

miR-223-3P 通过抑制 NLRP3 炎性小体的活化减轻心肌细胞损伤^{*}

赵景宏¹ 刘涛¹ 乔彦² 张荣驿¹ 邓建平¹ 王浩宇¹

(南充市中心医院 1. 心内科; 2. 内分泌科, 四川 南充 637000)

【摘要】 目的 探讨 miR-223-3P 通过抑制 NLRP3 炎性小体活化保护心肌细胞及其潜在的作用机制。方法 体外培养小鼠 H9c2 细胞, 建立硫酸吡啶酚(IS)诱导的 H9c2 细胞损伤模型。根据不同实验内容进行分组。CCK8 法测定 H9c2 细胞活力; Western blot 检测蛋白表达水平; RT-qPCR 检测 miR-223-3P 和天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 (caspase-1)mRNA 表达水平; 生物信息学数据库和荧光素酶报告法分析 miR-223-3P 和 NLRP3 之间的相互作用; Elisa 检测白介素 1- β (Interleukin1- β , IL-1 β)表达水平。结果 与空白对照组和阴性对照组相比, IS 组细胞活力降低, miR-223-3p 表达水平降低($P < 0.05$)。miR-223-3p 可靶向结合 NLRP3 并负调控 NLRP3。过表达 miR-223-3P 可增强 H9c2 细胞活力, 下调 caspase-1 和 IL-1 β 表达水平($P < 0.05$), 但是过表达 NLRP3 可逆转上述结果。结论 在 H9c2 心肌细胞损伤模型中, miR-223-3P 通过 NLRP3 炎性小体通路抑制炎症, 增强细胞活力。

【关键词】 微小 RNA-223-3p; 心肌细胞; NLRP3 炎性小体

【中图分类号】 R542.2 **【文献标志码】** A **DOI:** 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 02. 010

miR-223-3P alleviates myocardial injury by inhibiting activation of the NLRP3 inflammasome

ZHAO Jinghong¹, LIU Tao¹, QIAO Yan², ZHANG Rongyi¹, DENG Jianping¹, WANG Haoyu¹

(1. Department of cardiology, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China;

2. Department of Endocrinology, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 **Objective** The study was designed to ascertain whether miR-223-3P protect the myocardium through inhibiting activation of NLRP3(NLR family pyrin domain containing 3) inflammasome, and the underlying mechanisms. **Methods** Mouse cardiomyocytes H9c2 were cultured in vitro, an cell injury model in H9c2 was induced with indoxyl sulfate(IS). Grouped according to different experimental contents. Cardiomyocytes H9c2 vitality was measured by CCK8 method. Protein expression levels was analyzed by Western blot. miR-223-3P and caspase-1 mRNA expression levels was analyzed by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-qPCR). Biological database and the luciferase reporter assay evaluated the interaction between NLRP3 and miR-223-3p. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) measured IL-1 β expression. **Results** Compared with the Blank group and negative control group, the cell activity decreased, and miR-223-3p levels were reduced($P < 0.05$). miR-223-3p can target to bind NLRP3 and negatively regulate NLRP3 expression. Overexpression of miR-223-3p enhanced H9c2 cell viability, and downregulated the expression levels of caspase-1 and IL-1 β ($P < 0.05$), but the overexpression of NLRP3 reversed these findings. **Conclusion** In the cardiomyocytes H9c2 injury model, miR-223-3p suppressed inflammation and enhanced cell viability through NLRP3 inflammasome pathway.

【Key words】 MicroRNA-223-3p; Cardiomyocytes; NLRP3 inflammasome

基金项目:南充市市校合作项目(NSMC20170311,18SXHZ0446)

通信作者:刘涛, E-mail: nclt456@sina.com

引用本文:赵景宏,刘涛,乔彦,等. miR-223-3P 通过抑制 NLRP3 炎性小体的活化减轻心肌细胞损伤[J]. 西部医学, 2022, 34(2): 205-210. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 02. 010

心血管疾病 (Cardiovascular disease, CVD) 是慢性肾脏病 (Chronic kidney disease, CKD) 最常见的并发症, 是慢性肾脏病患者的主要死亡原因。然而, 心脏疾病和肾脏疾病相互作用的具体机制仍不清楚^[1-4]。硫酸吲哚酚 (IS) 是一种尿毒症毒素, 其在体内的累积与肾功能下降有关。尤其是晚期 CKD 患者血清中 IS 水平的增高与患者预后及 CVD 事件的风险明显相关^[5-6]。研究证实 IS 参与动脉粥样硬化的发生发展, 因为它可以通过增强氧化应激导致血管内皮细胞功能紊乱^[7]。此外体外研究也显示 IS 可通过激活丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 和 NF- κ B (Nuclear factor- κ B) 信号通路促进心肌细胞肥大^[8-9]。

MicroRNA (miRNA) 是一种高度保守的非编码 RNA, 可通过与靶基因 3'-非编码区 (3' UTR) 特异性结合调节基因表达, 导致翻译抑制或靶基因 mRNA 降解。miRNA 已被证实存在于心血管疾病包括心肌梗死、心肌肥大和心肌缺血再灌注中发挥重要作用^[10-13]。然而, 由于 miRNA 可调节多个潜在靶基因, 所以许多 miRNA 在心血管疾病中的作用还有待明确。既往研究表明过表达 miR-223-3p 可减轻缺血/再灌注诱导的心肌细胞损伤, 促进心脏功能的恢复, 然而其具体作用机制尚不清楚^[14]。本研究探讨 miR-223-3p 在 IS 诱导的 H9c2 细胞中的表达, 对细胞活力的影响及其作用机制, 以期对心血管疾病的治疗提供新的作用靶点。

1 材料与方 法

1.1 细胞培养与 H9c2 细胞损伤模型的建立 H9c2 细胞购自美国菌种保藏中心 (Manassas, VA, USA)。H9c2 细胞在含有 5% CO₂ 和 95% 潮湿空气环境中培养, 室温为 37℃。培养基为含有 10% 胎牛血清 (Gibco, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)、100 μ g/mL 链霉素和 100 单位/mL 青霉素的 DMEM 培养基。H9c2 细胞损伤模型建立如下: 设空白对照组 (不作任何处理) 和不同浓度 IS 组 (浓度分别为 50、100、200、400、800 μ mol/L), 培养 24 h 后检测细胞活力。结果表明 IS 浓度为 400 μ mol/L 时细胞相对活力最接近 50%, 因此后续实验 IS 组浓度选择 400 μ mol/L。

1.2 细胞转染 miR-223-3p mimic, miR-223-3p mimic NC, NLRP3 过表达载体 pcDNA-NLRP3 和空载体 NLRP3 NC 由 GenePharma 公司合成 (Shanghai, China)。根据制造商的说明, 用转染试剂 Lipofectamine 3000 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 将其转染到六孔板中的 H9c2 细胞。培养 6~8 h 后, 用含有 10% FBS 的新鲜 DMEM 替换培养基再进行后续实验。

1.3 CCK8 H9c2 细胞以每孔 5000 个细胞的密度种植在 96 孔板, 适当处理后混合 10 μ L CCK-8 溶液和 90 μ L 无血清 DMEM, 室温下孵育 2 h。根据制造商的说明, 用 CCK-8 法 (Shanghai Beyotime Biotechnology, Shanghai, China) 测定细胞活力。然后用微孔板读取器在 450 nm 波长处检测光密度 (OD) 值。根据不同实验内容进行不同分组, 检测 IS 对细胞活力的影响时分为空白对照组 (不作任何处理), 阴性对照组 (加入生理盐水) 和 IS 组。检测 miR-223-3p 对细胞活力的影响时分为空白对照组 (不作任何处理)、阴性对照组 (miR-223-3p NC) 和 miR-223-3p 过表达组 (miR-223-3p mimic)。检测 NLRP3 对细胞活力的影响时分为空白对照组 (不作任何处理)、阴性对照组 (NLRP3 NC) 和 NLRP3 过表达组 (pcDNA-NLRP3)。检测 miR-223-3p 通过调控 NLRP3 增强细胞活力时分为空白对照组, 阴性对照组 (miR-223-3p NC), miR-223-3p 过表达组 (miR-223-3p mimic) 和 miR-223-3p 过表达 + NLRP3 过表达组 (miR-223-3p mimic + pcDNA-NLRP3)。

1.4 RT-qPCR 使用 Trizol 试剂 (Invitrogen; Thermo Fisher Scientific, Inc) 从 H9c2 细胞中提取总 RNA, 并用 nanodrop (nanodrop Technologies; Thermo Fisher Scientific, Inc.) 测定 RNA 浓度。根据制造商的说明使用 5X all-in-one rT MasterMix 试剂盒 (abmgoodchina inc.) 将总 RNA 逆转录为 cDNA, 然后使用 evagreen 2X qPcr MasterMix-low rox 试剂盒在 aBi 7500PCR 检测系统上进行检测。引物序列如下: $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法评价基因相对表达水平。miR-223-3P: F: 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3', R: 5'-CGGGCTGTCAGTTGTCA-3'; Caspase-1: F: 5'-GCCTTGCCCTCATAATCT-3', R: 5'-ACATCTGGGACTTCTTCG-3'。检测 IS 对 miR-223-3P 表达的影响, 分组如下: 空白对照组 (不作任何处理), 阴性对照组 (加入生理盐水) 和 IS 组。

1.5 Western blot 培养的 H9c2 细胞在 RIPA (Beyotime institute of Biotechnology) 裂解缓冲液中裂解, 通过 BCA 法 (Beyotime institute of Biotechnology) 检测总蛋白浓度。含有 50 μ g 的蛋白样品在 6%~10% SDS-PAGE 凝胶上电泳分离, 再将蛋白转移至聚偏氟乙烯膜上。室温下用 5% 脱脂牛奶在 TBS-0.05% Tween-20 溶液中封闭 1 h, 然后在 4℃ 下加 NLRP3 一抗 (1:1000 稀释; cat. no. ab98151) 培养过夜。用 PBS 液洗涤 3 次, 加二抗孵育 2 h。蛋白质的表达用增强化学发光法和 Tanon-5200 化学发光成像仪进行检测。检测了 miR-223-3p 对 NLRP3 蛋白表达的影响。

响,分组如下:空白对照组(不作任何处理)和 miR-223-3p 过表达组(miR-223-3p mimic)。

1.6 荧光素酶报告分析法 荧光素酶报告质粒 psiCHECK- NLRP3-3'-UTR 野生型(WT)和 psiCHECK- NLRP3-3'-UTR 突变型(MUT)由上海基因制药有限公司构建,在 NLRP3 的 3'-UTR 中含有野生型和突变型 miR-223-3p 结合位点,通过 Lipofectamine 3000 转染到 H9c2 细胞。24 H 后使用 Nano-Glo Promega 荧光素酶报告系统(Promega, Madison, WI, USA)检测荧光素酶活性。分组如下:阴性对照组(NC,加入生理盐水)和 miR-223-3p 过表达组(miR-223-3p,转染 miR-223-3p mimic)。

1.7 ELISA 法 采用酶联免疫吸附法检测 H9c2 细胞上清液中 Caspase-1 和 IL-1 β 的表达水平。根据制造商的说明采用 Elisa 试剂盒(R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)进行检测,使用微孔板读取器在 450nm 处测定 OD 值。检测 miR-223-3p 对 Caspase-1 和 IL-1 β 表达水平的影响时分为空白对照组(不作任何处理),阴性对照组(miR-223-3p 无义序列组)和 miR-223-3p 过表达组(miR-223-3p mimic)。检测 NLRP3 对 caspase-1 和 IL-1 β 表达的影响时分为空白对照组(不作任何处理)、阴性对照组(NLRP3 NC)和 NLRP3 过表达组(pcDNA-NLRP3)。检测 miR-223-3p 通过 NLRP3 调控 caspase-1 和 IL-1 β 表达时分为空白对照组(不作任何处理),阴性对照组(miR-223-3p NC),miR-223-3p 过表达组(miR-223-3p mimic)和 miR-223-3p 过表达 + NLRP3 过表达组(miR-223-3p mimic + pcDNA-NLRP3)。

1.8 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。数据以均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 Student's *t* 检验,多组比较采用方差分析(ANOVA)和 Student-NewmanKeuls(SNK)*q* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IS 对细胞活力的影响 与空白对照组(0.99 ± 0.03)相比,不同浓度的 IS(50、100、200、400、800 $\mu\text{mol/L}$)对 H9c2 细胞活力均有抑制作用(分别为 0.87 ± 0.03 、 0.79 ± 0.03 、 0.67 ± 0.04 、 0.51 ± 0.04 、 0.43 ± 0.04)。因为 IS 浓度为 400 $\mu\text{mol/L}$ 时细胞相对活力最接近 50%,故后续选用这个浓度作为 H9c2 细胞损伤造模浓度,见图 1。

2.2 miR-223-3P 在各组中的表达 RT-qPCR 检测各组 H9c2 细胞中 miR-223-3P 表达水平,结果显示和空白对照组(0.98 ± 0.04)及阴性对照组(0.97 ± 0.03)

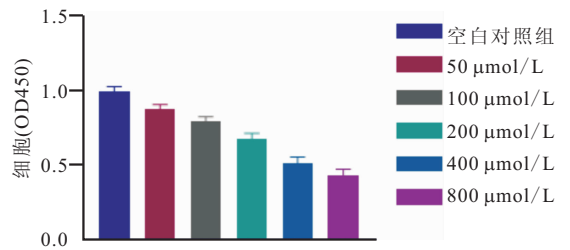


图 1 IS 对细胞活力的影响

Figure 1 Effect of IS on cell viability

相比,IS 组细胞 miR-223-3P 表达水平明显降低(0.69 ± 0.04),差异有统计学意义($P<0.05$),空白对照组和阴性对照组中 miR-223-3P 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),见图 2。

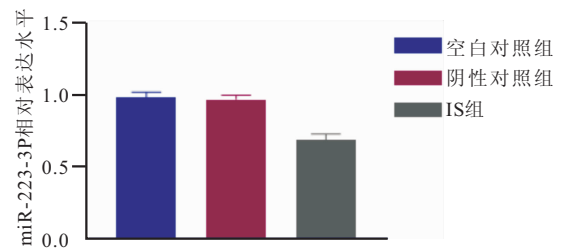


图 2 miR-223-3p 在各组中的表达水平

Figure 2 The expression level of miR-223-3p in each group

2.3 各组细胞中细胞活力表达水平 与空白对照组和阴性对照组相比,IS 组中 H9c2 细胞活力明显降低(分别为 0.97 ± 0.03 、 0.95 ± 0.04 、 0.52 ± 0.04),差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3。

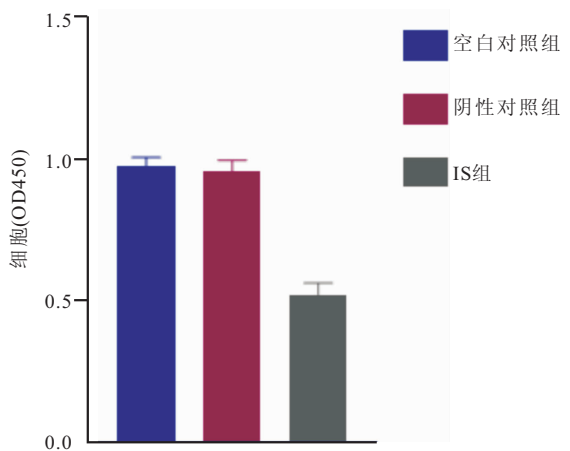


图 3 各组细胞活力水平

Figure 3 Cell viability in each group

2.4 miR-223-3p 可靶向结合 NLRP3 通过生物信息学数据库 Targetscan (http://www.targetscan.org/vert_71/)发现 NLRP3 存在与 miR-223-3p 结合位点,进一步通过双荧光素酶实验证实 miR-223-3p 可与 NLRP3 靶向结合,见图 4、图 5。

Position 406-412 of NLRP3 3' UTR	Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type
5' ...CGCUAUCUUCUUAUAACUGACC...		7mer-m8
3' hsa-miR-223-3p	ACCCCAATAAACUGU-UUGACUGU	

图 4 miR-223-3p 与 NLRP3 结合位点

Figure 4 miR-223-3p and NLRP3 binding sites

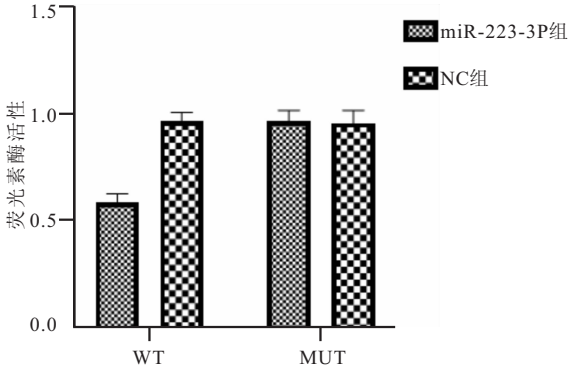


图 5 相对荧光素酶活性测定

Figure 5 Relative luciferase activity determination

2.5 miR-223-3p 负调控 NLRP3 表达 Western blot 结果显示,与空白对照组相比,miR-223-3p mimic 组中 NLRP3 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05$),证实 miR-223-3p 可负调控 NLRP3 蛋白表达,见图 6。

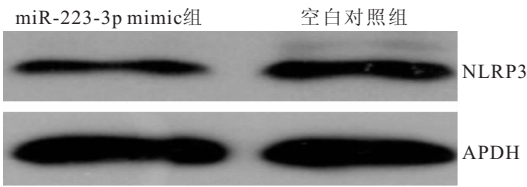


图 6 miR-223-3p 对 NLRP3 蛋白表达的影响

Figure 6 Effect of miR-223-3p on NLRP3 protein expression

2.6 过表达 miR-223-3p 对细胞活力的影响 将添加 IS 的 H9c2 细胞分为空白对照组、阴性对照组 (miR-223-3p NC) 和 miR-223-3p 过表达组,CKK8 检测细胞活性,结果显示与空白对照组 (0.52 ± 0.05) 和阴性对照组相比 (0.54 ± 0.06),miR-223-3p 过表达组 (0.71 ± 0.06) 细胞活性明显增强,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 7。

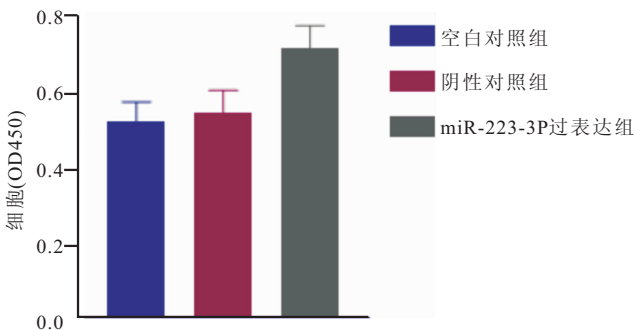


图 7 miR-223-3p 对细胞活力的影响

Figure 7 Effect of miR-223-3p on cell viability

2.7 过表达 miR-223-3p 对 caspase-1 和 IL-1 β 表达的影响 Elisa 结果显示,和空白对照组及阴性对照组 (miR-223-3p 无义序列组) 相比,miR-223-3p 过表达组中 caspase-1 和 IL-1 β 表达水平均明显降低 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组细胞中 caspase-1 和 IL-1 β 水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The levels of caspase-1 and IL-1 β in each group

组别	caspase-1	IL-1 β (ng/L)
空白对照组	0.98 \pm 0.04	440.42 \pm 11.22
阴性对照组	0.96 \pm 0.03	447.68 \pm 10.72
miR-223-3P 过表达组	0.65 \pm 0.04	280.60 \pm 8.29

2.8 过表达 NLRP3 对细胞活力的影响 将添加 IS 的 H9c2 细胞分为空白对照组、阴性对照组 (NLRP3 NC) 和 NLRP3 过表达组,细胞活力检测结果显示与空白对照组 (0.57 ± 0.08) 和阴性对照组相比 (0.55 ± 0.06),NLRP3 过表达组 (0.31 ± 0.05) 中 H9c2 细胞活力明显降低 ($P < 0.05$),见图 8。

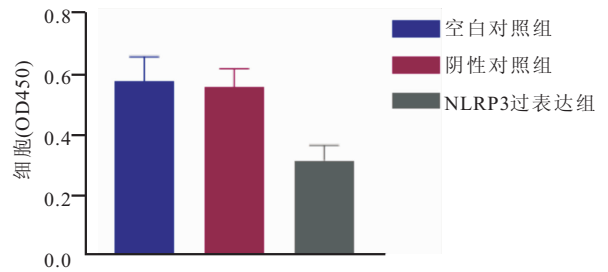


图 8 NLRP3 对细胞活力的影响

Figure 8 Effect of NLRP3 on cell viability

2.9 过表达 NLRP3 对 caspase-1 和 IL-1 β 表达的影响 与空白对照组及阴性对照组 (NLRP3 NC) 相比,过表达 NLRP3 可明显增强 H9c2 细胞中 caspase-1 和 IL-1 β 表达水平 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 各组细胞中 caspase-1 和 IL-1 β 水平

Table 2 The levels of caspase-1 and IL-1 β in each group

组别	caspase-1	IL-1 β (ng/L)
空白对照组	0.97 \pm 0.07	432.07 \pm 8.75
阴性对照组	0.94 \pm 0.07	441.87 \pm 9.65
NLRP3 过表达组	1.78 \pm 0.08	663.58 \pm 17.15

2.10 miR-223-3p 通过调控 NLRP3 增强细胞活力 与空白对照组 (0.50 ± 0.07) 和阴性对照组 (0.48 ± 0.08) 相比,miR-223-3p 过表达组 (0.70 ± 0.06) 中细胞活力明显增强 ($P < 0.05$),但是与 miR-223-3p 过表达组相比,miR-223-3p 过表达 + NLRP3 过表达组 (0.59 ± 0.06) 中细胞活力则有所降低 ($P < 0.05$),说明 miR-223-3p 通过抑制 NLRP3 表达增强细胞活力,见图 9。

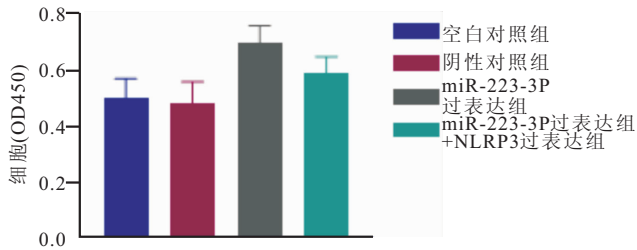


图 9 miR-223-3p 通过调控 NLRP3 增强细胞活力

Figure 9 miR-223-3p enhances cell viability by regulating NLRP3

2.11 miR-223-3p 通过调控 NLRP3 抑制 caspase-1 和 IL-1 β 表达 与空白对照组和阴性对照组相比, miR-223-3p 过表达组中 caspase-1 和 IL-1 β 表达水平明显降低 ($P < 0.05$), 但与 miR-223-3p 过表达组相比, miR-223-3p 过表达 + NLRP3 过表达组中 caspase-1 和 IL-1 β 表达水平则有所增高 ($P < 0.05$), 证实 NLRP3 可逆转 miR-223-3p 对 caspase-1 和 IL-1 β 表达的抑制作用, 见表 3。

表 3 各组细胞中 caspase-1 和 IL-1 β 水平Table 3 The levels of caspase-1 and IL-1 β in each group

组别	caspase-1	IL-1 β (ng/L)
空白对照组	0.93 \pm 0.08	438.53 \pm 8.35
阴性对照组	0.96 \pm 0.06	432.92 \pm 15.34
miR-223-3p 过表达组	0.63 \pm 0.07	276.95 \pm 9.89
miR-223-3p 过表达 + NLRP3 过表达组	0.82 \pm 0.05	335.23 \pm 12.59

3 讨论

有研究^[15]表明心血管疾病患者的心血管死亡率和全因死亡率与肾小球滤过率的下降相关, 然而慢性肾损害促进心血管疾病发生发展的作用机制非常复杂, 因此需要对其机制进行更深入系统的研究。

miRNA 在胚胎发育、增殖、血管生成、凋亡、细胞生长、分化和肿瘤发生等多种生物学过程中发挥重要作用。在心血管系统中, miRNA 还参与血管生成、心肌细胞收缩、脂质代谢与控制、斑块形成、心律失常和心肌细胞生长^[16]。既往研究发现 miR-223-3p 可减轻缺血/再灌注诱导的心肌损伤, 但是其在慢性肾脏病所致心血管疾病中的作用尚未见报道。本研究通过 IS 建立小鼠心肌 H9c2 细胞损伤模型, 发现与空白对照组和阴性对照组相比, IS 组中 miR-223-3p 表达水平明显降低, 但是过表达 miR-223-3p 可明显增强 H9c2 细胞活性, 减轻 IS 诱导的细胞损伤, 证实 miR-223-3p 对 IS 诱导的心肌 H9c2 细胞的保护作用。

本研究进一步探讨了 miR-223-3p 发挥心肌细胞保护作用的具体机制。结果显示 miR-223-3p 可能以 NLRP3 依赖的方式调控心肌细胞活性。NLRP3 炎性小体是一种细胞溶质蛋白复合物, 由 NLRP3、ASC (apoptosis-associated speck-like protein) 和 pro-caspase-1

组成。NLRP3 炎性小体是在一些内源性“危险信号”比如氧化应激、溶媒体失稳和线粒体功能障碍的刺激下组装形成的^[17]。研究表明 NLRP3 炎性小体的激活与多种炎症性疾病的发病机制密切相关^[18-19], 它可通过活化的 caspase-1 引起多种促炎细胞因子如 IL-1 β 和 IL-18 的成熟和分泌^[20]。而分泌的 IL-1 β 和 IL-18 可加重炎症, 最终导致细胞溶解和细胞焦亡^[21]。既往研究证实心肌缺血和心肌损伤常伴有严重的炎症反应^[22], 作为炎症反应的核心, NLRP3 炎性小体被认为是众多炎症性疾病的关键因子, 并且有研究证明抑制 NLRP3 信号通路对冠状动脉结扎引起的心肌缺血和损伤具有保护作用^[23]。研究结果表明过表达 NLRP3 可促进 caspase-1 和 IL-1 β 表达水平的增高并可导致 H9c2 细胞活性降低, 与既往研究结果相符。结果还发现过表达 miR-223-3p 可下调 caspase-1 和 IL-1 β 的表达水平, 为验证 miR-223-3p 是否通过 NLRP3 炎性小体通路调控细胞活性, 进行了功能回复实验, 结果显示与空白对照组和阴性对照组相比, miR-223-3p 过表达组中细胞活力明显增强, 但是与 miR-223-3p 过表达组相比, miR-223-3p 过表达 + NLRP3 过表达组中细胞活力则有所降低, 说明 NLRP3 可逆转 miR-223-3p 对细胞活力的增强作用, 发现与 miR-223-3p 过表达组相比, miR-223-3p 过表达 + NLRP3 过表达组中 caspase-1 和 IL-1 β 表达水平则有所增高, 证明 NLRP3 可逆转 miR-223-3p 对 caspase-1 和 IL-1 β 表达的抑制作用。上述结果证实 miR-223-3p 通过负调控 NLRP3 表达, 抑制炎性小体形成并下调 caspase-1 和 IL-1 β 的表达水平增强细胞活力。

4 结论

本研究结果发现, miR-223-3p 在 IS 诱导的 H9c2 细胞中的表达水平明显降低, 过表达 miR-223-3p 可明显增强 H9c2 细胞活力, miR-223-3p 可靶向结合 NLRP3 并负调控 NLRP3 表达, miR-223-3p 可能是通过调控 NLRP3 抑制 caspase-1 和 IL-1 β 表达从而增强 H9c2 细胞活力。本研究对慢性肾脏病相关心肌细胞损伤的病因和治疗提供了新的认识, 且加深了心肾相互作用机制的理解。但是本实验只做了细胞层面的研究, 还需要开展动物实验加以验证。

【参考文献】

- [1] BHOOMA VIJAYARAGHAVAN, GIRI PADMANABHAN, KUMARESAN RAMANATHAN. Determination of serum glycosylated albumin and high sensitivity C-reactive protein in the insight of cardiovascular complications in diabetic chronic kidney disease patients[J]. Afr Health Sci, 2020, 20(1): 308-313.
- [2] 马东红, 王志信, 吕玉敏, 等. 糖尿病肾脏疾病与其他慢性肾脏

疾病腹膜透析患者临床特点及心血管疾病患病率和危险因素的对分析[J]. 中国糖尿病杂志, 2020, 28(12): 903-910.

[3] 葛均波, 霍勇, 高秀芳, 等. 改善心血管和肾脏结局的新型抗高血糖药物临床应用中国专家建议[J]. 中国循环杂志, 2020, 35(3): 231-238.

[4] 符武岛, 李伟, 曾敏, 等. 血清胱抑素 C 水平与女性无慢性肾脏疾病患者冠状动脉钙化的相关性探讨[J]. 临床心血管病杂志, 2019, 35(05): 425-429.

[5] 郭楚楚, 夏薇薇, 张爱华. 硫酸吡嗪酮在终末期肾病心血管并发症中的研究进展[J]. 生理学报, 2018, 70(6): 657-662.

[6] 白运焕, 杨媛媛, 蒋亚芬, 等. 慢性肾病患者血尿酸吡嗪酮浓度与心血管疾病相关指标的关系分析[J]. 中华全科医学, 2016, 14(7): 1141-1143.

[7] 潘海林, 李锋进, 郭凯. 血清硫酸吡嗪酮水平与冠心病严重程度的关系研究[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(3): 385-389.

[8] MARIKO TANI, SARASA TANAKA, KANA TAKAMIYA, *et al.* Effects of dietary fiber on vascular calcification by repetitive diet-induced fluctuations in plasma phosphorus in early-stage chronic kidney disease rats[J]. J Clin Biochem Nutr, 2020, 67(3): 283-289.

[9] TSUNG JEN LIN, BANG GEE HSU, JI HUNG WANG, *et al.* Serum indoxyl sulfate as a potential biomarker of aortic arterial stiffness in coronary artery disease[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2020, 30(12): 2320-2327.

[10] QIN Q J, CUI L Q, ZHOU Z G, *et al.* Inhibition of microRNA-141-3p Reduces Hypoxia-Induced Apoptosis in H9c2 Rat Cardiomyocytes by Activating the RP105-Dependent PI3K/AKT Signaling Pathway[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 7016-7025.

[11] GAO Z G, GAO Q, XIAODONG L V. MicroRNA-668-3p Protects Against Oxygen-Glucose Deprivation in a Rat H9c2 Cardiomyocyte Model of Ischemia-Reperfusion Injury by Targeting the Stromal Cell-Derived Factor-1 (SDF-1)/CXCR4 Signaling Pathway[J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e919601.

[12] 汤亚东, 赵玉娟. miRNA 在急性心肌梗死及治疗中的研究进展[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2020, 12(09): 1150-1152.

[13] 马明仁, 王菲, 胡威, 等. miR-144 在心血管系统疾病中的研究进

展[J]. 解放军医学杂志, 2020, 45(8): 888-892.

[14] QIN D Z, WANG X H, LI Y L T, *et al.* MicroRNA-223-5p and -3p Cooperatively Suppress Necroptosis in Ischemic/Reperused Hearts[J]. J Biol Chem, 2016, 291(38): 20247-20259.

[15] HIDEKI FUJII, YURIKO YONEKURA, YUSUKE YAMASHITA, *et al.* Anti-oxidative effect of AST-120 on kidney injury after myocardial infarction[J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(8): 1302-1313.

[16] HÜSEYİN ALŦUG ÇAKMAK, MEHMET DEMİR. MicroRNA and Cardiovascular Diseases[J]. Balkan Med J, 2020, 37(2): 60-71.

[17] KAREN V SWANSON, MENG DENG, JENNY P Y TING. The NLRP3 inflammasome: Molecular activation and regulation to therapeutics[J]. Nat Rev Immunol, 2019, 19(8): 477-489.

[18] QI HE, ZHENYU LI, CHANGCHANG MENG, *et al.* Parkin-Dependent Mitophagy is Required for the Inhibition of ATF4 on NLRP3 Inflammasome Activation in Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats[J]. Cells, 2019, 8(8): 897.

[19] WAN Z F, FAN Y, LIU X J, *et al.* NLRP3 inflammasome promotes diabetes-induced endothelial inflammation and atherosclerosis[J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2019, 20(12): 1931-1942.

[20] LIMING MAO, ATSUSHI KITANI, WARREN STROBER, *et al.* The Role of NLRP3 and IL-1 β in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease[J]. Front Immunol, 2018, 9: 2566.

[21] MATTHEW S J MANGAN, EDWARD J OLHAVA, WILLIAM R ROUSH, *et al.* Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases[J]. Nat Rev Drug Discov, 2018, 17(9): 688.

[22] MUHAMMAD HAMMADAH, SAMAAH SULLIVAN, BRAD PEARCE, *et al.* Inflammatory response to mental stress and mental stress induced myocardial ischemia[J]. Brain Behav Immun, 2018, 68: 90-97.

[23] STEFANO TOLDO, CARLO MARCHETTI, ADOLFO G MAURO, *et al.* Inhibition of the NLRP3 inflammasome limits the inflammatory injury following myocardial ischemia-reperfusion in the mouse[J]. Int J Cardiol, 2016, 209: 215-220.

(收稿日期: 2021-01-27; 修回日期: 2021-09-10; 编辑: 王小菊)

(上接第 204 页)

[17] LI H, LU H, LV M, *et al.* Parthenolide facilitates apoptosis and reverses drug-resistance of human gastric carcinoma cells by inhibiting the STAT3 signaling pathway[J]. Oncology Letters, 2018, 15(3): 3572-3579.

[18] 杨邦敏, 刘芳, 夏红, 等. DADS 通过 Rac1/LIMK1/cofilin1 通路增强沉默 LIMK1 抑制人胃癌 BGC823 细胞迁移侵袭[J]. 中南医学科学杂志, 2020, 48(3): 238-243.

[19] DING W, ZENG T, TAO W, *et al.* Effect of lenalidomide on the human gastric cancer cell line SGC7901/vincristine Notch signaling[J]. Journal of Cancer Research & Therapeutics, 2018, 14(8): 237.

[20] SONG Q, LIU B, LI X, *et al.* MiR-26a-5p potentiates metastasis of human lung cancer cells by regulating ITG β 8-JAK2/STAT3

axis[J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2018, 501(2): 494.

[21] CHEN L, LU Z, YANG Y, *et al.* Effects of purified Omphalia lapidescens protein on metastasis, cell cycle, apoptosis and the JAK-STAT signaling pathway in SGC-7901 human gastric cells[J]. Oncology Letters, 2018, 15(4): 4161-4170.

[22] 周湘华, 赵其辉, 张志伟. miR-924 靶向 TGM2 抑制胃癌 MGC803 细胞增殖[J]. 中南医学科学杂志, 2020, 48(3): 244-249.

[23] KUANG S, SIMA Z, LIU J, *et al.* Synthesis of Biotinylated 2-methoxystypandrone and Identification of JAK2 and IKK as its Targets[J]. Anti-cancer agents in medicinal chemistry, 2018, 18(3): 422.

(收稿日期: 2021-01-20; 修回日期: 2021-06-20; 编辑: 王小菊)