

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.15.006

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220420.1148.004.html\(2022-04-21\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220420.1148.004.html(2022-04-21))

miRNA-146a 通过 JAK/STAT3 信号通路 对烧冲复合伤大鼠心脏功能的影响*

姜万嵩¹, 韩庚奋², 刘成², 张成生², 张景阳², 马骁^{2△}, 姚兴伟²

(中国人民解放军联勤保障部队第九六九医院:1. 卫勤处;2. 骨科, 呼和浩特 010051)

[摘要] **目的** 探讨 miRNA-146a 通过 Janus 激酶/信号转导和转录激活因子 3(JAK/STAT3)信号通路对烧冲复合伤大鼠心脏功能的影响。**方法** 将 48 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、miRNA-146a 阴性对照组(阴性对照组,尾静脉注射 20 μg miRNA-146a 模拟物阴性对照)、miRNA-146a 过表达组(过表达组,尾静脉注射 20 μg miRNA-146a 模拟物)、JAK/STAT3 通路抑制剂 AG490 组(AG490 组,尾静脉注射 5 mg/kg AG490)、miRNA-146a 过表达 + AG490 组(联合组,尾静脉注射 20 μg miRNA-146a 模拟物 + 5 mg/kg AG490),每组 8 只,除对照组,其余大鼠均通过爆炸联合 94 °C 热水烧伤的方法构建烧冲复合伤大鼠模型。超声心动图检查大鼠心脏功能指标,多道生理仪记录大鼠血流动力学指标,苏木精-伊红(HE)及 Masson 染色检测大鼠心肌组织损伤情况,酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒检测大鼠心肌组织炎症因子水平,RT-qPCR 测定大鼠心肌组织 miRNA-146a 表达,Western blot 检测大鼠心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达。**结果** 与对照组比较,模型组大鼠心脏功能明显下降,心肌组织受到严重损害,心肌组织中炎症因子水平明显升高($P < 0.05$),miRNA-146a 及 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,过表达组大鼠心功能及心肌组织损伤得到改善,心肌组织中炎症因子水平明显降低($P < 0.05$),miRNA-146a 表达水平及 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达明显升高($P < 0.05$);与过表达组比较,联合组大鼠心功能明显下降,心肌组织损害较重,心肌组织中炎症因子水平明显升高($P < 0.05$),miRNA-146a 表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$),JAK/STAT3 通路相关蛋白表达明显降低($P < 0.05$)。**结论** 过表达 miRNA-146a 可明显改善烧冲复合伤大鼠心脏功能,可能是通过激活 JAK/STAT3 通路而实现。

[关键词] 微 RNA-146a;Janus 激酶/信号转导和转录激活因子 3;烧冲复合伤;心脏功能;SD 大鼠**[中图分类号]** R644**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)15-2549-07

Effect of miRNA-146a on cardiac function in rats with burn-blast combined injury through JAK/STAT3 signaling pathway*

JIANG Wansong¹, HAN Gengfen², LIU Cheng², ZHANG Chengsheng²,
ZHANG Jingyang², MA Xiao^{2△}, YAO Xingwei²(1. Department of Medical Service; 2. Department of Orthopedics, 969 Hospital of
PLA Joint Logistic Support Force, Hohhot, Inner Mongolia 010051, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of miRNA-146a on the cardiac function in the rats with burn-blast combined injury through Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT3) signaling pathway. **Methods** Forty-eight SD rats were randomly divided into the control group, model group, miRNA-146a negative control group (20 μg miRNA-146a miomic negative control by tail vein injection), miRNA-146a overexpression group (20 μg miRNA-146 amimic by tail vein injection), JAK/STAT3 pathway inhibitor AG490 group (5 mg/kg AG490 by tail vein injection) and miRNA-146a overexpression + AG490 group (combined group, 20 μg miR-146a mimic by tail vein injection, then 5 mg/kg AG490 by tail vein injection), 8 cases in each group. Except for the control group, the other rats were treated with explosion combined with 94 °C hot water burn for constructing the burn-blast combined injury rat model. Echocardiography was used to examine the cardiac function, the multi-channel physiological instrument was used to record the hemodynamic parameters, the hematoxylin eosin staining (HE) and Masson staining were used to detect the myocardial injury in rats, the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kit was used to detect the levels

of inflammatory factors in rat myocardium, the real-time quantitative PCR was used to detect the expression of miRNA-146a and the Western blot was used to detect the expression of JAK/STAT3 pathway related proteins. **Results** Compared with the control group, the cardiac function of the model group was significantly decreased, and the myocardial tissue was seriously damaged, the levels of inflammatory factors in the myocardial tissue were significantly increased ($P < 0.05$), the expression levels of miRNA-146a and JAK/STAT3 pathway related protein were significantly decreased ($P < 0.05$); compared with the model group, the myocardial function and myocardial tissue injury of the overexpression group were improved, the levels of inflammatory factors in the myocardial tissue were significantly increased ($P < 0.05$), the expression level of miRNA-146a and expression of JAK/STAT3 pathway related protein were significantly increased; compared with the overexpression group, the cardiac function of the combined group was significantly decreased, and the myocardial tissue damage was more serious, the levels of inflammatory factors in myocardial tissues were significantly increased ($P < 0.05$), the difference in the expression level of miRNA-146a had no statistical significance, and expression of JAK/STAT3 pathway related protein was significantly decreased. **Conclusion** Overexpression of miRNA-146a can significantly improve the cardiac function in rats with burn-blast combined injury, which may be achieved by activating JAK/STAT3 pathway.

[Key words] microRNA-146a; Janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3; burn-blast combined injury; cardiac function; SD rats

烧冲复合伤是热力、冲击波相继或同时作用于机体造成的复合伤,可能发生在煤气泄漏、矿难、交通意外、化工厂等意外爆炸中,致残率及病死率较高^[1-2]。有研究显示,烧冲复合伤的超压可引起心脏受损,导致心肌组织发生炎症反应、变性甚至坏死^[3]。谢锋等^[4]研究发现,烧冲复合伤大鼠的心肌细胞凋亡增加,心脏功能受到严重损害,如果人体受到烧冲复合伤会造成其心脏受损,严重影响患者的生活质量及生命安全。因此,探究其发生的可能机制对于保护心脏具有重要意义。微 RNA(miRNA)是一类进化高度保守的非编码单链小分子 RNA,在免疫反应、炎症反应等环节中发挥重要作用,miRNA-146a 位于第 5 号染色体上,是参与炎症应答的重要 miRNA 之一^[5]。有研究显示,心脏收缩功能障碍小鼠心肌组织中 miRNA-146a 呈现低表达,上调 miRNA-146a 后可明显改善心脏功能^[6]。李静等^[7]研究认为,miRNA-146a 降低与心肌组织受损密切相关,提高 miRNA-146a 表达后可明显减轻心肌炎性反应,对心脏损伤具有一定的保护作用。Janus 激酶/信号转导和转录激活因子 3 (JAK/STAT3) 信号通路在炎症反应、免疫调节等方面发挥重要作用,与心脏功能损伤联系密切。LI 等^[8]研究显示,激活心肌组织中 JAK/STAT3 通路可降低急性心肌梗死小鼠心肌炎性反应,对心脏具有一定的保护作用,但关于 miRNA-146a、JAK/STAT3 通路与烧冲复合伤大鼠心脏受损之间的研究较少。因此,本研究通过建立烧冲复合伤大鼠模型,探究 miRNA-146a 通过 JAK/STAT3 信号通路对烧冲复合伤大鼠心脏功能的影响,为临床治疗烧冲复合伤心脏功能损伤保护提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物

48 只 SPF 级 SD 雄性大鼠(浙江维通利华实验动物技术有限公司),生产许可证号为 SCXK(浙)2019-0001,体重约为 210 g。大鼠均在本院动物房饲养,12 h 昼夜交替,自由饮食、饮水,动物房温度 25 ℃ 左右,相对湿度 50% 左右,保持动物房干净、通风,定时清洁鼠笼。本研究经动物伦理委员会批准同意。实验过程中按照动物使用的“3R”原则给予人道主义关怀。

1.1.2 主要试剂及仪器

爆炸致伤装置由中国兵器工业研究院提供; JAK/STAT3 通路抑制剂 AG490(133550-30-8)购自美国 MCE 公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒、Masson 染色试剂盒、蛋白质提取试剂盒、BCA 蛋白测定试剂盒、白细胞介素(IL)-1 β 、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、IL-6 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(货号: G1121、G1340、BC3711、PC0020、SEKR-0002、SEKR-0009、SEKR-0005)购自北京索莱宝科技有限公司;肌酸激酶同工酶(CK-MB)、肌钙蛋白 I(cTn I)、ELISA 试剂盒(货号: ab285275、ab246529)购自英国 Abcam 公司;miRNA-146a agomir、miRNA-146a agomir 阴性对照、miRNA-146a 和 U6 引物购自上海吉玛制药技术有限公司; p-JAK2、JAK2、p-STAT3、STAT3、 β -actin 兔源抗体、羊抗兔 IgG 二抗(货号: ab32101、ab108596、ab76315、ab68153、ab9485、ab6127)购自英国 Abcam 公司;多功能酶标仪(EnSight)购自美国 PerkinElmer 公司;光学显微镜(ContourGT-X3)购自美国 Bruker 公司;组织匀浆机(TissueLyser-192)购自上海静信实业发展有限公司;RT-qPCR 仪(Step One TM)购于美国 ABI 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备及分组给药

48 只 SD 大鼠按照随机数字法分为对照组、模型组、miRNA-146a 阴性对照组(阴性对照组)、miRNA-146a 过表达组(过表达组)、JAK/STAT3 通路抑制剂 AG490 组(AG490 组)、miRNA-146a 过表达 + AG490 组(联合组),每组 8 只,除对照组,其余大鼠均构建烧冲复合伤大鼠模型。

烧冲复合伤大鼠模型的构建参考文献[9],并适当修改,造模大鼠麻醉后剔除背部 25% 的毛发并固定于鼠架上,放于距离爆炸源 50 cm 处的爆炸实验现场,爆炸源为 5 g 黑索金炸药,建立中度冲击伤模型;接着将大鼠背部脱毛区域置于 94 °C 热水中 12 s,形成约 20% 的烧伤,获得烧冲复合伤大鼠模型,用聚维酮碘消毒大鼠烫伤创面防止感染,腹腔注射生理盐水防休克,观察到大鼠呼吸急促、进食量减少、精神萎靡等症状为模型构建成功。对照组大鼠仅进行背部脱毛并浸入 37 °C 温水中 12 s。造模前 6 h 禁食不禁水,造模过程中出现不符合条件或死亡现象,及时用备用大鼠进行造模处理。

动物给药参照说明书及文献[10],过表达组、阴性对照组分别经尾静脉注射 miRNA-146a agomir 慢病毒、miRNA-146a agomir 阴性对照各 20 μ g,术前每周注射 2 次,共注射 2 周;AG490 组于术前 24 h 尾静脉注射 5 mg/kg AG490^[11],同时以与过表达组同样的方法尾静脉注射等量生理盐水;联合组于术前每周尾注射 miRNA-146a agomir 慢病毒 20 μ g 2 次,共注射 2 周后,于术前 24 h 尾静脉注射 5 mg/kg AG490;对照组、模型组以同样的方法尾静脉注射等量生理盐水。

1.2.2 大鼠心功能相关指标测定

造模结束后 24 h,对各组大鼠行超声心动图检查,记录大鼠左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)、左心室收缩压(LVSP)。用乙醇对大鼠腹部皮肤进行消毒处理,切开皮肤暴露主动脉后取血约 4 mL,低温静置 30 min 后离心 15 min(3 000 r/min),取血清,采用 CK-MB、cTn I ELISA 试剂盒测定其中 CK-MB、cTn I 水平。

超声心动图检查结束后进行血流动力学指标的测定,分离大鼠右颈总动脉并结扎远心端,通过聚乙烯微管系统充入 0.3% 肝素进行抗凝处理,将导管插入颈动脉、升主动脉,待压力值稳定 10 min 后采用多道生理仪记录左心室舒张末压(LVEDP)、左心室收缩末压(LVESP)、左心室内压最大下降速率(-dp/dtmax)、左心室内压最大上升速率(+dp/dtmax)。

1.2.3 大鼠心肌组织 HE 及 Masson 染色观察

取适量大鼠心肌组织,置于 4% 多聚甲醛中约 24 h 进行固定处理,用由低到高浓度梯度的乙醇进行脱水处理,用二甲苯溶液进行透明处理,用融化的石蜡进行包埋处理,蜡块凝固后切片处理,将得到的石蜡切片放入二甲苯中脱蜡,用无水乙醇洗去二甲苯后经

过不同浓度乙醇处理、蒸馏水冲洗,各选取 3 张切片分别进行苏木素染色、水洗、返蓝液返蓝、水洗、伊红染色及 Masson 染色,水洗、乙醇和二甲苯处理后进行风干、封片,得到病理组织切片,置于光学显微镜下观察并分析。具体操作步骤参考 HE 及 Masson 染色试剂盒。

1.2.4 大鼠心肌组织炎症因子水平检测

取适量大鼠心肌组织,用组织匀浆机制成心肌组织匀浆,低温离心后取上清液,根据 TNF- α 、IL-6、IL-1 β ELISA 试剂盒中的操作要求测定各组大鼠心肌组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 炎症因子表达水平。

1.2.5 大鼠心肌组织 miRNA-146a 表达检测

取适量大鼠心肌组织,采用 RNA 提取试剂盒提取心肌组织中的总 RNA,采用反转录试剂盒得到 cDNA,对 miRNA-146a 进行扩增,采用 RT-qPCR 仪测定心肌组织中 miRNA-146a 表达水平。miRNA-146a 上游引物:5'-GGG TGA GAA CTG AAT TCC A-3',下游引物:5'-CAG TGC GTG TCG TGG AGT-3';以 U6 为内参,上游引物:5'-GCT TCG GCA CAT ATA CTA AAA T-3',下游引物:5'-CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT-3'。反应体系有上下游引物各 0.5 μ L、cDNA 1 μ L、SYBR Mix 10 μ L,PCR 反应条件:95 °C 预变性 5 min;95 °C 变性 5 s、60 °C 退火 1 min、72 °C 延伸 30 s,40 个循环,根据 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 算法分析 miRNA-146a mRNA 表达。

1.2.6 Western blot 检测大鼠心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达水平

取适量大鼠心肌组织,经预冷的生理盐水冲洗干净后在冰上将其剪成小颗粒,根据蛋白提取试剂盒的要求提取心肌组织中的总蛋白,采用 BCA 试剂盒测定其中蛋白浓度,将各组蛋白浓度调至相同,加热变性后自然冷却,取 20 μ L 待测样品液进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)实验分离蛋白,将分离的蛋白经过湿转法转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,根据分子量将目的蛋白条带剪下置于孵育盒中,加入兔源 p-JAK2、p-STAT3、JAK2、STAT3、GAPDH(1:1 000 稀释),4 °C 冰箱中孵育过夜,用 TBST 缓冲溶液漂洗后加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔 IgG 二抗(1:5 000 稀释),室温孵育 2 h 后用 TBST 缓冲溶液漂洗,经过显影后用 Image-J 软件分析相关蛋白的表达情况。

1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件对数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,进一步两组间比较采用 LSD-t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠超声心动图指标比较

与对照组比较,模型组大鼠 LVEF、LVSP、LVFS

值明显降低($P < 0.05$),血清 CK-MB、cTn I 水平明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较,阴性对照组及 AG490 组,上述指标差异无统计学意义($P > 0.05$);过表达组 LVEF、LVSP、LVFS 值明显升高($P < 0.05$),血清 CK-MB、cTn I 水平明显降低($P < 0.05$)。与过表达组比较,联合组大鼠 LVEF、LVSP、LVFS 值明显降低($P < 0.05$),血清 CK-MB、cTn I 水平明显升高($P < 0.05$),见表 1。

2.2 各组大鼠血流动力学指标比较

表 1 各组大鼠超声心动图指标比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	LVEF (%)	LVSP(mm Hg)	LVFS(%)	CK-Mb(U/L)	cTn I (mg/L)
对照组	58.59±10.20	134.74±18.07	29.22±6.08	22.89±4.14	0.26±0.05
模型组	26.63±4.45 ^a	70.91±11.80 ^a	12.08±2.73 ^a	84.48±11.05 ^a	2.40±0.50 ^a
阴性对照组	27.02±4.59 ^a	69.73±11.43 ^a	12.84±2.86 ^a	85.66±10.73 ^a	2.37±0.49 ^a
过表达组	47.28±9.09 ^{abc}	108.37±17.43 ^{abc}	21.36±5.01 ^{abc}	41.74±8.79 ^{abc}	1.02±0.23 ^{abc}
AG490 组	24.70±3.89 ^{ad}	62.38±10.60 ^{ad}	11.83±2.59 ^{ad}	86.27±12.04 ^{ad}	2.66±0.53 ^{ad}
联合组	35.48±6.53 ^{abcde}	89.36±3.64 ^{abcde}	16.18±3.64 ^{abcde}	66.23±9.06 ^{abcde}	1.58±0.33 ^{abcde}

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.05$,与模型组比较;^c: $P < 0.05$,与阴性对照组比较;^d: $P < 0.05$,与过表达组比较;^e: $P < 0.05$,与 AG490 组比较。

表 2 各组大鼠血流动力学指标比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	LVESP(mm Hg)	LVEDP(mm Hg)	+dp/dtmax(mm Hg/s)	-dp/dtmax(mm Hg/s)	心率(次/分钟)
对照组	121.75±15.10	2.31±0.48	5 542.18±154.58	5 286.17±182.54	391.06±41.47
模型组	79.11±10.15 ^a	6.47±1.35 ^a	2 884.26±118.47 ^a	2 018.44±121.38 ^a	213.35±24.55 ^a
阴性对照组	78.59±10.67 ^a	6.38±1.32 ^a	2 880.94±128.90 ^a	2 020.66±118.35 ^a	215.73±24.66 ^a
过表达组	107.71±10.51 ^{abc}	3.85±0.90 ^{abc}	4 088.39±159.17 ^{abc}	4 526.55±162.57 ^{abc}	315.66±34.09 ^{abc}
AG490 组	74.82±11.51 ^{ad}	7.16±1.44 ^{ad}	2 825.44±87.76 ^{ad}	2 005.65±105.18 ^{ad}	200.83±30.57 ^{ad}
联合组	94.88±12.57 ^{abcde}	4.98±1.05 ^{abcde}	3 533.90±137.98 ^{abcde}	3 016.58±104.28 ^{abcde}	270.83±37.52 ^{abcde}

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.05$,与模型组比较;^c: $P < 0.05$,与阴性对照组比较;^d: $P < 0.05$,与过表达组比较;^e: $P < 0.05$,与 AG490 组比较。

2.3 各组大鼠心肌组织损伤比较

对照组大鼠心肌细胞排列整齐、分布均匀,心肌组织结构无明显损害;模型组大鼠心肌细胞坏死较严重且排列紊乱,出现肌纤维束断裂、炎性细胞浸润、纤维化变性等现象;与模型组比较,阴性对照组及 AG490 组大鼠心肌组织损害情况类似,过表达组大鼠心肌组织损伤得到一定的恢复;与过表达组比较,联合组大鼠心肌组织损伤较严重,见图 1、2。

2.4 各组大鼠心肌组织炎症因子表达水平比较

与对照组比较,模型组大鼠心肌组织炎症因子表达水平明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,阴性对照组及 AG490 组差异无统计学意义($P > 0.05$),过表达组心肌组织炎症因子表达水平降低($P < 0.05$);与过表达组比较,联合组大鼠心肌组织炎症因子表达水平明显升高($P < 0.05$),见表 3。

2.5 各组大鼠心肌组织 miRNA-146a 表达水平比较

与对照组比较,模型组大鼠心肌组织 miRNA-

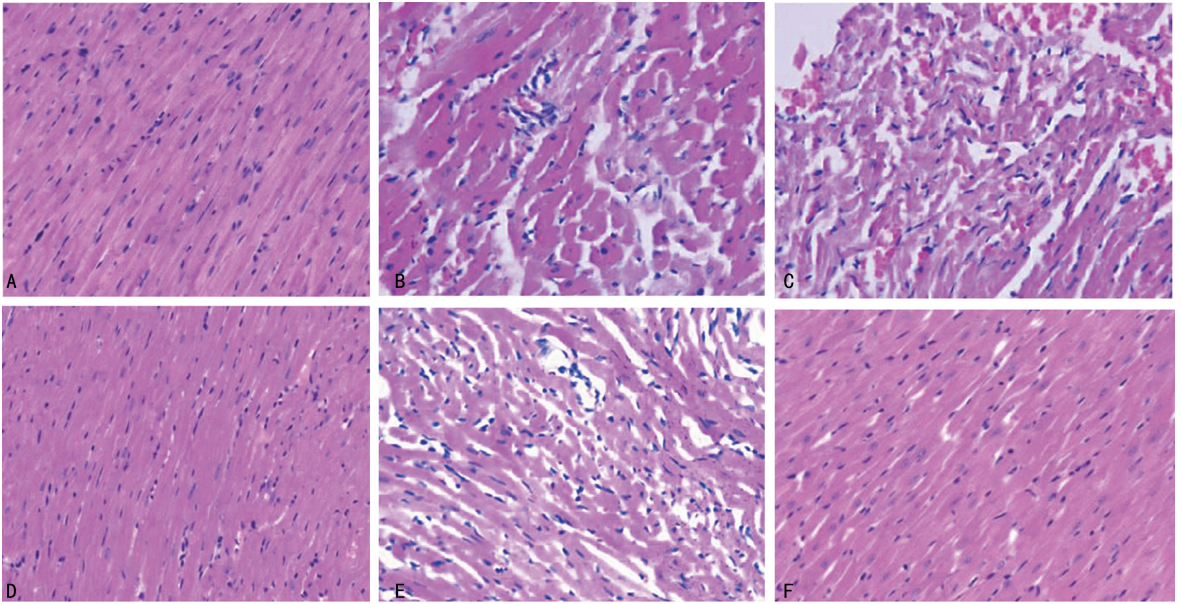
与对照组比较,模型组大鼠 LVESP、+dp/dtmax、-dp/dtmax、HR 值明显降低($P < 0.05$),LV-EDP 明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,阴性对照组及 AG490 组,上述指标差异无统计学意义($P > 0.05$),过表达组 LVESP、+dp/dtmax、-dp/dtmax、HR 值明显升高($P < 0.05$),LV-EDP 明显降低($P < 0.05$);与过表达组比较,联合组大鼠 LVESP、+dp/dtmax、-dp/dtmax、HR 值明显降低($P < 0.05$),LV-EDP 明显升高($P < 0.05$),见表 2。

146a 表达水平明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,阴性对照组及 AG490 组差异无统计学意义($P > 0.05$),过表达组心肌组织 miRNA-146a 表达水平明显升高($P < 0.05$);与过表达组比较,联合组大鼠心肌组织 miRNA-146a 表达差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 3。

表 3 各组大鼠心肌组织炎症因子表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=8, \text{ng/L}$)

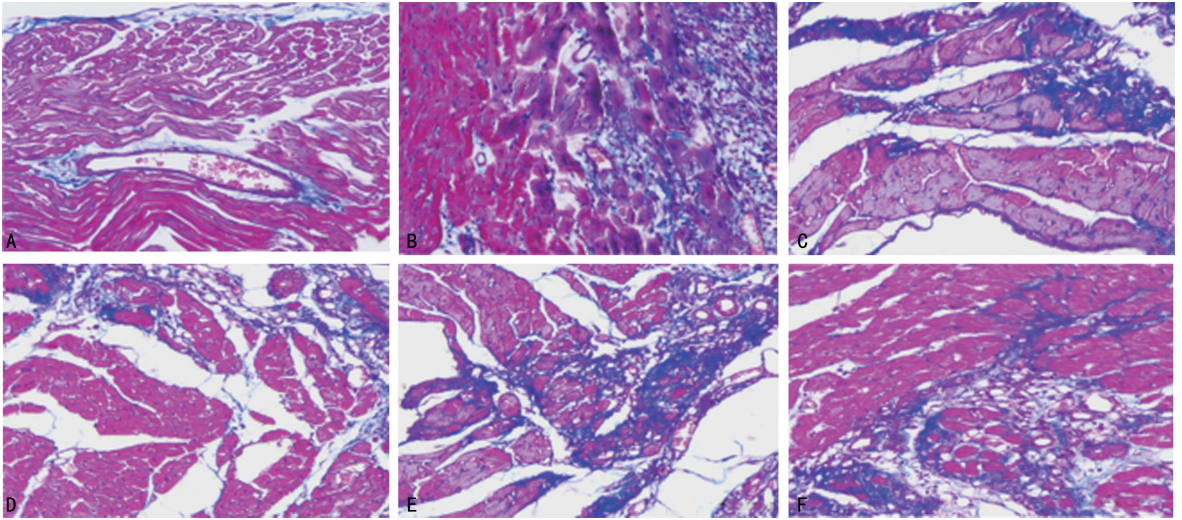
组别	TNF- α	IL-6	IL-1 β
对照组	23.50±4.89	9.82±2.04	22.52±3.69
模型组	43.81±7.20 ^a	24.06±5.02 ^a	40.67±5.62 ^a
阴性对照组	43.94±7.02 ^a	23.87±4.94 ^a	40.60±5.40 ^a
过表达组	29.83±5.74 ^{abc}	14.37±3.37 ^{abc}	28.46±6.82 ^{abc}
AG490 组	45.18±8.12 ^{ad}	25.60±5.17 ^{ad}	41.33±5.79 ^{ad}
联合组	36.35±6.27 ^{abcde}	18.73±3.97 ^{abcde}	34.95±4.61 ^{abcde}

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.05$,与模型组比较;^c: $P < 0.05$,与阴性对照组比较;^d: $P < 0.05$,与过表达组比较;^e: $P < 0.05$,与 AG490 组比较。



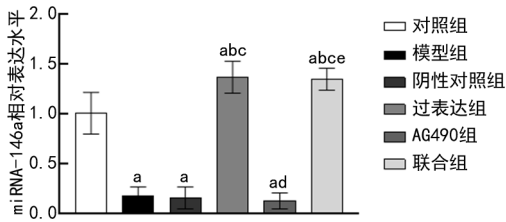
A: 对照组; B: 模型组; C: 阴性对照组; D: 过表达组; E: AG490 组; F: 联合组。

图1 显微镜下观察各组大鼠心肌组织 HE 染色(×200)



A: 对照组; B: 模型组; C: 阴性对照组; D: 过表达组; E: AG490 组; F: 联合组。

图2 显微镜下观察各组大鼠心肌组织 Masson 染色(×200)



^a: $P < 0.05$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与阴性对照组比较; ^d: $P < 0.05$, 与过表达组比较; ^e: $P < 0.05$, 与 AG490 组比较。

图3 各组大鼠心肌组织 miRNA-146a 表达水平比较

2.6 各组大鼠心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达水平比较

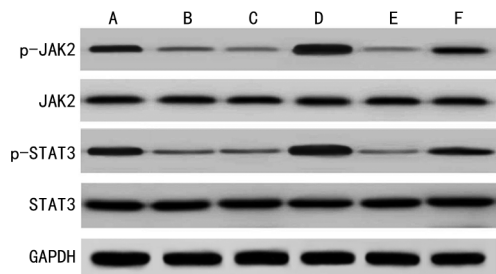
与对照组比较,模型组大鼠心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,阴性对照组和 AG490 组大鼠心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达水平差异无统计

学意义($P > 0.05$),过表达组心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达水平升高($P < 0.05$)。与过表达组比较,联合组大鼠心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$),见表 4、图 4。

表4 各组大鼠心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	p-JAK2/JAK2	p-STAT3/STAT3
对照组	1.02 ± 0.21	1.01 ± 0.23
模型组	0.18 ± 0.08 ^a	0.20 ± 0.13 ^a
阴性对照组	0.21 ± 0.12 ^a	0.21 ± 0.11 ^a
过表达组	1.79 ± 0.42 ^{abc}	1.85 ± 0.44 ^{abc}
AG490 组	0.14 ± 0.06 ^{ad}	0.12 ± 0.08 ^{ad}
联合组	0.59 ± 0.12 ^{abcde}	0.63 ± 0.15 ^{abcde}

^a: $P < 0.05$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与阴性对照组比较; ^d: $P < 0.05$, 与过表达组比较; ^e: $P < 0.05$, 与 AG490 组比较。



A: 对照组; B: 模型组; C: 阴性对照组; D: 过表达组; E: AG490 组; F: 联合组。

图 4 各组大鼠心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达

3 讨论

烧冲复合伤是现代工业、爆炸材料研究中常见的创伤,其造成的伤害由两个或两个以上伤害因素同时或相继造成的复合损伤,从而对人体造成更严重的伤害^[12-13]。与单纯烧伤相比,烧冲复合伤发病机制更加复杂,从而增加了其治疗难度^[14]。有研究发现,烧冲复合伤会导致大鼠心脏功能明显受损,对大鼠的生命体征及伤情造成负面影响^[15]。其中,瞬间快速的血流动力学变化是造成心脏受损的主要原因。CHAI 等^[16]研究表明,目前常用爆炸联合 94 °C 热水烧伤的方法构建烧冲复合伤动物模型,该方法构建的模型较稳定且较接近实际,具有爆炸参数清晰、爆炸载荷稳定、易控制等优点。本研究采用此方法构建烧冲复合伤大鼠模型后发现,烧冲复合伤大鼠的 LVEF、LVSP、LVFS、LVESP、+dp/dtmax、-dp/dtmax、心率水平明显降低,血清 CK-MB、cTn I、LVEDP 水平明显升高,心肌组织受损严重,炎症因子水平明显升高,提示烧冲复合伤可引起大鼠心肌组织损害、引发心肌炎症及纤维化变性,导致心功能严重受损,本研究结果表明,采用爆炸联合 94 °C 热水烧伤的方法构建烧冲复合伤动物模型是一种均匀稳定的冲击波,条件易于控制,重复性佳,且可以对大鼠整体受到冲击,而非单一器官损伤,表明本研究模型构建成功。

miRNA 是长度约为 18~22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子,在心血管疾病、神经退行性疾病、癌症等疾病的发生、发展中占有重要地位^[17]。研究表明 miRNA-146a 与冠心病、缺血性脑卒中等动脉粥样硬化疾病密切相关^[18]。大量炎症因子的释放是导致心脏组织损伤的主要原因之一,TNF- α 可导致心脏炎症反应级联放大,可激活炎症细胞,进而对心肌细胞造成损伤,损害心脏功能,赵思嘉等^[19]研究发现,miRNA-146a 高表达可抑制自身免疫性心肌炎大鼠的心肌炎症反应。另外,miRNA-146a 可能是通过与 TNF- α 受体相关蛋白及 IL-1 受体相关激酶结合,抑制 TNF- α 等相关炎症因子的表达及释放,从而改善心肌炎大鼠的心脏功能^[20]。本研究结果显示,与对照组比较,模型组大鼠心肌组织中 miRNA-146a 表达降低,提示 miRNA-146a 可能参与了烧冲复合伤所致心脏功能受损的发生及发展过程。与模型组比较,过表

达组大鼠心脏功能低下及心肌组织受损得到缓解,心肌组织中炎症因子水平降低,表明 miRNA-146a 过表达可抑制烧冲复合伤大鼠心肌炎症及纤维化变性,并改善其心脏功能,推测 miRNA-146 可能通过抑制心肌组织中 TNF- α 、IL-6 及 IL-1 β 炎症因子水平,从而阻止心肌组织炎症反应,较少炎症介质的产生,达到治疗的目的。

JAK 是 Janus 家族成员,STAT 是 JAK 的下游信号因子,可被 JAK 激活并发生磷酸化,STAT3 磷酸化后形成二聚体转移到细胞核及线粒体内,进而通过转录发挥作用,JAK/STAT3 信号通路在心肌细胞凋亡、炎症反应、氧化应激等方面发挥重要作用,有研究显示,激活 JAK/STAT3 对心肌细胞具有保护作用^[21]。XIN 等^[22]研究发现,激活 JAK/STAT3 通路可降低急性心肌梗死大鼠的心肌细胞凋亡及心肌组织损伤,对于改善其心脏功能具有一定的积极作用。SAWASHITA 等^[23]研究发现,JAK/STAT3 通路的激活可减轻心肌缺血再灌注损伤,对于心脏具有一定的保护作用。本研究结果显示,与模型组比较,过表达组大鼠心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达水平升高;与过表达组比较,联合组大鼠心肌组织 JAK/STAT3 通路相关蛋白表达降低,提示过表达 miRNA-146a 可提高烧冲复合伤大鼠心功能,可能是通过激活 JAK/STAT3 通路减轻心肌组织炎症反应,从而达到改善大鼠心脏功能,促进心肌组织恢复。

综上所述,miRNA-146a 过表达可抑制烧冲复合伤大鼠心肌炎症及纤维化变性,并改善其心脏功能,可能是通过激活 JAK/STAT3 通路而实现,但烧冲复合伤大鼠心脏功能损伤的发病机制十分复杂,miRNA-146a 对烧冲复合伤大鼠的其他作用机制仍有待于进一步研究。

参考文献

- [1] HU Y, MAO Q, YE S, et al. Blast-Burn combined injury followed by immediate seawater immersion induces hemodynamic changes and metabolic acidosis; an experimental study in a canine model[J]. Clin Lab, 2016, 62(7): 1193-1199.
- [2] ZHENG X F, ZHU F, FANG H, et al. Management of combined massive burn and blast injury: a 20-year experience[J]. Burns, 2020, 46(1): 75-82.
- [3] HU Q, CHAI J, HU S, et al. Development of an animal model for Burn-Blast combined injury and cardiopulmonary system changes in the early shock stage[J]. Indian J Surg, 2015, 77 (Suppl 3): 977-984.

- [4] 谢锋,柴家科,胡泉,等. 钙蛋白酶抑制剂对烧冲复合伤大鼠心功能的作用[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2018,32(10):941-944.
- [5] HUANG Y, WANG H, WANG Y, et al. Regulation and mechanism of miR-146 on renal ischemia reperfusion injury[J]. *Pharmazie*, 2018, 73(1):29-34.
- [6] SHEN L, LI C, ZHANG H, et al. Downregulation of miR-146a contributes to cardiac dysfunction induced by the tyrosine kinase inhibitor sunitinib[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10(1):914-916.
- [7] 李静,常盼,张静,等. MiR-146a 通过炎症参与小鼠糖尿病心肌病的机制研究[J]. 现代生物医学进展,2020,20(5):848-852,870.
- [8] LI C, ZHANG Y, WANG Q, et al. Dragon's blood exerts cardio-protection against myocardial injury through PI3K-AKT-mTOR signaling pathway in acute myocardial infarction mice model [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 227(1):279-289.
- [9] 吴育寿,岳晓彤,柴家科,等. 丙戊酸钠对重度烧冲复合伤休克延迟补液大鼠内脏组织灌流和生存率的影响[J/CD]. 中华损伤与修复杂志(电子版),2020,15(1):10-17.
- [10] 范丽,姚亚妮,李瑜. miR-21 通过靶向 PDCD4 减轻小鼠心脏缺血再灌注损伤[J]. 解剖学研究,2019,41(5):407-411.
- [11] 王世玉,崔昕龙,薛富善,等. PI3K/Akt 或 JAK/STAT-3 信号通路在肢体缺血联合吗啡后处理减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤中的作用[J]. 中华麻醉学杂志,2017,37(3):361-365.
- [12] 姜彬,沈鸣雁,沈涛. 一例粉尘爆炸致特重度烧冲复合伤合并急性肾损伤患者的护理[J]. 中华烧伤杂志,2020,36(7):603-605.
- [13] YAN H, LAI X N, GE H J. Comparative study on effects of burn-blast combined injury and burn-firearm combined injury complicated with seawater immersion on vascular endothelial cells[J]. *Chin J Traumatol*, 2005, 8(3):147-150.
- [14] CHANG Y, ZHANG D H, HU Q, et al. Usage of density analysis based on micro-CT for studying lung injury associated with burn-blast combined injury[J]. *Burns*, 2018, 44(4):905-916.
- [15] 谢锋,柴家科,胡泉,等. 烧冲复合伤大鼠心肌损伤及钙蛋白酶的变化规律[J]. 中华医学杂志,2017,97(46):3652-3657.
- [16] CHAI J K, LIU W, DENG H P, et al. A novel model of burn-blast combined injury and its phasic changes of blood coagulation in rats[J]. *Shock*, 2013, 40(4):297-302.
- [17] VISHNOI A, RANI S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases:an overview[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1509(1):1-10.
- [18] BAO M H, XIAO Y, ZHANG Q S, et al. Meta-Analysis of miR-146a polymorphisms association with coronary artery diseases and ischemic stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(7):14305-14317.
- [19] 赵思嘉,许蔚起,刘娜,等. MiR-146a 通过抑制 TRAF6 减轻自身免疫性心肌炎大鼠心脏炎症并改善其心功能[J]. 中国分子心脏病学杂志,2015,15(1):1202-1205.
- [20] GOU L, LIU G, MA R, et al. High fat-induced inflammation in vascular endothelium can be improved by *Abelmoschus esculentus* and metformin via increasing the expressions of miR-146a and miR-155 [J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2020, 17(1):35.
- [21] HE Y, LI C, MA Q, et al. Esculetin inhibits oxidative stress and apoptosis in H9c2 cardiomyocytes following hypoxia/reoxygenation injury [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501(1):139-144.
- [22] XIN L H, LIU R, YANG X W. Losartan promotes myocardial apoptosis after acute myocardial infarction in rats through inhibiting Ang II-induced JAK/STAT pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(1):409-417.
- [23] SAWASHITA Y, HIRATA N, YOSHIKAWA Y, et al. Remote ischemic preconditioning reduces myocardial ischemia-reperfusion injury through unacylated ghrelin-induced activation of the JAK/STAT pathway[J]. *Basic Res Cardiol*, 2020, 115(4):50.