通路转导途径实现对心力衰竭的治疗。

综上所述,上调 miR-323-3p 水平能通过抑制 TGF- β_2 /JNK 信号通路相关蛋白(TGF- β_2 、JNK、p-JNK)水平,降低 CHD 大鼠 EMPs 及炎症因子水平,在 CHD 的发生和发展过程中可能具有保护作用,提示 miR-323-3p 可能参与了 CHD 发病机制的调控,作为 CHD 诊断、治疗的分子靶点具有重要临床应用前景。但本研究存在一定不足,由于样本量较小,未进行更多的实验分组和检测,可能对结果产生一定影响,故后续将通过扩大样本量、延长实验时间进一步完善研究结论。

参考文献

- [1] DONG Y, CHEN H W, GAO J L, et al. Molecular machinery and interplay of apoptosis and autophagy in coronary heart disease[J]. J Mol Cell Cardiol, 2019, 136: 27-41.
- [2] 陆永光,李浪,符春晖,等.冠心病患者内皮细胞微粒水平与 Th1/Th2 细胞因子水平的关系研究[J]. 中国全科医学, 2013, 16(8): 878-880.
- [3] 朱磊,刘君,昌艳艳.动脉粥样硬化与炎性因子的相关性研究[J]. 中国实用医药, 2014, 9(7): 250-251.
- [4] SHI C C, PAN L Y, ZHAO Y Q, et al. MicroRNA-323-3p inhibits oxidative stress and apoptosis after myocardial infarction by targeting TGF- β_2 /JNK pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(12): 6961-6970.
- [5] 王艺霏,王勇,韩超,等.冠心病患者血清 IL-1ra 和 IL-6 水平与冠脉病变程度及预后的相关性研究[J]. 海南医学, 2014, 42(20): 3017-3020.
- [6] 毛治尉,张涛,武永新,等.基于 AMPK/SIRT1/PGC1 α 信号通路探究灯盏花素联合有氧运动对冠心病大鼠心功能

- 障碍的改善作用及机制研究[J]. 中国康复医学杂志, 2023, 38(9): 1185-1191.
- [7] ZHANG Y, XIAO W H, HUANG Y X, et al. MiR-128-3p inhibits high-glucose-induced peritoneal mesothelial cells fibrosis via PAK2/SyK/TGF- β_1 axis[J]. Ther Apher Dial, 2023, 27(2): 343-352.
- [8] TIAN Y, DENG P J, LI B, et al. Treatment models of cardiac rehabilitation in patients with coronary heart disease and related factors affecting patient compliance[J]. Rev Cardiovasc Med, 2019, 20(1): 27-33.
- [9] YANG P, HAN J H, LI S G, et al. MiR-128-3p inhibits apoptosis and inflammation in LPS-induced sepsis by targeting TGFBR2[J]. Open Med (Wars), 2021, 16(1): 274-283.
- [10] BOULANGER C M, LEROYER A S, AMABILE N, et al. Circulating endothelial microparticles: a new marker of vascular injury[J]. Ann Cardiol Angeiol (Paris), 2008, 57(3): 149-154.
- [11] WANG J M, HUANG Y J, WANG Y, et al. Increased circulating CD31⁺/CD42⁻ microparticles are associated with impaired systemic artery elasticity in healthy subjects[J]. Am J Hypertens, 2007, 20(9): 957-964.
- [12] 李艳,徐朴,张平安,等.冠心病患者白细胞介素-1 受体拮抗剂基因多态性的研究[J]. 中华心血管病杂志, 2003, 31(9): 661-664.
- [13] KASTRATI A, KOCH W, BERGER P B, et al. Protective role against restenosis from an interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in patients treated with coronary stenting[J]. J Am Coll Cardiol, 2000, 36(7): 2168-2173.
- [14] 郑力辉,郭菲,韩笑,等.冠心病患者外周血内皮微粒变化及其与炎症因子的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(21): 3112-3114.
- [15] MA H, CHEN P P, SANG C L, et al. Modulation of apoptosis-related microRNAs following myocardial infarction in fat-1 transgenic mice vs wild-type mice[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(11): 5698-5707.
- [16] 邢佳依,梁卓,邢爱君,等. LncRNA MIAT 靶向调节 miR-128-3p 对心房颤动大鼠心室重构和心肌纤维化的影响[J]. 天津医药, 2022, 50(9): 932-937.
- [17] 贺涛,陈旻,刘明江. TGF β_2 基因单核苷酸多态性与持续性心房颤动的相关性研究[J]. 四川医学, 2014, 35(8): 955-956.
- [18] CAO F, LI Z, DING W M, et al. LncRNA PVT1 regulates atrial fibrosis via miR-128-3p-SP1-TGF- β_1 -Smad axis in atrial fibrillation[J]. Mol Med, 2019, 25(1): 7.
- [19] 蔡贵东,靳孟妮,王小军,等. miR-323-3p 通过靶向 TGF- β_2 /JNK 通路影响冠心病大鼠心肌细胞的凋亡[J]. 现代医学, 2022, 50(7): 840-846.
- [20] 李林,刘中勇,骆始华,等. 真武汤抗心衰与 TGF- β /JNK 信号通路关系的相关性研究[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(5): 1041-1044.