

王可,董平栓,和素娜,等. miR-199a 在 LPS 诱导的大鼠原代心肌细胞中通过激活 NF- κ B 信号通路加重心肌细胞损伤 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(10): 63-69.

Wang K, Dong PS, He SN, et al. miR-199a increases myocardial injury in a mouse model with myocarditis by activating the NF- κ B signaling pathway [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(10): 63-69.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.10.009

miR-199a 在 LPS 诱导的大鼠原代心肌细胞中通过激活 NF- κ B 信号通路加重心肌细胞损伤

王可¹,董平栓^{1*},和素娜²,陈士芳¹,赵希坤¹,张恒亮¹,王腾飞¹

(1.河南科技大学第一附属医院,河南 洛阳 471003; 2.河南科技大学医学院,河南 洛阳 471003)

【摘要】 目的 探究 miR-199a 在 LPS 诱导的大鼠原代心肌细胞中的作用。方法 将大鼠原代心肌细胞分为对照组 (NC)、LPS 组、LPS+miR-199a mimic 组、LPS+miR-199a inhibitor 组。本实验采取 CCK8 方法探究 miR-199a 对于大鼠原代心肌的细胞活力影响。随后运用 ELISA 法检测 miR-199a 对于 LPS 诱导大鼠原代心肌细胞的炎症因子如 TNF- α 及 IL-1 β 的释放情况。通过流式细胞仪检测 miR-199a 对于 LPS 诱导大鼠原代心肌细胞的凋亡蛋白变化。运用 Western blot 实验研究 miR-199a 模拟物或抑制剂的 miR-199a 表达情况以及研究 miR-199a 对于 LPS 诱导大鼠原代心肌细胞的 p-p65、p65 和 p- κ Ba、 κ Ba 及凋亡蛋白表达情况。结果 CCK8 法发现与 NC 组相比,LPS 抑制了大鼠原代心肌细胞的活力 ($P<0.01$),然而经模拟物处理后,经 LPS 诱导的大鼠原代心肌活力受抑制更加严重 ($P<0.05$)。同时,与模拟物组相比,miR-199a 抑制剂组大鼠原代心肌细胞活力受抑制降低 ($P<0.01$)。ELISA 结果表明,与 NC 组相比,LPS 诱导了 TNF- α 及 IL-1 β 的释放 ($P<0.05$)。与 LPS 组相比,miR-199a 模拟物组加重了 TNF- α ($P<0.01$) 及 IL-1 β ($P<0.05$) 的释放,而 miR-199a 抑制剂组 TNF- α ($P<0.01$) 及 IL-1 β ($P<0.05$) 的释放减少。流式凋亡、Western blot 结果表明,50 nmol/L 的 miR-199a 模拟物可通过上调 caspase3、bax 表达和下调 bcl2 表达而加剧 LPS 引起的大鼠原代心肌细胞的凋亡 ($P<0.05$)。进一步检测 NF- κ B 通路发现 LPS 可通过 p- κ Ba 与 p-p65 表达的上调诱激活大鼠原代心肌细胞 NF- κ B 通路,但与 LPS 组相比,在模拟物处理后,p-p65 和 p- κ Ba 上调更加明显。与此同时,阻断 miR-199a 后,与模拟物组相比,p-p65 和 p- κ Ba 表达下调。这些发现表明用模拟物处理可以加重体内 LPS 诱导的心肌炎中 NF- κ B 信号传导途径的激活。进一步使用 NF- κ B 通路抑制剂发现,miR-199a 模拟物并不能加剧 LPS 对于大鼠原代心肌细胞的活力抑制,这进一步提示 miR-199a 可能通过 NF- κ B 通路加剧心肌细胞的损伤。结论 miR-199a 可加重心肌细胞的损伤,这种损伤主要通过 NF- κ B 信号通路来实现的。

【关键词】 miR-199a;NF- κ B 信号通路;心肌炎

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 10-0063-07

miR-199a increases myocardial injury in a mouse model with myocarditis by activating the NF- κ B signaling pathway

WANG Ke¹, DONG Pingshuan^{1*}, HE Suna², CHEN Shifang¹, ZHAO Xikun¹, ZHANG Hengliang¹, WANG Tengfei¹

(1. the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China.

2. Medical College of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003)

【基金项目】河南省医学科技攻关计划联合共建项目(2018020269)。

【作者简介】王可(1976—)男,本科,研究方向:心血管介入,心血管重症。E-mail:wangke0379@163.com

【通信作者】董平栓(1965—)男,教授,硕士生导师。E-mail:dongpingshuan@163.com

【Abstract】 Objective To explore the role of miR-199a in LPS-induced rat primary cardiomyocytes. **Methods** The primary rat cardiomyocytes were divided into control group (NC), LPS group, LPS+miR-199a mimic group and LPS+miR-199a inhibitor group. CCK8 assays were used to explore the effect of miR-199a on cell viability of rat primary cardiomyocytes. ELISAs were used to detect the release of inflammatory factors such as TNF- α and IL-1 β by HRNA-199a induced by LPS in rat primary cardiomyocytes. Expression of apoptotic proteins in rat primary cardiomyocyte induced by LPS by miR-199a was detected by flow cytometry. Western blot was used to study the expression of miR-199a mimic- or inhibitor-treated cells, and the expression of p-p65, p65, and p- $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$, $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ and apoptotic proteins in rat primary cardiomyocytes induced by LPS. **Results** Compared with the control group, LPS inhibited the viability of primary rat cardiomyocytes ($P < 0.01$). However, after LPS induction and simulant treatments, the viability of primary rat cardiomyocytes was more severely inhibited ($P < 0.05$). Therefore, miR-199a may aggravate cardiomyocyte damage in myocarditis. Compared with the mimics, inhibition of miR-199a reduced LPS-induced rat primary cardiomyocyte viability ($P < 0.01$). Compared with the NC group, LPS induced the release of TNF- α and IL-1 β ($P < 0.05$). Compared with the LPS group, miR-199a mimic aggravated the release of TNF- α ($P < 0.01$) and IL-1 β ($P < 0.05$). However, after treatment with miR-199a inhibitors, the release of TNF- α ($P < 0.01$) and IL-1 β ($P < 0.05$) was decreased. Flow cytometry and Western blot showed that 50nmol/L miR-199a mimetics aggravate apoptosis of primary rat cardiomyocytes induced by LPS ($P < 0.05$). This may be related to the further upregulation of caspase3 and bax expression through miR-199a mimetics and downregulation of bcl2 expression (LPS) induced the activation of the NF- κB pathway in primary rat cardiomyocytes, which was specifically manifested by upregulation of p- $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ and p-p65 expression. However, compared with the LPS group, p-p65 and p- $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ were more upregulated after treatment with the mimics. After blocking miR-199a, expression of p-p65 and p- $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ was downregulated compared with the mimic group. These findings indicate that treatment with mimics aggravate activation of the NF- κB signaling pathway in LPS-induced myocarditis in vivo. Further use of NF- κB pathway inhibitors showed that miR-199a mimics did not exacerbate the inhibitory effect of LPS on primary rat cardiomyocytes, which further suggested that miR-199a exacerbates cardiomyocyte damage through the NF- κB pathway. **Conclusions** miR-199a aggravates damage of myocardial cells in myocarditis, which is mainly mediated through the NF- κB signaling pathway.

【Keywords】 miR-199a; NF- κB signaling pathway; myocarditis

心肌炎是一种炎症性心肌病,其特征主要表现在心肌细胞的水肿,变性和坏死^[1]。心肌病变时出现广泛的炎症浸润和氧化应激反应,最终导致恶性心律失常、心源性休克甚至心脏骤停。从病原微生物释放的许多内源性和外源性因子,如自身抗原,病毒和内毒素,可以激活免疫反应,从而促进炎症细胞因子短时间大量释放,并伴有大量的活性氧(ROS)^[2]的产生,它直接损害心脏功能,最终导致患者的死亡。另外除了病原生物感染外,败血症或败血症性休克也是一种潜在的致命疾病,与强烈的全身性炎症反应有关,最终可能导致心肌严重的炎症异常。脂多糖(LPS),也称为内毒素^[3],由细菌释放,促进促炎细胞因子,一氧化氮和类二十烷酸的分泌,导致脓毒性休克期间的中毒性心肌损伤。心肌炎细胞凋亡发生发展^[4]。

微小 RNA(miRNA)是由 18~25 个核苷酸组成的大型非编码小 RNA 家族。miRNA 在转录后调节其靶基因的降解和翻译^[5]。miRNA 参与炎症反应和自身免疫性疾病的发展,如类风湿性关节炎和多发性硬化^[6]。越来越多的证据表明 miRNA 参与心

肌细胞凋亡的调控过程。例如,miR-101 和 miR-29b 均靶向 Mcl-1 以防止细胞凋亡,而 miR-499a 通过抑制组蛋白脱乙酰酶 8 的表达而损害肌细胞存活。此外,miR-34a 通过下调 SIRT1 的表达和诱导 p53 途径诱导细胞凋亡,而 miR-16 通过靶标参与细胞活力和凋亡。细胞凋亡是一种程序性细胞死亡,是体内组织更新和器官发育的重要生物学过程,也可诱导病理生理变化^[7]。例如,心肌细胞凋亡可能导致不可逆的心肌损伤,因此参与多种病理过程,从而导致各种心血管疾病,包括心肌炎、心力衰竭(HF)等。因此,人们普遍认为抑制细胞凋亡可以改善心脏组织中的病理变化并有益于改善各种心脏疾病中的心脏功能^[8]。

最近的研究显示^[9],与对照心脏相比,大鼠心脏衰竭模型中 miRNA 的表达具有差异性,发现上调的 miRNA 有 79 种,28 种 miRNA 下调。然而在那些上调的 miRNA 中,发现与对照心脏相比,衰竭心脏中 miR-199a 的表达高 3.4 倍。这些发现都表明 miRNA 在心脏稳态中的潜在作用。最近的研究表明 miR-199a 可以通过抑制自噬和促进细胞凋亡来

破坏血管内皮细胞,从而加重原发性高血压。另外近来的研究发现抑制 miR-199a 对于心肌纤维化具有重要的作用。心肌炎是临床的发病临床较高的疾病,因此我们把焦点集中在 miR-199a 对于心肌炎的作用上。这对于研究 miR-199a 对于心肌炎损伤的作用具有重要的意义。

1 材料和方法

1.1 实验动物

60 只成年的 SPF 级 Wistar 大鼠购买于首都医科大学实验动物科学部[SCXK(京)2018-0019],月龄为 2~3 个月,性别不限,体重 240~260 g。无菌手术在河南科技大学第一附属医院实验设施进行[SYXK(豫)2017-0011]。实验获得我院伦理委员会审批([201810]号),并按实验动物使用的 3R 原则予以人道的关怀。

1.2 主要试剂与仪器

miR-199a mimic (模拟物)、miR-199a inhibitor (抑制剂)购自于锐博;凋亡检测试剂盒(货号:FA101)试剂盒购自于全式金生物;p65 抗体(货号:8242T)、P65 抗体(货号:3033T)、 κ Ba (货号:4814T)、p- κ Ba (货号:2859T)抗体,以上抗体均购自于 CST 公司。酶标仪购自于 INFINITE; Western blot 实验转膜仪、电泳仪等购自于伯乐;Evodiamine 购自于 Selleck。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠心肌细胞的提取

无菌条件下使用无菌剪取大鼠心室肌组织,将提取的组织放于 D-Hank 液中,并清洗去除血细胞;随后将组织剪成小块,转移至 50 mL 离心管中,静止 2 min 弃上清,加入 10 mL 0.1%的胰酶,用无菌吸管将组织吹匀并放入 37℃ 水浴锅中。水浴加热消化 15 min,每 3 min 混匀 1 次。弃上清。重复 2 次;随后按上述重新加入 0.1%胰酶 10 mL,消化 15 min,后加入含 10% FBS 的培养基终止消化并收集上清液。重复上述消化、收集细胞、终止消化等步骤 5 次,至组织变成白色。将收集的上清液按 800 r/min 离心,并用含 10% FBS 的 DMEM 培养基重悬。随后培养并进行鉴定,发现纯度>98%。

1.3.2 实验分组

将大鼠原代心肌细胞分为对照组 (NC)、LPS 组、LPS+miR-199a mimic 组、LPS+miR-199a inhibitor 组;LPS 诱导剂量为 10 μ g/mL。

1.3.3 CCK8 法检测各组心肌细胞的活力水平

实验分组同前,每孔铺 8000 个细胞,每组各 8 个副孔。细胞贴壁后进行模拟物及抑制剂干预,干预 8 h 后进行 LPS 处理,24 h 后进行 CCK8 实验检测大鼠原代心肌活力水平。

1.3.4 Western blot 法检测各组蛋白表达

将大鼠原代心肌细胞分为对照组 (NC)、LPS 组、LPS+miR-199a mimic 组、LPS+miR-199a inhibitor 组。各组每皿铺 8×10^5 个细胞。待细胞贴壁后进行 miR-199a 模拟物或抑制剂处理。干预处理 8 h 后进行 LPS 干预,24 h 后裂解液进行裂解,提取蛋白。随后进行蛋白凝胶电泳及显像分析。

1.3.5 RT-qPCR 法检测各组大鼠原代心肌细胞中 miR-199a 情况

运用 TRIzol 法提取大鼠原代心肌细胞中的总 RNA,随后进行逆转录。逆转录体系为 20 μ L:1 μ L 总 RNA,4 μ L 5 $\times$ Reaction Mix,2 μ L 10 $\times$ Super Script Enzyme Mix,20 μ L 双蒸水,轻轻混匀后离心。随后在 37℃ 下 60 min,95℃ 下 5 min 下进行逆转录。逆转录完成后,随后进行 qPCR,总体积 50 μ L:1 μ L cDNA,2 μ L Mix,上下游引物各 2 μ L,ddH₂O 补足至 50 μ L;反应条件:95℃,预变性 5 min;95℃,变性 30 s,67℃,延伸 15 s,共 40 个循环。基因的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行计算。

引物序列如下:

β -actin 上游序列:5'-CATTGCTGACAGGATGCAGAAGG-3';下游序列:5'-TGCTGGAAGGTGGACACTGAGG-3';miR-199a 上游序列:5'-CCAGTGTTCAGACTACC-3',下游序列:5'-GAACATGTCTGCGTATCTC-3';

1.3.6 流式细胞仪测定各组大鼠原代心肌细胞凋亡差异

实验分组同前。1、细胞铺板,6 孔板每孔铺 2×10^5 个细胞。贴壁后进行相应处理。2、LPS 处理 24 h 后进行凋亡检测,收集培养液上清,终止消化后,3000 r/min 离心。随后弃上清,用 100 μ L AV Buffer 重悬细胞,重悬后按 1:10 的比例加入 Annexin V-FITC 进行常温孵育 20 min,上机前加入碘化丙啶进行染色。

1.3.7 ELISA 法测各组中 TNF- α 和 IL-1 β 含量

根据 ELISA 试剂盒 (Invitrogen, CA, USA) 操作指导,取大鼠原代心肌细胞上清液检测 TNF- α 和 IL-1 β 的水平。用酶标仪 (BioTek PowerWave XS,

Winooski, VT, USA) 在 450 nm 的波长下测定标准品和样品。每个实验重复 3 次。

1.3.8 抑制 NF- κ B 通路研究 miR-199a 对于 LPS 诱导后心肌细胞的影响。

实验分为对照组 (con)、LPS 组、LPS+miR-199a mimic 组、LPS+miR-199a mimic+Evodiamine 组, 利用 NF κ B 信号通路抑制剂 Evodiamine, 研究其对于 miR-199a 处理后细胞的作用。

1.4 统计学方法

统计学分析结果使用 SPSS 18.0 软件分析。计量资料以平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-199a 抑制了心肌炎时心肌细胞的活力

如图 1 所示, 为了研究 miR-199a 对于心肌炎时心肌细胞的活力作用。与对照组相比, LPS 抑制了大鼠原代心肌细胞的活力 ($P < 0.01$), 然而 LPS 诱导后经模拟物处理后, 大鼠原代心肌活力受抑制更加严重 ($P < 0.05$)。表明 miR-199a 在心肌炎中可能加重了心肌细胞的损伤, 同时, miR-199a 抑制剂组表明, 与模拟物相比, 抑制 miR-199a 后发现 LPS 诱导的大鼠原代心肌细胞活力受抑制降低 ($P < 0.01$)。

2.2 miR-199a 促进了心肌炎时心肌细胞炎症因子的释放

ELISA 结果如图 2 所示, 与 NC 组相比, LPS 诱导了 TNF- α 及 IL-1 β 的释放 ($P < 0.05$)。与 LPS 组

相比, miR-199a 模拟物组加重了 TNF- α ($P < 0.01$) 及 IL-1 β ($P < 0.05$) 的释放。然而, 经过 miR-199a 抑制剂处理后, TNF- α ($P < 0.01$) 及 IL-1 β ($P < 0.05$) 的释放减少。

2.3 miR-199a 加重了心肌炎时心肌细胞的凋亡

为了研究心肌炎时 miR-199a 在心肌细胞中的凋亡效应, 如图 3 所示, 流式凋亡结果表明, 与对照组相比, LPS 诱导了大鼠原代心肌细胞的凋亡 ($P < 0.01$), 应用 50 nmol/L 的 miR-199a 模拟物后, 与 LPS 组相比, 大鼠原代心肌细胞凋亡比例上调 ($P < 0.05$)。与模拟物相比, miR-199a 抑制剂组, 大鼠原代心肌细胞凋亡明显降低 ($P < 0.01$)。表明 miR-199a 可能通过影响凋亡来加重心肌炎的损伤。

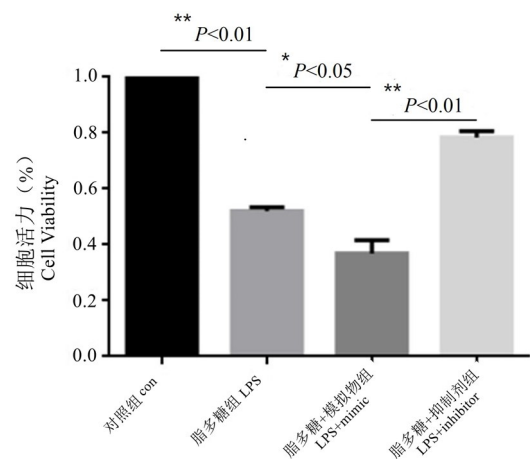


图 1 miR-199a 抑制了心肌炎时心肌细胞的活力

Figure 1 miR-199a inhibits cardiomyocyte proliferation during myocarditis

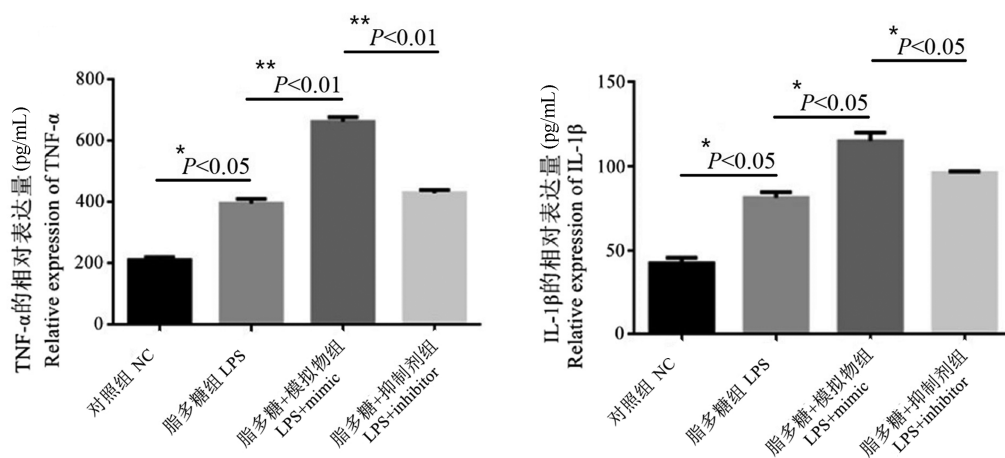


图 2 miR-199a 促进了心肌炎时心肌细胞炎症因子的释放

Figure 2 miR-199a promotes the release of inflammatory cytokines in myocarditis

2.4 miR-199a 上调了心肌炎时心肌细胞凋亡相关蛋白的表达

如图 4 所示与对照组相比, LPS 诱导组凋亡相关蛋白变化。LPS 诱导后, caspsse3、bax 表达上调, bcl2 表达下调。表明 LPS 诱导了心肌细胞的凋亡。然而, 模拟物组加重了 LPS 诱导的凋亡蛋白的变化。与此同时, 抑制 miR-199a 后发现, 与模拟物组相比, 凋亡蛋白 caspsse3、bax 表达下调, bcl2 表达上调。这表明 miR-199a 加重了心肌细胞的损伤。

2.5 miRNA-199a 加重了 LPS 诱导的 NF- κ B 通路的激活

如图 5 所示, 与对照组相比, LPS 诱导了大鼠原代心肌细胞 NF- κ B 通路的激活, 具体表现为 p-ikBa

与 p-p65 表达的上调。但与 LPS 组相比, 在模拟物处理后, p-p65 和 p-ikBa 上调更加明显。与此同时, 阻断 microRNA 表达后, 与模拟物组相比, p-p65 和 p-ikBa 表达下调。这些发现表明用模拟物处理可以加重体内 LPS 诱导的心肌炎中 NF- κ B 信号传导途径的激活。

2.6 抑制 NF- κ B 通路缓解 miR-199a 对于 LPS 诱导的细胞的损伤

如图 6 所示, 利用 NF- κ B 通路抑制剂 Evodiamine, 发现与模拟物组相比, 应用 Evodiamine 干预后, 大鼠原代心肌细胞活力下降 ($P < 0.01$), 这进一步说明, miR-199a 可加重心肌炎时心肌细胞的损伤, 这种损伤主要通过 NF- κ B 信号通路来实现的。

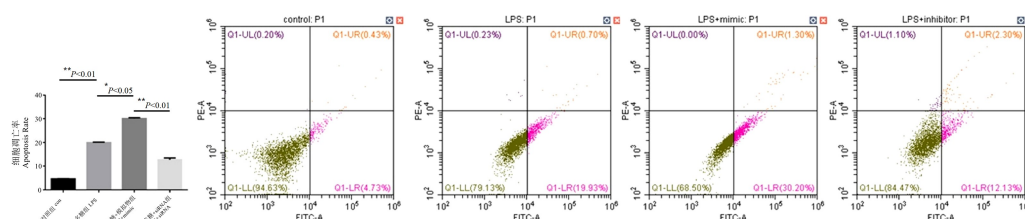


图 3 miR-199a 加重了心肌炎时心肌细胞的凋亡

Figure 3 miR-199a aggravates cardiomyocyte apoptosis in myocarditis

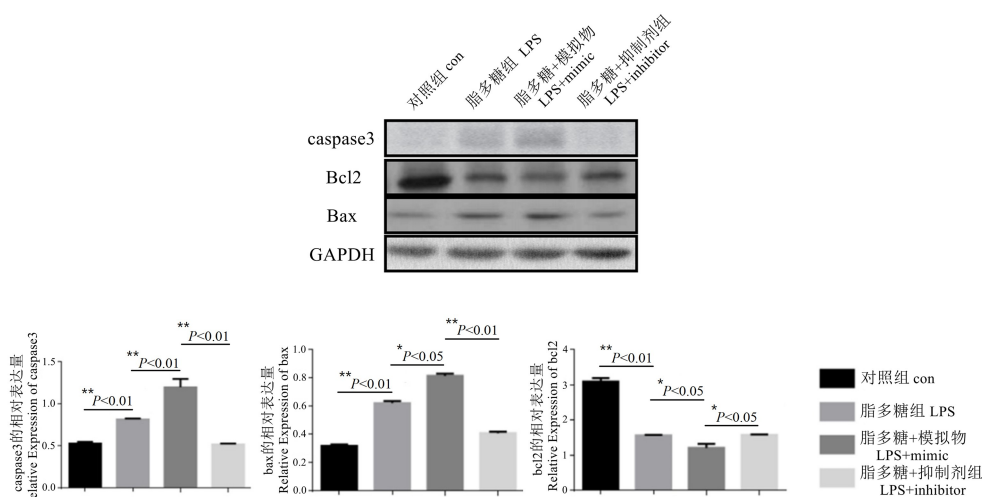


图 4 miR-199a 上调了心肌炎时心肌细胞凋亡相关蛋白的表达

Figure 4 miR-199a up-regulates the expression of cardiomyocyte apoptosis-related proteins in myocarditis

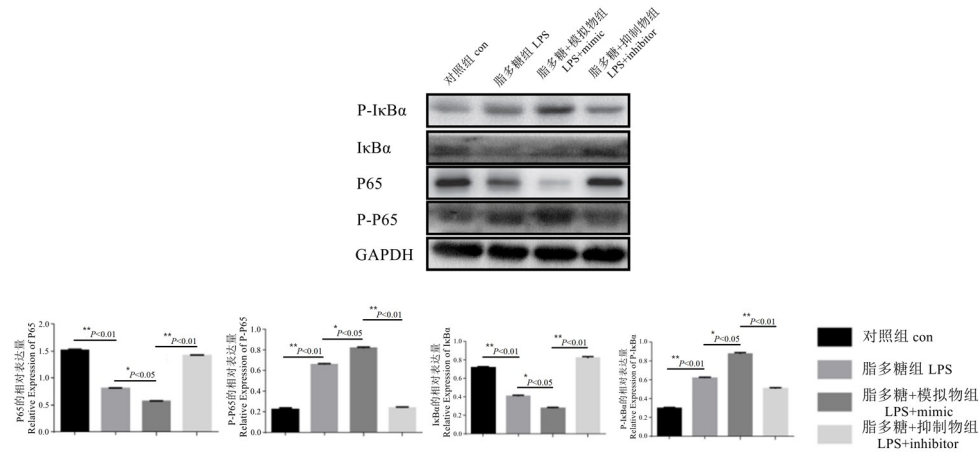


图 5 miR-199a 加重了 LPS 诱导的 NF-κB 通路的激活

Figure 5 miR-199a aggravates the activation of LPS-induced NF-κB pathway

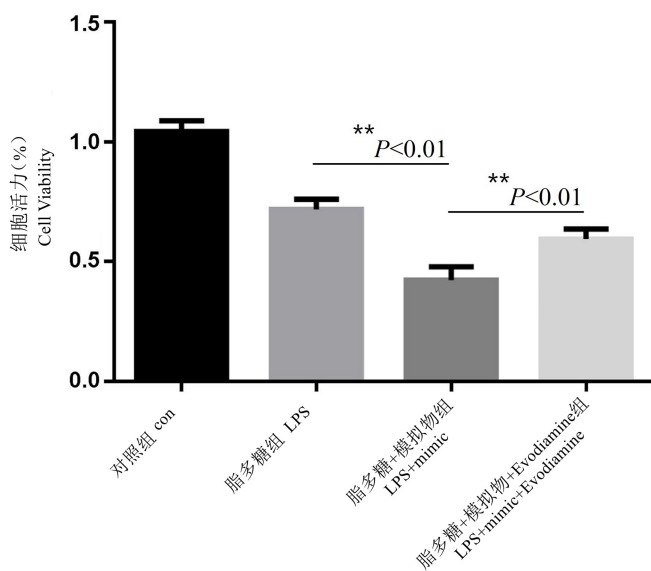


图 6 抑制 NF-κB 通路缓解 miR-199a 对于 LPS 诱导的细胞的损伤

Figure 6 Inhibition of NF-κB pathway alleviates miR-199a damage to LPS-induced cells

3 讨论

目前关于心肌炎的发生发展机制尚未明确,但抑制心肌细胞凋亡来延缓心肌炎的进展已经成为共识^[10]。NF-κB 是一核转录因子可被 LPS 诱导的 TLR2 信号通路所激活。其由 Rel、P65、RelB、P50、P52 五个亚基构成^[11]。在未激活的前提下,NF-κB 与 IκK(IκB 激酶复合体)相结合,因此处于失活的状态。因此 IκK 是激活 NF-κB 信号传导通路的主要环节。其激活分为经典途径与非经典途径两种方式。经典途径为,当刺激激活 IκK 后,IκB 蛋白被

磷酸化,NF-κB 与 IκK 分离,失去抑制作用的 NF-κB 入核发挥生物学作用。在非经典途径中,P100 被降解为强活性的 P52,其与 RelB 相互作用入核发挥转录活性^[12]。综上 NF-κB 信号通路促进参与调节细胞转化,细胞凋亡和对多种刺激的反应的各种生物学过程,例如应激,细胞因子和自由基,其在调节免疫应答中起关键作用。然而,过度激活的 NF-κB 途径可能诱发持续和长期的系统性炎症,这是急性心肌病变的主要原因之一^[13]。有研究表明通过激活 Nrf2 / HO-1 途径抑制 NF-κB 信号通路后可减轻糖尿病引起心肌的氧化应激和炎性渗出^[14]。因此,阻断 NF-κB 通路的不当激活,特别是阻止转录因子 p65 的核转位,有助于阻断自身免疫系统的过度活化^[15]。NF-κB 通路的激活对于心肌细胞中促炎细胞因子的产生是必需的。MicroRNA-199a (miR-199a) 是一种新型基因调节因子,在炎症和损伤中扮演着重要作用。我们发现 MicroRNA-199a 被抑制后可靶向 SFRP5 来抑制心肌纤维化的进展^[16]。其前体基因位于染色体 1 和 19 上。经剪切后,它转化为成熟的 miR-199a-5p 和 miR-199a-3p。目前,miR-199a-5p 已得到更广泛的研究,揭示它与肿瘤细胞的活力,侵袭,迁移和自噬密切相关

在本研究中,我们通过 CCK8 实验发现 miR-199a 加重了心肌炎时大鼠原代心肌细胞的损伤,同时我们发现这种损伤可能是通过凋亡相关通路来实现的,这一结果都得到了流式凋亡及 Western blot 的支持,随后我们注意到 LPS 诱导的心肌细胞 NF-κB 信号通路得激活。然而,在 miR-199a mimic 组处理后,发现 miR-199a 促进了核转录因子的核转位。

与 LPS 组相比, miR-199a 引起 I κ B 与 p-I κ Ba 的失衡,进而导致 P65 的磷酸化进而导致 NF- κ B 的激活。从而加重了心肌炎时的炎症反应,加速了心肌细胞的凋亡。应用 Evodiamine 干预后,大鼠原代心肌细胞活力下降,因此 miR-199a 可能在心肌炎中进一步激活 NF- κ B 信号通路来加重心肌细胞的损伤。

参考文献:

- [1] Huang TF, Wu XH, Wang X, et al. Fas-FasL expression and myocardial cell apoptosis in patients with viral myocarditis [J]. Genet Mol Res, 2016, 15(2): 15027607.
- [2] Guo Y, Li Z, Shi C, et al. Trichostatin A attenuates oxidative stress-mediated myocardial injury through the FoxO3a signaling pathway [J]. Int J Mol Med, 2017, 40(4): 999-1008.
- [3] Wang R, Li D, Ouyang J, et al. Leonurine alleviates LPS-induced myocarditis through suppressing the NF- κ B signaling pathway [J]. Toxicology, 2019, 422: 1-13.
- [4] Mughal W, Dhirga R, Kirshenbaum LA. Striking a balance: autophagy, apoptosis, and necrosis in a normal and failing heart [J]. Curr Hypertens Rep, 2012, 14(6): 540-547.
- [5] Vo DT, Karanam NK, Ding L, et al. miR-125a-5p functions as tumor suppressor microRNA and is a marker of locoregional recurrence and poor prognosis in head and neck cancer [J]. Neoplasia, 2019, 21(9): 849-862.
- [6] Vegter EL, Ovchinnikova ES, van Veldhuisen DJ, et al. Low circulating microRNA levels in heart failure patients are associated with atherosclerotic disease and cardiovascular-related rehospitalizations [J]. Clin Res Cardiol, 2017, 106(8): 598-609.
- [7] Sang Y, Gu X, Pan L, et al. Melatonin ameliorates coxsackievirus B3-induced myocarditis by regulating apoptosis and autophagy [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 1384.
- [8] Abbate A, Sinagra G, Bussani R, et al. Apoptosis in patients with acute myocarditis [J]. Am J Cardiol, 2009, 104(7): 995-1000.
- [9] Yan M, Yang S, Meng F, et al. microRNA 199a-5p induces apoptosis by targeting JunB [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 6699.
- [10] Ouyang H, Zhong J, Lu J, et al. T. Inhibitory effect of melatonin on Mst1 ameliorates myocarditis through attenuating ER stress and mitochondrial dysfunction [J]. J Mol Histol, 2019, 50(5): 405-415.
- [11] Xue YL, Zhang SX, Zheng CF, et al. Silencing of STAT4 protects against autoimmune myocarditis by regulating Th1/Th2 immune response via inactivation of the NF- κ B pathway in rats [J]. Inflammation, 2019, 42(4): 1179-1189.
- [12] Li M, Gou Y, Yu H, et al. Mechanism of metformin on LPS-Induced bacterial myocarditis [J]. Dose Response, 2019, 17(2): 1559325819847409.
- [13] Sun J, Sun J, Zhou X. Protective functions of myricetin in LPS-induced cardiomyocytes H9c2 cells injury by regulation of MALAT1 [J]. Eur J Med Res, 2019, 24(1): 20.
- [14] Li H, Shi Y, Wang X, et al. Piceatannol alleviates inflammation and oxidative stress via modulation of the Nrf2/HO-1 and NF- κ B pathways in diabetic cardiomyopathy [J]. Chem Biol Interact, 2019, 310: 108754.
- [15] Liu T, Zhang M, Niu H, et al. Astragalus polysaccharide from Astragalus Melittin ameliorates inflammation via suppressing the activation of TLR-4/NF- κ B p65 signal pathway and protects mice from CVB3-induced virus myocarditis [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 126: 179-86.
- [16] Chen MH, Liu JC, Liu Y. MicroRNA-199a regulates myocardial fibrosis in rats by targeting SFRP5 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(9): 3976-3983.

[收稿日期] 2020-03-09