

DOI:10.13350/j.cjpb.240909

• 论著 •

miR-217-5p 在病毒性心肌炎患者血清中的表达变化及其对 CVB3 诱导的心肌细胞损伤影响

沙蕾*,袁果,蒋珂

(南阳医学高等专科学校第一附属医院检验科,河南南阳 473000)

【摘要】目的 探讨微小 RNA-217-5p(miR-217-5p)在病毒性心肌炎(VMC)患者血清中的表达变化及其对柯萨奇病毒B3(CVB3)诱导的心肌细胞损伤的影响。**方法** 回顾性选取 77 例 VMC 患者为研究对象,同期 77 例健康体检者为对照。将大鼠 H9c2 心肌细胞分为 Con 组(未做任何处理)、CVB3 组(含 CVB3 的 DMEM 处理)、CVB3 + miR-217-5p 组(H9c2 细胞转染 miR-217-5p 模拟物后经含 CVB3 的 DMEM 处理)、CVB3 + pcDNA-SIRT1 组[H9c2 细胞转染 pcDNA-沉默信息调节因子 2 同源蛋白 1(SIRT1)后经含 CVB3 的 DMEM 处理]、CVB3 + miR-217-5p + si-SIRT1 组(H9c2 细胞转染 miR-217-5p + si-SIRT1 后经含 CVB3 的 DMEM 处理)。采用实时定量 PCR(qRT-PCR)检测 miR-195-5p 和 SIRT1 mRNA 在 VMC 患者及健康体检者血清中的表达水平;双荧光素酶报告实验验证 miR-217-5p、SIRT1 靶向关系;流式细胞术测定细胞凋亡率、Western blot 检测细胞 SIRT1、活化型半胱氨酸蛋白酶 3(cleaved-caspase3)、B 淋巴细胞瘤 2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)表达水平;酶联免疫吸附法(ELISA)检测细胞分泌肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、IL-8 水平。**结果** miR-217-5p 在病 VMC 患者血清中表达水平较健康体检者高,SIRT1 mRNA 表达水平较健康体检者低($P < 0.05$)。miR-217-5p 可靶向调控 SIRT1 蛋白的表达。与 Con 组相比,CVB3 组心肌细胞中 miR-217-5p 表达水平、细胞凋亡率、cleaved-caspase3、Bax 蛋白表达水平、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平升高,Bcl-2 蛋白表达水平降低($P < 0.05$)。与 CVB3 组相比,CVB3 + anti-miR-217-5p 组 miR-217-5p 表达水平、细胞凋亡率、cleaved-caspase3、Bax 蛋白表达水平、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平降低,SIRT1、Bcl-2 蛋白表达水平升高($P < 0.05$);与 CVB3 组相比,CVB3 + pcDNA-SIRT1 组细胞凋亡率、cleaved-caspase3、Bax 蛋白表达水平、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平降低,SIRT1、Bcl-2 蛋白表达水平升高($P < 0.05$);与 CVB3 + miR-217-5p 组相比,CVB3 + anti-miR-217-5p + si-SIRT1 组细胞凋亡率、cleaved-caspase3、Bax 蛋白表达水平、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平升高,SIRT1、Bcl-2 蛋白表达水平降低($P < 0.05$)。**结论** miR-217-5p 可能通过靶向调控 SIRT1 蛋白的表达进一步调控 CVB3 诱导的心肌细胞损伤。

【关键词】 病毒性心肌炎;萨奇病毒 B3;微小 RNA-217-5p;沉默信息调节因子 2 同源蛋白 1;凋亡;炎症因子

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2024)09-1036-06

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Sep.;19(9):1036-1041.]

The expression change of miR-217-5p in the serum of patients with viral myocarditis and its effect on CVB3-induced myocardial cell injury

SHA Lei, YUAN Guo, JIANG Ke (Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang 473000, Henan, China)*

【Abstract】 **Objective** To investigate the expression changes of microRNA-217-5p (miR-217-5p) in the serum of patients with viral myocarditis (VMC) and its effect on the myocardial cell injury induced by coxsackievirus B3 (CVB3).

Methods A retrospective study was conducted on 77 patients with VMC and 77 healthy controls. Rat H9c2 cardiomyocytes were divided into Con group (no treatment), CVB3 group (treated with DMEM containing CVB3), CVB3 + miR-217-5p group (treated with DMEM containing CVB3 after H9c2 cells were transfected with miR-217-5p mimics), CVB3 + pcDNA-SIRT1 group (treated with DMEM containing CVB3 after H9c2 cells were transfected with pcDNA-silencing information regulator 2 homolog 1 (SIRT1)), and CVB3 + miR-217-5p + si-SIRT1 group (treated with DMEM containing CVB3 after H9c2 cells were transfected with miR-217-5p + si-SIRT1). Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression levels of miR-195-5p and SIRT1 mRNA in the serum of VMC patients and healthy controls. Double luciferase reporter assay was used to verify the targeted relationship between miR-217-5p and SIRT1. Flow cytometry was used to measure the apoptosis rate of cells, and Western blot was used to detect the expression levels of SIRT1, activated caspase3, Bcl-2, and Bax. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the secretion of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , IL-6, and IL-8 levels in cells. **Results** The

* 【通讯作者(简介)】 沙蕾(1980-),女,河南南阳人,本科,主管技师,研究方向:微生物方面检验工作。E-mail:15038786218@163.com

expression level of miR-217-5p in the serum of patients with VMC was higher than that of healthy subjects, and the expression level of SIRT1 mRNA was lower than that of healthy subjects ($P < 0.05$). miR-217-5p can target and regulate the expression of SIRT1 protein. Compared with the CVB3 group, the expression level of miR-217-5p, the apoptosis rate, the expression levels of cleaved-caspase3 and Bax protein, the levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-8 increased, and the expression level of Bcl-2 protein decreased in the CVB3+anti-miR-217-5p group ($P < 0.05$). Compared with the CVB3 group, the expression level of miR-217-5p, the apoptosis rate, the expression levels of cleaved-caspase3 and Bax protein, the levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-8 decreased, and the expression levels of SIRT1 and Bcl-2 protein increased in the CVB3+pcDNA-SIRT1 group ($P < 0.05$). Compared with the CVB3+miR-217-5p group, the apoptosis rate, the expression levels of cleaved-caspase3 and Bax protein, the levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-8 increased, and the expression levels of SIRT1 and Bcl-2 protein decreased in the CVB3+anti-miR-217-5p+si-SIRT1 group ($P < 0.05$).

Conclusion miR-217-5p may further regulate the myocardial cell injury induced by CVB3 by targeting and regulating the expression of SIRT1 protein.

【Keywords】 Viral myocarditis; Saq virus B3; MicroRNA-217-5p; Silent information regulator 2 homolog 1; Apoptosis; Inflammatory factors

病毒性心肌炎(VMC)是由病毒感染所引发的炎症性心肌疾病,柯萨奇病毒B3(CVB3)为其常见病毒,CVB3可通过诱导炎症反应、心肌细胞凋亡等促进心肌细胞损伤^[1]。microRNA(miRNA)为非编码RNA,具有高度保守性,可通过转录后水平调控蛋白质的合成进而影响细胞的增殖、凋亡以及分化宿主-病原体反应等生物学过程,且已有研究发现miRNA参与毒性心肌炎的发生发展^[2]。王丽娜等^[3]研究表明,miR-217在病毒性心肌炎患者血清中表达水平明显升高,且与病情程度、临床预后及转归密切相关。MiR-217在缺氧复氧诱导的心肌细胞损伤中高表达,抑制其表达可减轻缺氧复氧诱导的心肌细胞损伤^[4]。通过TargetScan 7.2在线软件分析发现SIRT1的3'UTR中含有与miR-217-5p互补的核苷酸序列,由此推测miR-217-5p可能通过靶向SIRT1进而调控CVB3诱导的心肌细胞损伤。SIRT1为组蛋白去乙酰化酶,它通过促使蛋白去乙酰化进而调控细胞的凋亡、应激应答分化等,且SIRT1在高糖诱导的心肌细胞中表达水平降低,上调其表达可减轻高糖诱导的心肌细胞损伤^[5]。但SIRT1在病毒性心肌炎患者血清中的表达水平,以及miR-217-5p对CVB3诱导的心肌细胞损伤的影响,且miR-217-5p是否通过靶向调控SIRT1的表达影响CVB3诱导的心肌细胞损伤目前还尚未可知。因此本文旨在通过分析miR-217-5p在CVB3诱导的心肌细胞损伤中的作用机制,为病毒性心肌炎的治疗提供新的理论靶点。

材料与方法

1 材料

1.1 临床资料 选取2022年2月至2024年2月本院收治77例病毒性心肌炎患者及同期77例健康体检者为研究对象,收集其血清。

1.2 材料与仪器 大鼠H9c2心肌细胞细胞株(中科院上海细胞资源中心);CVB3(Nancy株)(武汉博威德生物技术有限公司);0.25%胰蛋白酶、胎牛血清、DMEM培养基(美国Thermo Fisher公司);TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8检测试剂盒(上海西唐生物科技有限公司);细胞凋亡检测试剂盒(上海润成生物科技有限公司);Trizol试剂(美国Invitrogen公司);反转录、miRNA提取试剂盒、SYBR荧光定量检测试剂盒(北京天根生化科技有限公司);pmirGLO荧光素酶载体(Promega Corporation)、SIRT1、cleaved-caspase3、Bcl-2、Bax抗体(美国Abcam);miR-NC、miR-217-5p模拟物、anti-miR-NC、anti-miR-217-5p、si-NC、si-SIRT1、pcDNA、pcDNA-SIRT1(上海GenePharma);GAPDH二抗(美国CST);StepOnePlus qRT-PCR仪(美国Applied Biosystems);BD CALIBUR流式细胞仪、Western blot自动检测分析仪(上海天能生物)。

2 方法

2.1 实验分组 Con组:不做任何处理的H9c2细胞在DMEM培养基中培养48 h;CVB3组:用含有0.2 mL 1×10^3 TCID₅₀ CVB3的DMEM培养基培养H9c2细胞48 h;CVB3+anti-miR-217-5p组:将anti-miR-217-5p转染至H9c2细胞,转染成功后收集细胞,用含有0.2 mL 1×10^3 TCID₅₀ CVB3的DMEM培养基培养48 h;CVB3+pcDNA-SIRT1组:将pcDNA-SIRT1转染至H9c2细胞,转染成功后收集细胞,用含有0.2 mL 1×10^3 TCID₅₀ CVB3的DMEM培养基培养48 h;CVB3+anti-miR-217-5p+si-SIRT1组:将anti-miR-217-5p与si-SIRT1共转染至H9c2细胞,转染成功后收集细胞,用含有0.2 mL 1×10^3 TCID₅₀ CVB3的DMEM培养基培养48 h。

2.2 qRT-PCR检测 miR-217-5p、SIRT1 mRNA表达水平 病毒性心肌炎患者、健康体检者血清及各组

细胞中总 RNA 分别用 Trizol 试剂与 miRNA 提取试剂盒进行提取,按照荧光定量 PCR 试剂盒使用说明进行 qRT-PCR。U6 作为 miR-217-5p 的内参基因,β-Actin 作为 SIRT1 的内参基因。miR-217-5p 引物序为 F: 5'-CTGGGTCGTATCCAGTGCAA-3', R: 5'-GTCGTATCCAGTGCCTGCGT-3'; U6 引物序列为 F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', R: 5'-AACGC TTCACGAATTGCGT-3'; SIRT1 mRNA 引物序列为 F: 5'-TGATTGGCACCGATCCTCG-3', R: 5'-CCACAGCGTCATATCATCCAG-3'; β-Actin 引物序列为 F: 5'-ACCCACACTGTGCCCATCTAC-3', R: 5'-TCGGTGAGGATCTTCATGAGGTA-3'; 引物均由上海生工合成。相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

2.3 双荧光素酶报告实验验证 根据不同处理将 H9c2 细胞分为 4 组: miR-NC + WT-SIRT1 组(转染 miR-NC 和 WT-SIRT1)、miR-217-5p + WT-SIRT1 组(转染 miR-217-5p 和 WT-SIRT1)、miR-NC + MUT-SIRT1 组(转染 miR-NC 和 MUT-SIRT1)、miR-217-5p + MUT-SIRT1 组(转染 miR-217-5p 和 MUT-SIRT1),根据双荧光素酶活性检测试剂盒说明书对培养 48 h 后的各组细胞进行荧光素酶相对活性的检测。

2.4 流式细胞术检测细胞凋亡率 将培养 48 h 的 H9c2 细胞,加入 500 μL 结合缓冲液混合充分,加入 5 μL Annexin V-FITC、5 μL PI 染液充分混匀,室温下孵育 15 min(避光),用流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。

2.5 Western blot 检测蛋白表达水平 H9c2 细胞总蛋白用 RIPA 裂解液进行提取,蛋白浓度用 BCA 法检测。蛋白经 10% SDS-PAGE 进行电泳分离,转移至聚偏二氟乙烯膜上,5% 脱脂奶粉室温孵育 2 h,分别加入 SIRT1(1 : 500)、cleaved-caspase3(1 : 500)、Bcl-2(1 : 500)、Bax(1 : 500)一抗与内参 GAPDH(1 : 1000),4 °C 条件下孵育过夜后,加入相对应的二抗(1 : 2000),室温条件下孵育 1 h。加入 ECL 化学发光剂进行显影,用 ImageJ 软件检测分析各组蛋白条带的灰度值,激素蛋白相对表达水平(目的条带灰度值/GAPDH 条带灰度值)。

2.6 ELISA 法检测 H9c2 细胞培养上清中 TNF-α、IL-β、IL-6、IL-8 水平 取各组 H9c2 细胞培养基上清液,ELISA 法检测上清液中 TNF-α、IL-β、IL-6、IL-8 水平,按照试剂盒说明书操作。

结 果

1 miR-217-5p、SIRT1 在病毒性心肌炎患者血清中的表达情况

77 例病毒性心肌炎患者 miR-217-5p、SIRT1

mRNA 表达水平分别为 2.75 ± 0.23 、 0.31 ± 0.05 ,77 例健康体检者水平分别为 1.00 ± 0.07 、 1.00 ± 0.06 。病毒性心肌炎患者血清 miR-217-5p 表达水平较健康体检者显著升高,SIRT1 mRNA 表达水平较健康体检者显著降低($t = 63.873$ 、 77.523 ,均 $P < 0.05$)。

2 miR-217-5p 与 SIRT1 的靶向关系验证

TargetScan 在线软件分析结果显示 SIRT1 的 3' UTR 与 miR-217-5p 存在互补序列,WT-SIRT1 3' UTR: 5'-UGGUACACUAAGAAUGCAGUA-3', miR-217-5p: 3'-AGGUCAGUCAAGGACUACGUC AU-5'。

miR-217-5p + WT-SIRT1 组荧光素酶活性较 miR-NC + WT-SIRT1 组降低($P < 0.05$); miR-217-5p + MUT-SIRT1 组与 miR-NC + MUT-SIRT1 组荧光素酶活性无明显差异($P > 0.05$),见表 1。miR-217-5p 组 miR-217-5p 表达水平较 miR-NC 组升高($P < 0.05$),SIRT1 蛋白表达水平较 miR-NC 组降低($P < 0.05$); anti-miR-217-5p 组 miR-217-5p 表达水平较 anti-miR-NC 组降低($P < 0.05$),SIRT1 蛋白表达水平较 anti-miR-NC 组升高($P < 0.05$)。见图 1 和表 2。

表 1 双荧光素酶报告实验结果($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Double luciferase reports experimental results

组别 Group	n	WT-SIRT1	MUT-SIRT1
miR-NC	9	1.01 ± 0.05	1.02 ± 0.07
miR-217-5p	9	$0.46 \pm 0.04^*$	1.00 ± 0.06
<i>t</i>		25.769	0.651
<i>P</i>		0.000	0.524

注: * 与 miR-NC 比较, $P < 0.05$ 。

表 2 miR-217-5p 调控 SIRT1 蛋白的表达($\bar{x} \pm s$)
Table 2 miR-217-5p regulates the expression of SIRT1 protein

组别 Group	n	miR-217-5p	SIRT1 蛋白 SIRT1 protein
miR-NC	9	1.00 ± 0.07	0.48 ± 0.05
miR-217-5p	9	$3.68 \pm 0.31^*$	$0.12 \pm 0.02^*$
anti-miR-NC	9	0.99 ± 0.06	0.46 ± 0.04
anti-miR-217-5p	9	$0.25 \pm 0.03^{**}$	$0.79 \pm 0.06^{**}$
<i>t</i>		776.121	333.148
<i>P</i>		0.000	0.000

注: * 与 miR-NC 比较, $P < 0.05$; ** 与 anti-miR-NC 比较, $P < 0.05$ 。

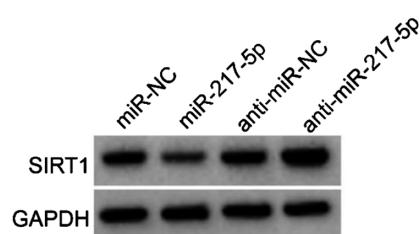


图 1 miR-217-5p 调控 SIRT1 蛋白的表达
Fig. 1 miR-217-5p regulates the expression of SIRT1 protein

3 各组细胞中 miR-217-5p、SIRT1 表达水平比较

与 Con 组相比, CVB3 组 miR-217-5p 表达水平升高 ($P < 0.05$), SIRT1 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$); 与 CVB3 组相比, CVB3 + anti-miR-217-5p 组 miR-217-5p 表达水平降低, SIRT1 蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$); 与 CVB3 组相比, CVB3 + pcDNA-SIRT1 组 SIRT1 蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$); 与 CVB3 + miR-217-5p 组相比, CVB3 + anti-miR-217-5p + si-SIRT1 组 SIRT1 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$)。见图 2 和表 3。

表 3 各组细胞中 miR-217-5p、SIRT1 表达水平($\bar{x} \pm s$)
Table 3 The expression levels of miR-217-5p and SIRT1 in cells of each group

组别 Group	n	miR-217-5p	SIRT1 蛋白 SIRT1 protein
Con	9	1.00±0.08	0.45±0.04
CVB3	9	3.85±0.33 ^a	0.14±0.02 ^a
CVB3+anti-miR-217-5p	9	1.67±0.18 ^b	0.77±0.05 ^b
CVB3+pcDNA-SIRT1	9	3.88±0.36	0.81±0.07 ^b
CVB3+anti-miR-217-5p+si-SIRT1	9	1.66±0.17	0.32±0.04 ^c
<i>t</i>		269.408	341.059
<i>P</i>		0.000	0.000

注:a 与 Con 比较, $P < 0.05$; b 与 CVB3 比较, $P < 0.05$; c 与 CVB3 + anti-miR-217-5p 比较, $P < 0.05$ 。

表 4 各组细胞凋亡率及凋亡相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)
Table 4 Comparison of apoptosis rate and apoptosis-related protein expression levels in all groups

组别 Group	n	凋亡率(%) Apoptosis rate	Cleaved-caspase3 蛋白 cleaved-caspase3 protein	Bcl-2 蛋白 Bcl-2 protein	Bax 蛋白 Bax protein
Con	9	5.78±0.66	0.11±0.02	0.68±0.05	0.23±0.02
CVB3	9	27.43±2.15 ^a	0.79±0.06 ^a	0.19±0.02 ^a	0.84±0.07 ^a
CVB3+anti-miR-217-5p	9	9.28±0.84 ^b	0.25±0.03 ^b	0.62±0.04 ^b	0.30±0.03 ^b
CVB3+pcDNA-SIRT1	9	11.17±1.28 ^b	0.27±0.02 ^b	0.60±0.05 ^b	0.32±0.04 ^b
CVB3+anti-miR-217-5p+si-SIRT1	9	23.15±2.06 ^c	0.71±0.05 ^c	0.29±0.03 ^c	0.75±0.06 ^c
<i>t</i>		340.685	531.231	276.437	318.434
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000

注:a 与 Con 比较, $P < 0.05$; b 与 CVB3 比较, $P < 0.05$; c 与 CVB3+anti-miR-217-5p 比较, $P < 0.05$ 。

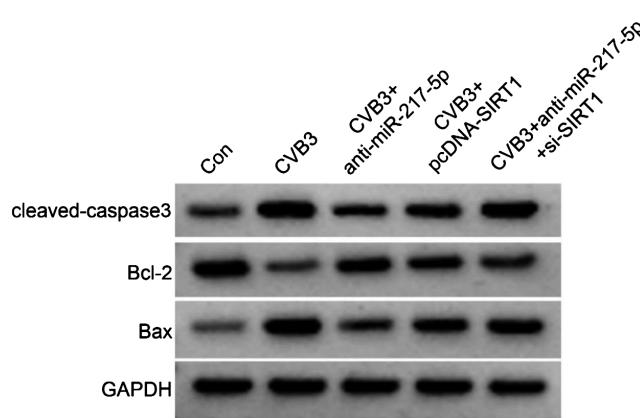


图 3 各组细胞中凋亡相关蛋白表达情况

Fig. 3 The expression of apoptosis-related proteins in each group

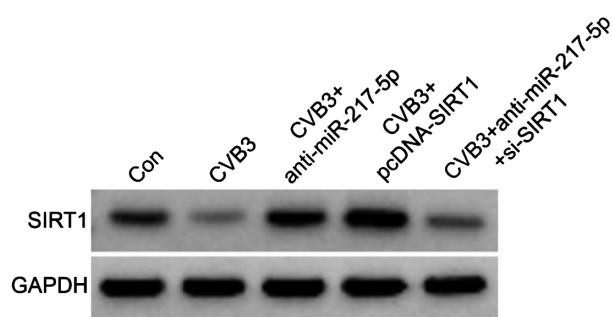


图 2 各组细胞中 SIRT1 蛋白表达情况

Fig. 2 SIRT1 protein expression in cells of each group

4 各组细胞凋亡率及凋亡相关蛋白表达水平比较

CVB3 组细胞凋亡率、cleaved-caspase3、Bax 蛋白表达水平较 Con 组升高, Bcl-2 蛋白表达水平较 Con 组降低 ($P < 0.05$); CVB3+anti-miR-217-5p、CVB3+pcDNA-SIRT1 组细胞凋亡率、cleaved-caspase3、Bax 蛋白表达水平较 CVB3 组降低, Bcl-2 蛋白表达水平较 CVB3 组升高 ($P < 0.05$); CVB3+anti-miR-217-5p+si-SIRT1 组细胞凋亡率、cleaved-caspase3、Bax 蛋白表达水平较 CVB3+anti-miR-217-5p 组升高, Bcl-2 蛋白表达水平较 CVB3+anti-miR-217-5p 组降低 ($P < 0.05$)。见图 3、图 4 和表 4。

图 4 各组细胞凋亡流式图

Fig. 4 Flow diagram of apoptosis in each group

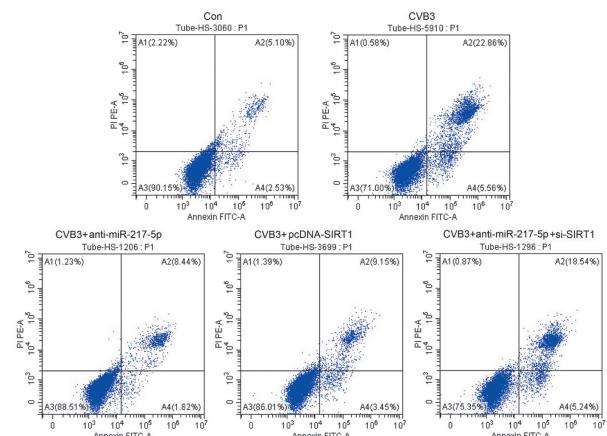


图 4 各组细胞凋亡流式图

Fig. 4 Flow diagram of apoptosis in each group

5 各组细胞炎症因子表达水平比较

CVB3 组细胞中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平较 Con 组升高; CVB3 + anti-miR-217-5p、CVB3 + pcDNA-SIRT1 组细胞中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 水

平较 CVB3 组降低($P < 0.05$); CVB3 + anti-miR-217-5p + si-SIRT1 组细胞中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平较 CVB3 + anti-miR-217-5p 组升高($P < 0.05$), 见表 5。

表 5 各组细胞炎症因子表达水平比较(±s, pg/mL)
Table 5 Comparison of the expression levels of inflammatory cytokines in each group

组别 Group	n	TNF- α	IL-1 β	IL-6	IL-8
Con	9	1.54 ± 0.28	16.68 ± 2.43	2.51 ± 0.34	11.92 ± 2.05
CVB3	9	7.66 ± 0.83 ^a	71.35 ± 6.24 ^a	8.49 ± 0.78 ^a	63.81 ± 7.11 ^a
CVB3 + anti-miR-217-5p	9	2.95 ± 0.31 ^b	25.24 ± 3.82 ^b	3.23 ± 0.46 ^b	20.56 ± 2.39 ^b
CVB3 + pcDNA-SIRT1	9	3.17 ± 0.48 ^b	28.15 ± 3.09 ^b	3.59 ± 0.51 ^b	22.47 ± 2.51 ^b
CVB3 + anti-miR-217-5p + si-SIRT1	9	6.24 ± 0.57 ^c	59.78 ± 5.93 ^c	7.18 ± 0.63 ^c	52.78 ± 6.34 ^c
t		204.347	245.840	199.581	214.767
P		0.000	0.000	0.000	0.000

注:a 与 Con 比较, $P < 0.05$; b 与 CVB3 比较, $P < 0.05$; c 与 CVB3 + anti-miR-217-5p 比较, $P < 0.05$ 。

讨 论

VMC 为临床常见心血管疾病, 其发病率逐年升高, 是由于感染嗜心肌性病毒所引起的弥漫性炎症疾病, CVB3 为 VMC 常见病毒株, 病情严重者会引发心力衰竭、心源性休克、心率失常等, 常见临床表现有心肌细胞坏死、变性、纤维化等, 且心肌细胞的凋亡及炎症反应参与 VMC 的发生发展^[6-8]。VMC 严重威胁人们的健康, 因此积极探索 VMC 新的诊断及治疗靶点具有重要的临床意义。

miRNA 属于非编码 RNA, 可在转录后水平调节基因进而调节细胞功能, 对 CVB3 诱导的病毒性心肌炎具有重要调控作用^[9-12]。MiR-217-5p 为具有多种生物学功能, 研究表明 MiR-217-5p 在乳腺癌患者中发挥抑癌基因的作用, 过表达 MiR-217-5p 可抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[13]。MiR-217-5p 可通过下调 PRKCI、BAG3、ITGAV、MAPK1 表达促进结直肠癌细胞的凋亡^[14]。Papageorgiou 等^[15]研究表明, miR-217 在骨关节炎软骨细胞中表达水平升高, 上调其表达可促进骨关节炎软骨细胞炎症因子分泌, 升高促凋亡蛋白水平。MiR-217-5p 在脓毒症肺损伤患者及 LPS 诱导的人肺微血管内皮细胞损伤中表达升高, 下调其表达对 LPS 诱导的人肺微血管内皮细胞损伤具有保护作用^[16]。Bax 为促凋亡蛋白、Bcl-2 为抑细胞凋亡蛋白, Bax 水平升高可下调 Bcl-2 的表达水平, 激活 caspase 3, Cleaved caspase 3 是 caspase 3 的活化形式, 具有促进细胞凋亡的作用^[17-19]。TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 为促炎因子, 可诱导炎症细胞在病毒感染部位聚集并加重炎症反应^[20]。本研究结果显示, miR-217-5p 在病毒性心肌炎患者血清及 CVB3 诱导的心肌细胞中表达水平升高, 干扰其表达可降低 CVB3 诱导的心肌细胞凋率、cleaved-caspase3、Bax、Bcl-2 蛋白

的表达及 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 的分泌, 说明 miR-217-5p 具有促进病毒性心肌炎心肌细胞凋亡和炎症反应的作用。

本文双荧光素酶报告实验结果说明, miR-217-5p 可靶向调控 SIRT1 蛋白的表达, 与 Qi 等^[21]研究结果相似, 推测 miR-217-5p 可能是通过 SIRT1 发挥其相应的生物学功能。SIRT1 在心肌细胞损伤中具有重要的生物学作用, 上调其表达可减轻心肌细胞损伤程度^[22-23]。本文结果显示, SIRT1 在病毒性心肌炎患者血清及 CVB3 诱导的心肌细胞中下调表达, 上调其表达可降低心肌细胞凋率、cleaved-caspase3、Bax、Bcl-2 蛋白的表达及 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 的分泌, 说明 SIRT1 对病毒性心肌炎心肌细胞凋亡和炎症反应具有抑制作用。为进一步验证 miR-217-5p 是通过靶向 SIRT1 调控 CVB3 诱导的心肌细胞凋亡及炎症反应, 本研究通过将 miR-217-5p + pcDNA-SIRT1 共转染至 CVB3 诱导的 H9c2 心肌细胞, 检测细胞的凋亡及炎症反应水平, 结果显示, pcDNA-SIRT1 可部分逆转 miR-217-5p 对 CVB3 诱导的心肌细胞凋亡及炎症因子分泌的影响。由此推测 miR-217-5p 可能是通过靶向调控 SIRT1 表达发挥其对 CVB3 诱导心肌细胞损伤的作用。

综上所述, miR-217-5p 对 CVB3 诱导心肌细胞的影响可能与通过靶向调控 SIRT1 蛋白的表达有关。

【参考文献】

- 陈耿仟, 吴国平, 饶平, 等. 小檗碱通过 JNK 通路调控柯萨奇病毒 B3 感染心肌细胞凋亡的作用[J]. 病毒学报, 2021, 37(2): 318-324.
- 曲艺, 张迪, 刘亚欣. 微小 RNA 对病毒性心肌炎调控机制的研究进展[J]. 中国心血管杂志, 2021, 26(3): 303-305.
- 王丽娜, 马娜, 孙小刚. 血清 adropin、miR-217、miR-92a 水平与病毒性心肌炎患者病情严重程度及预后关系研究[J]. 中国病原生

- 物学杂志,2023,18(2):224-228,237.
- [4] 靳涛,武倩,董雨,等.长托宁通过下调 miR-217 表达抑制缺氧/复氧诱导的大鼠心肌细胞 H9C2 损伤的机制研究[J].广西医科大学学报,2021,38(6):1118-1123.
- [5] 艾永飞,刘静,苏菲菲,等.褪黑素上调 SIRT1 改善高糖诱导原代心肌细胞损伤的机制研究[J].山西医科大学学报,2021,52(5):572-579.
- [6] Olejniczak M, Schwartz M, Webber E, et al. Viral myocarditis-incidence, diagnosis and management[J]. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2020,34(6):1591-1601.
- [7] Matshela MR. The role of echocardiography in acute viral myocarditis[J]. Cardiovasc J Afr,2019,30(4):239-244.
- [8] Lin J, Xue A, Li L, et al. MicroRNA-19b downregulates gap junction protein Alpha1 and synergizes with MicroRNA-1 in viral myocarditis[J]. Int J Mol Sci,2016,17(5):741-756.
- [9] 杨慧敏,王芳洁,姚晓利.微 RNA-34a-5p 通过靶向调控 KLOTHO 对病毒性心肌炎心肌细胞损伤的影响及机制研究[J].中华生物医学工程杂志,2019,25(5):571-577.
- [10] Gou W, Zhang Z, Yang C, et al. MiR-223/Pknox1 axis protects mice from CVB3-induced viral myocarditis by modulating macrophage polarization[J]. Exp Cell Res,2018,366(1):41-48.
- [11] Wang Y, Zhang Z, Li H, et al. miR-29b-3p regulates cardiomyocytes pyroptosis in CVB3-induced myocarditis through targeting DNMT3A[J]. Cell Mol Biol Lett,2024,29(1):55-67.
- [12] Jiahui C, Jiadai Z, Nan Z, et al. miR-19b-3p/PKNOX1 regulates viral myocarditis by regulating macrophage polarization[J]. Front Genet,2022,13(1):902-916.
- [13] Yang L, Liu S, Yang L, et al. miR-217-5p suppresses epithelial-mesenchymal transition and the NF-κB signaling pathway in breast cancer via targeting of metadherin[J]. Oncol Lett,2022,23(5):162-174.
- [14] Flum M, Kleemann M, Schneider H, et al. miR-217-5p induces apoptosis by directly targeting PRKCI, BAG3, ITGAV and MAPK1 in colorectal cancer cells[J]. J Cell Commun Signal,
- 2018,12(2):451-466.
- [15] Papageorgiou AA, Roussos A, Papathanasiou I, et al. MiR-217 regulates SIRT1 expression and promotes inflammatory and apoptotic responses in osteoarthritis[J]. Genes (Basel),2023,14(12):2155-2169.
- [16] You T, Zhang B. CircWDR33 alleviates human pulmonary microvascular endothelial cell injury in sepsis-associated acute lung injury by targeting miR-217-5p/SERP1 axis [J]. Int Immunopharmacol,2022,113(1):109-121.
- [17] 李学文,郭为钧.大蒜素通过 AKT/NF-κB 通路诱导大肠癌细胞凋亡的实验研究[J].现代消化及介入诊疗,2020,25(2):193-198.
- [18] Mahdavi S, Khodarahmi P, Roodbari NH. Effects of cadmium on Bcl-2/ Bax expression ratio in rat cortex brain and hippocampus [J]. Hum Exp Toxicol,2018,37(3):321-328.
- [19] Zhu L, Hao J, Cheng M, et al. Hyperglycemia-induced Bcl-2/Bax-mediated apoptosis of Schwann cells via mTORC1/S6K1 inhibition in diabetic peripheral neuropathy[J]. Exp Cell Res,2018,367(2):186-195.
- [20] 顾烽,符霞,孙立勤,等.白藜芦醇通过 Nrf2/ARE 通路减轻柯萨奇病毒 B3 感染的乳鼠心肌细胞炎症和氧化应激反应[J].病毒学报,2020,36(1):63-69.
- [21] Qi Y, Zhang K, Li P, et al. Down-regulating miR-217-5p protects cardiomyocytes against ischemia/reperfusion injury by restoring mitochondrial function via targeting SIRT1[J]. Inflammation,2021,44(1):383-396.
- [22] 夏洪娟,王延鹏,朱伟,等.白藜芦醇通过上调 SIRT1 抑制阿霉素诱导的 H9c2 细胞损伤[J].中国药理学通报,2014,30(2):220-224.
- [23] 王瑞,高钊,张晓东,等.白藜芦醇通过调节沉默信息调节因子 1 通路改善大鼠心肌缺血再灌注损伤的作用机制[J].世界中医药,2022,17(15):2171-2177.

【收稿日期】 2024-05-03 【修回日期】 2024-07-22

(上接 1035 页)

- [22] Pustovalova Y, Maciejewski MW, Korzhnev DM. NMR mapping of PCNA interaction with translesion synthesis DNA polymerase Rev1 mediated by Rev1-BRCT domain [J]. J Mol Biol,2013,425(17):3091-3105.
- [23] Kim HJ, Kim HJ. Yeast as an expression system for producing virus-like particles: what factors do we need to consider? [J]. Lett Appl Microbiol,2017,64(2):111-123.
- [24] Franchitto A, Pichierri P. Replication fork recovery and regulation of common fragile sites stability [J]. Cell Mol Life Sci,2014,71(23):4507-4517.

- [25] Kuzminov A. Chromosomal replication complexity: A novel DNA metrics and genome instability factor [J]. PLoS Genet,2016,12(10):e1006229.
- [26] McMurray CT. Mechanisms of trinucleotide repeat instability during human development [J]. Nat Rev Genet,2010,11(11):786-799.
- [27] Neelsen KJ, Lopes M. Replication fork reversal in eukaryotes: from dead end to dynamic response [J]. Nat Rev Mol Cell Biol,2015,16(4):207-220.

【收稿日期】 2024-03-14 【修回日期】 2024-06-04