

本文引用: 陆哲雯, 刘 莉, 蒋 啸, 李鑫辉. 丹参通络解毒汤调控 METTL3 介导的 m⁶A 修饰对缺氧/复氧 CMECs 的保护作用[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(3): 438-444.

丹参通络解毒汤调控 METTL3 介导的 m⁶A 修饰 对缺氧/复氧 CMECs 的保护作用

陆哲雯, 刘 莉, 蒋 啸, 李鑫辉*

湖南中医药大学中医学院, 湖南 长沙 410208

[摘要] **目的** 探讨丹参通络解毒汤对缺氧/复氧(H/R)损伤大鼠心肌微血管内皮细胞(CMECs)的保护作用及甲基转移酶样 3 (METTL3)的影响。**方法** 建立 H/R 损伤 CMECs 模型,将细胞分为空白组、模型组、中药组、过表达组、中药+过表达组、空载组,ELISA 检测各组炎症因子 IL-1 β 和 IL-10 水平,流式细胞术检测各组细胞凋亡情况,Western blot 检测各组 METTL3 蛋白表达水平,比色法检测各组 m⁶A 及肌酸激酶 CK 水平。**结果** 与空白组比较,模型组 METTL3 蛋白表达与 m⁶A 水平均升高($P<0.01$),CMECs 凋亡率升高($P<0.01$),IL-1 β 、CK 含量升高($P<0.01$),IL-10 含量降低($P<0.01$);与模型组比较,中药组 METTL3 蛋白表达与 m⁶A 水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$),CMECs 凋亡率显著降低($P<0.01$),IL-1 β 、CK 含量显著降低($P<0.01$),IL-10 含量显著升高($P<0.01$);与模型组比较,过表达组 METTL3 蛋白表达升高($P<0.01$),CMECs 凋亡率升高($P<0.01$),IL-1 β 、CK 含量升高($P<0.01$, $P<0.05$),IL-10 含量降低($P<0.01$);与过表达组相比,中药+过表达组 METTL3 蛋白表达降低($P<0.01$),CMECs 凋亡率降低($P<0.01$),IL-1 β 、CK 含量降低($P<0.01$, $P<0.05$),IL-10 含量显著升高($P<0.01$)。 **结论** 丹参通络解毒汤能降低炎症反应,抑制细胞凋亡,对缺氧/复氧 CMECs 有保护作用,其机制可能与抑制 METTL3 表达,从而下调 m⁶A 水平有关。

[关键词] 丹参通络解毒汤;甲基转移酶样 3;m⁶A 修饰;心肌缺血再灌注损伤;心肌微血管内皮细胞

[中图分类号]R285.5

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.03.007

Protective effects of Danshen Tongluo Jiedu Decoction on hypoxia/ reoxygenation-injured CMECs through regulating METTL3-mediated m⁶A modification

LU Zhewen, LIU Li, JIANG Xiao, LI Xinhui*

School of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

[Abstract] **Objective** To explore the protective effects of Danshen Tongluo Jiedu Decoction (DSTLJDD) on cardiac microvascular endothelial cells (CMECs) of rats with hypoxia/reoxygenation (H/R) injury and its influence on methyltransferase-like 3 (METTL3). **Methods** The H/R-injured CMECs model was established, and the cells were divided into blank group, model group, Chinese medicine (CM) group, overexpression group, CM+overexpression group, and empty vector group. The levels of inflammatory factors IL-1 β and IL-10 in each group were determined by ELISA, cell apoptosis was measured by flow cytometry, the protein expression level of METTL3 was checked by Western blot, and the content of m⁶A and creatine kinase (CK) were examined by colorimetry. **Results** Compared with the blank group, the protein expression of METTL3 and the level of m⁶A in the model group increased ($P<$

[收稿日期]2024-11-30

[基金项目]国家自然科学基金面上项目(82074392);湖南省自然科学基金区域联合基金项目(2023JJ50036);湖南省中医药管理局重点项目(A2023013);湖南省教育厅科学研究项目(23A0283)。

[通信作者]* 李鑫辉,男,博士,博士研究生导师,教授,E-mail:3371919714@qq.com。

0.01), the apoptosis rate of CMECs increased ($P<0.01$), the content of IL-1 β and CK increased ($P<0.01$), while the content of IL-10 decreased ($P<0.01$). Compared with the model group, the protein expression of METTL3 and the level of m⁶A in the CM group decreased ($P<0.05$, $P<0.01$), the apoptosis rate of CMECs markedly decreased ($P<0.01$), the content of IL-1 β and CK significantly decreased ($P<0.01$), while the content of IL-10 notably increased ($P<0.01$). Compared with the model group, the protein expression of METTL3 in the overexpression group increased ($P<0.01$), the apoptosis rate of CMECs increased ($P<0.01$), the content of IL-1 β and CK increased ($P<0.01$, $P<0.05$), while the content of IL-10 decreased ($P<0.01$). Compared with the overexpression group, the protein expression of METTL3 in the CM+overexpression group decreased ($P<0.01$), the apoptosis rate of CMECs decreased ($P<0.01$), the content of IL-1 β and CK decreased ($P<0.01$, $P<0.05$), while the content of IL-10 significantly increased ($P<0.01$). **Conclusion** DSTLJDD can reduce inflammatory responses, inhibit cell apoptosis, and exert protective effects on H/R-injured CMECs. Its mechanism may be related to the suppression of METTL3 expression, thereby downregulating m⁶A level.

[**Keywords**] Danshen Tongluo Jiedu Decoction; methyltransferase-like 3; m⁶A modification; myocardial ischemia-reperfusion injury; cardiac microvascular endothelial cells

冠心病的治疗中,及时再灌注对于维持心肌完整性以预防心肌梗死至关重要,然而短时间内恢复血液供应可能造成心肌更严重的损伤,即心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia/reperfusion injury, MIRI)^[1-3]。但 MIRI 的用药策略尚不明确,近年来多关注其微细损伤^[4-7]。多项研究提示,通过改变 m⁶A RNA 甲基化各类调节因子来控制 m⁶A 的水平,发挥 m⁶A 调控作用,可能是缺血性心脏病治疗的新策略^[8-9]。

甲基转移酶样 3(methyltransferase-like 3, METTL3)是催化 m⁶A 的主要蛋白,在细胞分化、血管生成、癌症发展等多种生理病理过程中发挥重要作用^[10]。李鑫辉教授基于营血分辨证和临床诊疗经验,化裁清营汤和丹参饮,创制丹参通络解毒汤。该方在前期研究中证明能抑制自噬、促进血管新生^[11-16]。本实验为进一步探讨该方对 MIRI 的影响,通过建立缺氧/复氧(hypoxia/reoxygenation, H/R)损伤大鼠心肌微血管内皮细胞(myocardial microvascular endothelial cells, CMECs)模型,观察丹参通络解毒汤通过调控 METTL3 表达引起 m⁶A 水平的变化,为临床治疗 MIRI 提供实验依据。

1 实验材料

1.1 动物与细胞

SPF 级雄性 SD 大鼠 30 只,体质量 220~230 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004。大鼠饲养于湖南中医药大学 SPF 级动物实验中心,动物使用许可证号:SYXK(湘)2019-0009。本研究经湖南中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准号:LL2023051603)。

大鼠心脏微血管内皮细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司,货号:CP-R135。

1.2 药物及制备

丹参通络解毒汤(丹参 15 g,玄参 15 g,当归 10 g,川芎 10 g,红花 10 g,檀香 10 g,黄连 6 g,栀子 15 g,生地黄 15 g,麦冬 12 g,金银花 10 g,连翘 10 g,黄芪 30 g,水蛭 6 g),饮片购于湖南中医药大学第一附属医院。所有饮片蒸馏水浸泡 30 min,常规煎煮 2 次,浓缩成 2 g/mL 的水煎液,分装,编号,置于 4 ℃冷藏保存。

1.3 主要试剂与仪器

大鼠 CMECs 完全培养基,胰蛋白酶-EDTA 消化液(武汉普诺赛生命科技有限公司,货号:CM-R135, PB180226);METTL3 过表达慢病毒(上海吉凯基因医学科技股份有限公司,货号:LV-Mettl3-45445);凋亡(APC)试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司,货号:KGA1030);IL-1 β 试剂盒、IL-10 试剂盒(武汉华美生物工程有限公司,货号:CSB-E08055r、CSB-E04595r);肌酸激酶(CK)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号:A032-1-1);BCA 蛋白定量试剂盒、GAPDH 抗体(中国 Abiowell 公司,货号:AWB0104、AWA81000);METTL3 抗体(美国 Proteintech 公司,货号:15073-1-AP);m⁶A 甲基化试剂盒(英国 Abcam 公司,货号:ab185912)。

台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:H1650R);CO₂ 细胞培养箱(美国 Thermo 公司,型号:STERI-CYCLE i250);酶标分析仪(深圳市汇松科技发展有限公司,型号:MB-530);荧光倒置显微镜(厦门 Motic 公司,型号:BA210T)。

2 实验方法

2.1 药物血清制备

将 30 只大鼠随机分为中药血清组和空白对照组, 每组 15 只。适应性喂养 3 d 后, 中药血清组予 15.65 g/(kg·d) 丹参通络解毒汤水煎液灌胃, 空白对照组予等体积蒸馏水灌胃, 2 次/d, 连续 7 d。末次灌胃 2 h 后腹腔注射苯巴比妥麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 4 ℃ 静置 4 h, 3 000 r/min 离心 ($r \approx 3$ cm) 15 min, 分离上层血清, 0.22 μ m 滤膜过滤, 56 ℃ 水浴灭活 30 min, 分装标记, -80 ℃ 冰箱保存。

2.2 缺氧/复氧细胞模型建立

生长状态良好的大鼠 CMECs 用完全培养基置于 37 ℃、95% O₂、5% CO₂ 常规培养箱中培养, 待细胞生长至约 80% 后弃去完全培养基, PBS 冲洗, 换无血清无糖 DMEM 培养基, 置于 37 ℃、94% N₂、1% O₂、5% CO₂ 低氧培养箱中缺氧培养 2 h, 后更换为完全培养基, 置于常规培养箱中复氧培养 2 h。

2.3 慢病毒转染

将 CMECs 胰酶消化, 接种至 6 孔板, 密度为 5×10^4 个/孔, 待细胞贴壁融合至 30%, 根据吉凯基因重组慢病毒载体使用手册、病毒滴度、细胞数量及感染指数 (MOI=60) 加入计算好的病毒体积加入 METTL3 过表达慢病毒进行转染, 将其置于 37 ℃、95% O₂、5% CO₂ 常规培养箱培养 10 h, 弃去含慢病毒培养液, 更换为完全培养基继续培养 36 h, 荧光显微镜下观察慢病毒转染情况, 随后采用 Western blot 检测 METTL3 表达。

2.4 分组及处理

将对数生长期 CMECs 接种于 6 孔板, 将细胞分为空白组 (不处理, 正常培养)、模型组 (建立 H/R 模型并加入对照血清培养 24 h)、中药组 (建立 H/R 模型, 加入中药血清干预 24 h)、过表达组 (建立 H/R 模型, 以 METTL3 过表达慢病毒转染后, 加入对照血清干预 24 h)、中药+过表达组 (建立 H/R 模型, 以 METTL3 过表达慢病毒转染后, 加入中药血清干预 24 h)、空载组 (建立 H/R 模型, 以 METTL3 NC 慢病毒转染后, 加入对照血清干预 24 h)。根据预实验结果, 使用 15% 药物血清。

2.5 ELISA 检测炎症因子 IL-1 β 和 IL-10 含量

将所用标准品和样本稀释到适当的浓度, 设标准孔和待测样本孔, 分别加标准品或待测样本的稀释液封闭置 37 ℃ 温育 2 h, 弃去液体, 甩干。每孔加酶标抗体封闭置 37 ℃ 温育 1 h, 弃去液体, PBS 洗板 5 次, 甩干。加入底物溶液, 37 ℃ 避光显色 15~30 min。最后加入终止液终止反应, 5 min 内用酶标仪进行检测。

2.6 流式检测细胞凋亡情况

用 PBS 洗涤细胞 2 次, 每次 2 000 r/min 离心 5 min 收集细胞, 加入 Binding buffer 吹匀成单细胞悬液。先后加入荧光标记探针 Annexin V-APC 及核酸染料 PI 混匀, 室温、避光, 反应 10 min, 1 h 内在流式细胞仪观察检测。

2.7 Western blot 检测 METTL3 蛋白表达

干预结束后收集细胞, 预冷 PBS 洗涤细胞, 3 000 r/min 离心 2 min 后去上清液, 加入 RIPA 裂解液, 超声破碎 1.5 min, 冰上裂解 10 min。预冷好的离心机 4 ℃, 12 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液, 测定蛋白浓度。蛋白变性后, 上样, 电泳 (75 V、130 min), 转膜 (300 mV、140 min), 5% 脱脂奶粉封闭, 室温放置。分别加入一抗 GAPDH (1:2 000)、METTL3 (1:5 000), 二抗 HRP (1:5 000), 室温孵育, PBST 洗膜。显影, Quantity One 分析图像, 以 GAPDH 为内参, 计算蛋白相对表达量。

2.8 比色法检测 m⁶A 及肌酸激酶

Trizol 提取细胞总 RNA, 紫外分光光度计测定浓度, 根据浓度计算样本加入量, 先后加入捕获抗体工作液、检测抗体工作液、增强液, 封闭室温摇床温育 30 min, 弃液, 洗板, 加入显色剂, 室温、避光, 反应 10 min, 加入终止剂变色后 10 min 内与酶标板测 OD 值, 波长为 450 nm。根据标准曲线计算 m⁶A 的含量。

配液, 混匀, 45 ℃ 水浴 15 min, 双蒸水调零, 660 nm 处 1 cm 光径, 测各管的吸光度值。根据标准曲线计算肌酸激酶 (creatine kinase, CK) 活力。

2.9 统计学方法

数据采用 SPSS 25.0 统计软件进行分析。计量资料符合正态分布以 " $\bar{x} \pm s$ " 表示, 多组间比较采用方差分析。均以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 慢病毒转染结果

慢病毒转染 48 h 后, 荧光显微镜下观察细胞转染情况, 见 CMECs 携带绿色荧光。详见图 1。

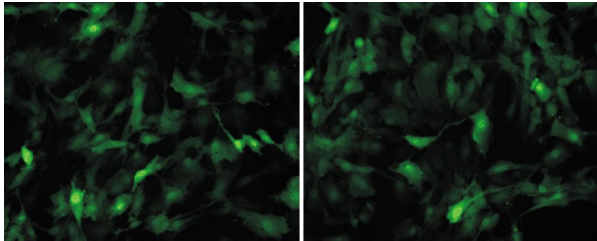


图 1 CMECs 转染后形态(免疫荧光, ×200)

Fig.1 Morphology of CMECs after transfection (immunofluorescence, ×200)

3.2 丹参通络解毒汤对 CMECs 凋亡率的影响

与空白组比较, 模型组 CMECs 凋亡率显著升高 ($P<0.01$); 与模型组相比, 中药组 CMECs 凋亡率显著降低 ($P<0.01$), 过表达组 CMECs 凋亡率显著升高 ($P<0.01$); 与过表达组比较, 中药+过表达组 CMECs 凋亡率显著降低 ($P<0.01$)。详见图 2、表 1。

3.3 丹参通络解毒汤对炎症因子 IL-1 β 、IL-10 的影响

与空白组比较, 模型组 IL-1 β 含量显著升高,

表 1 各组 CMECs 凋亡率比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1 Comparison of apoptosis rates of CMECs among different groups ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	凋亡率/%
空白组	3.69±0.10
模型组	10.27±0.44**
中药组	6.95±0.10 ^{&&}
过表达组	23.83±0.25 ^{&&}
中药+过表达组	7.54±0.04 ^{##}
空载组	16.06±0.21

注: 与空白组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, ^{&&} $P<0.01$; 与过表达组比较, ^{##} $P<0.01$ 。

IL-10 含量显著降低 ($P<0.01$); 与模型组相比, 中药组 IL-1 β 含量显著降低, IL-10 含量显著升高 ($P<0.01$), 过表达组 IL-1 β 含量显著升高, IL-10 含量显著降低 ($P<0.01$); 与过表达组比较, 中药+过表达组 IL-1 β 含量显著降低, IL-10 含量显著升高 ($P<0.01$)。详见图 3。

3.4 丹参通络解毒汤对 CK 的影响

与空白组比较, 模型组 CK 活力显著升高 ($P<0.01$); 与模型组相比, 过表达组 CK 活力升高 ($P<0.05$), 中药组 CK 活力显著降低 ($P<0.01$); 与过表达组比较, 中药+过表达组 CK 活力降低 ($P<0.05$)。详见图 4。

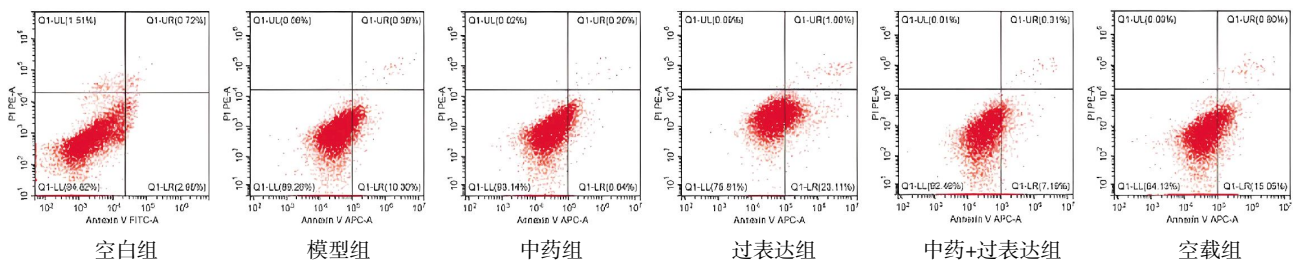


图 2 各组 CMECs 凋亡流式检测

Fig.2 Apoptosis of CMECs in each group measured by flow cytometry

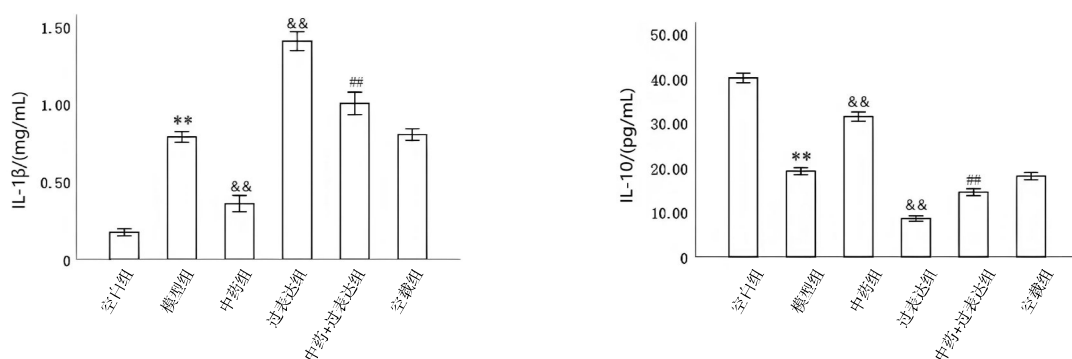


图 3 各组 CMECs IL-1 β 与 IL-10 含量情况($\bar{x}\pm s, n=5$)

Fig.3 Content of IL-1 β and IL-10 in CMECs in each group ($\bar{x}\pm s, n=5$)

注: 与空白组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, ^{&&} $P<0.01$; 与过表达组比较, ^{##} $P<0.01$ 。

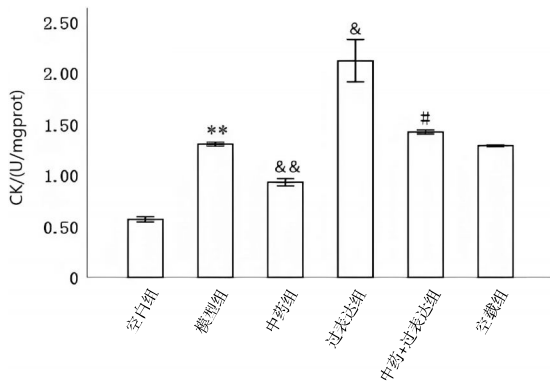


图 4 各组 CMECs CK 活力情况 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.4 CK activity in CMECs in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,&& $P < 0.01$;与过表达组比较,# $P < 0.05$ 。

3.5 丹参通络解毒汤对 METTL3 蛋白表达的影响

与空白组比较,模型组 METTL3 蛋白表达显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,中药组 METTL3 蛋白表达降低($P < 0.05$),过表达组 METTL3 蛋白表达显著升高($P < 0.01$);与过表达组比较,中药+过表达组 METTL3 蛋白表达显著降低($P < 0.01$)。详见图 5、表 2。

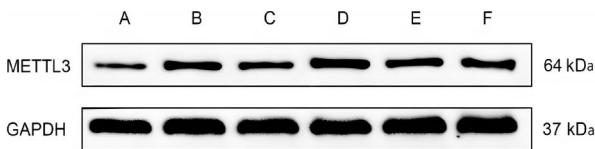


图 5 各组 CMECs METTL3 蛋白免疫印迹

Fig.5 Western blot of METTL3 protein in CMECs in each group

注:A.空白组;B.模型组;C.中药组;D.过表达组;E.中药+过表达组;F.空载组。

表 2 各组 CMECs METTL3 蛋白相对表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Comparison of relative expression of METTL3 protein in CMECs among different groups ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	METTL3
空白组	0.270±0.036
模型组	0.473±0.021**
中药组	0.367±0.015*
过表达组	0.793±0.086&&
中药+过表达组	0.447±0.032#
空载组	0.493±0.031

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,&& $P < 0.01$;与过表达组比较,# $P < 0.01$ 。

3.6 丹参通络解毒汤对 RNA 中 m⁶A 含量的影响

与空白组比较,模型组与中药组 m⁶A 水平均显

著升高($P < 0.01$);与模型组比较,中药组 m⁶A 水平显著降低($P < 0.01$)。详见图 6。

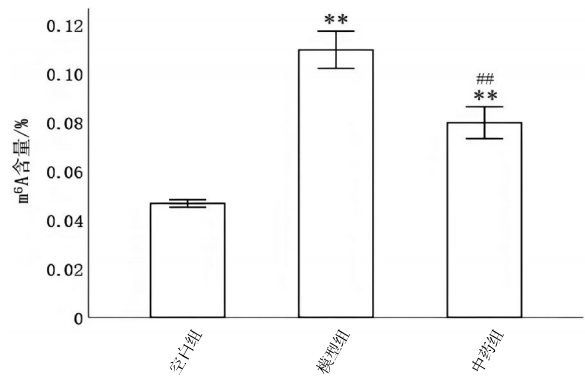


图 6 造模后及加药后 RNA 中 m⁶A 含量变化 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.6 Changes of m⁶A content in RNA after modeling and drug administration ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.01$ 。

4 讨论

MIRI 属于中医学“胸痹”“胸痹心痛”“真心痛”等范畴。研究显示,中药复方可通过多机制防治 MIRI,具有多功效协同优势^[17-18]。丹参通络解毒汤由《温病条辨》清营汤和《时方歌括》丹参饮化裁而来,针对热、瘀、毒导致的瘀热壅毒,毒损心营之证,治以活血通络,清营解毒,兼益气养阴。其中黄芪的重要有效化学成分之一黄芪甲苷 IV (As-IV) 具有抗炎、抗氧化等作用,该成分可以通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路改善 MIRI^[19]。丹参-红花药对可通过调节肠道菌群,减轻炎症反应,发挥保护 MIRI 作用^[20]。川芎可调节自噬和细胞凋亡,治疗 MIRI^[21]。黄连中含量颇高的小檗碱可减少一些炎症物质的释放,减轻心肌 I/R 损伤^[22]。团队前期研究表明,丹参通络解毒汤可抑制缺氧/复氧损伤引起的 CMECs 自噬与凋亡^[23]。在此基础上,本实验通过检测体外培养的 CMECs 凋亡率变化以及对 CK、炎症因子 IL-1 β 和 IL-10 的影响,探讨该方对 METTL3 表达及 m⁶A 水平的调控作用,综合评价丹参通络解毒汤对 CMECs 的保护作用。

m⁶A 甲基化是由甲基化酶、去甲基化酶以及结合蛋白质共同调控的一种动态可逆的修饰过程,在血管重构和血管细胞稳态维持中发挥着重要作用^[24]。有研究证明,去甲基化酶 FTO 可以减少心肌细胞的凋亡和炎症反应^[25]。多项研究表明,表观遗传学在缺血性心脏病中是重要影响因素,揭示 m⁶A 修饰可作为治疗 MIRI 新的干预靶点^[8-9]。METTL3 作为最早发

现的 m⁶A 修饰关键甲基转移酶,是 m⁶A 甲基化修饰过程中唯一的催化亚基,与 METTL1 和 WTAP 结合成甲基转移酶复合体共同完成催化作用。当细胞失去稳态时, METTL3 触发细胞内 mRNA 的整体甲基化,通过调节 mRNA 的不同亚群来决定细胞的功能和命运^[26]。在 H/R 处理的心肌细胞或 MIRI 的小鼠心脏中总 mRNA 的 m⁶A 修饰增加,提示 METTL3 可通过调节 mRNA 的 m⁶A 修饰在缺血性心脏病中起重要作用^[27]。目前多项研究提示, METTL3 与炎症因子的分泌也有紧密联系。李娟等^[28]研究发现, METTL3 通过 mRNA 的 m⁶A 修饰促进类风湿关节炎滑膜成纤维细胞分泌炎症因子。何宏湖等^[29]发现, METTL3 通过调节 MAPK 和 NF- κ B 信号通路参与脂多糖诱导小鼠小胶质细胞的炎症反应。张天择等^[30]发现, METTL3 通过 NF- κ B 信号通路促进小鼠巨噬细胞活化和炎症反应。研究提示,在 MIRI 过程中 METTL3 的表达是 m⁶A 水平上升的关键因素,同时能正向调控炎症反应的发生。

本实验建立缺氧/复氧 CMECs 模型后发现 METTL3 表达及 m⁶A 水平均升高,用药后发现二者水平均降低,说明丹参通络解毒汤可以下调 METTL3 及 m⁶A 水平,且二者正相关。流式检测结果显示, METTL3 过表达后 CMECs 凋亡率升高,用药可降低凋亡率,表明丹参通络解毒汤通过降低 METTL3 表达从而抑制损伤的 CMECs 凋亡。CK 是临床诊断及评价心血管疾病的重要标志物之一,赵德刚^[31]研究表明,血清总 CK 水平及 CK-MB 质量异常升高提示心血管疾患的存在并评估损伤程度。比色法检测 CK 结果表明, METTL3 过表达加重了 CMECs 的损伤,而含药血清可减轻其损伤,此结果与 CMECs 凋亡情况相符合。IL-1 β 、TNF- α 等介导的炎症在 MIRI 中起到关键作用^[32]。IL-10 是一种重要的抗炎细胞因子,可延缓甚至逆转冠脉粥样硬化及冠心病发生发展,随着再灌注时间的延长,水平呈下降趋势^[33-34]。ELISA 检测结果显示, METTL3 过表达可促进介导炎症反应 IL-1 β 分泌,而降低 IL-10 分泌,表明 METTL3 的表达能正向促进炎症因子的发生;用药后发现炎症反应减轻,提示丹参通络解毒汤通过降低 METTL3 表达起到抗炎作用。

综上所述, m⁶A 甲基化修饰在心肌 IRI 及心脏

再生中发挥重要调控作用, METTL3 是关键的调节因子。通过调控 METTL3 的表达来控制 m⁶A 水平,可能是防治 MIRI, 保护心肌的有力策略。在再灌注的早期, CMECs 的凋亡早于心肌细胞, 保护 CMECs 可能是防止 IRI 恶化的关键。丹参通络解毒汤能抑制缺氧/复氧 CMECs 中 METTL3 表达, 下调 m⁶A 水平, 降低炎症反应, 抑制 CMECs 凋亡。这或许是该方临床验效的微观基础, 但 m⁶A 甲基化在 MIRI 中的作用及机制亟待后续深入研究。

参考文献

- [1] VIRANI S S, ALONSO A, BENJAMIN E J, et al. Heart disease and stroke statistics—2020 update: A report from the American heart association[J]. *Circulation*, 2020, 141(9): e139–e596.
- [2] ELGENDY I Y, MAHTTA D, PEPINE C J. Medical therapy for heart failure caused by ischemic heart disease[J]. *Circulation Research*, 2019, 124(11): 1520–1535.
- [3] NERI M, RIEZZO I, PASCALE N, et al. Ischemia/reperfusion injury following acute myocardial infarction: A critical issue for clinicians and forensic pathologists[J]. *Mediators of Inflammation*, 2017, 2017: 7018393.
- [4] LIAO Z F, CHEN Y L, DUAN C C, et al. Cardiac telocytes inhibit cardiac microvascular endothelial cell apoptosis through exosomal miRNA-21-5p-targeted cdipl1 silencing to improve angiogenesis following myocardial infarction[J]. *Theranostics*, 2021, 11(1): 268–291.
- [5] WU X K, REBOLL M R, KORF-KLINGEBIEL M, et al. Angiogenesis after acute myocardial infarction[J]. *Cardiovascular Research*, 2021, 117(5): 1257–1273.
- [6] LIU F, SONG L S, LU Z Q, et al. Isosteviol improves cardiac function and promotes angiogenesis after myocardial infarction in rats[J]. *Cell and Tissue Research*, 2022, 387(2): 275–285.
- [7] NOWAK-SLIWINSKA P, ALITALO K, ALLEN E, et al. Consensus guidelines for the use and interpretation of angiogenesis assays[J]. *Angiogenesis*, 2018, 21(3): 425–532.
- [8] XU Z J, LV B B, QIN Y, et al. Emerging roles and mechanism of m⁶A methylation in cardiometabolic diseases[J]. *Cells*, 2022, 11(7): 1101.
- [9] 徐豪, 黄沂锋, 张良清, 等. m⁶A 甲基化在心肌缺血再灌注与心肌再生中的研究进展[J]. *心脏杂志*, 2023, 35(6): 705–710, 726.
- [10] LUO G, CHEN J L, REN Z J. Regulation of methylase METTL3 on fat deposition[J]. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 2021, 14: 4843–4852.
- [11] 夏旭婷, 李昇聪, 李鑫辉, 等. 丹参通络解毒汤通过调控 Beclin-1 对缺氧/复氧 CMECs 的保护作用及机制[J]. *中华中医药*

- 杂志, 2023, 38(5): 2323-2328.
- [12] 夏旭婷, 李昇聪, 李鑫辉, 等. 丹参通络解毒汤含药血清调控 MALAT1 对缺氧/复氧大鼠心肌微血管内皮细胞的保护作用及机制研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2024, 31(1): 110-116.
- [13] 李彩云, 刘仕成, 李鑫辉. 丹参通络解毒汤对心肌缺血再灌注损伤大鼠的保护作用及自噬和血管生成因子的影响[J]. 时珍国医国药, 2024, 35(2): 293-296.
- [14] 刘泳钊, 颜梦凡, 李彩云, 等. 丹参通络解毒汤调控 MicroRNA-126 对心肌缺血再灌注损伤大鼠血管新生的影响[J]. 时珍国医国药, 2024, 35(10): 2305-2310.
- [15] 李昇聪, 王静雯, 李鑫辉, 等. 丹参通络解毒汤对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌组织 Atg5、Beclin-1 及 LC3 表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(4): 58-63.
- [16] 李彩云, 肖青, 李鑫辉, 等. 丹参通络解毒汤联合内皮祖细胞移植对心肌缺血再灌注损伤大鼠促血管新生作用的研究[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(1): 25-29, 260-262.
- [17] 李睿, 刘诗怡, 纪树亮, 等. 心肌缺血再灌注损伤中医辨证论治研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2024, 30(1): 145-151.
- [18] 廉坤, 廖晓倩, 雷峻显, 等. 从“心-脾-肾一体观”探讨动脉粥样硬化的中医药治疗[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(11): 2102-2110.
- [19] YANG P, ZHOU Y P, XIA Q, et al. Astragaloside IV regulates the PI3K/Akt/HO-1 signaling pathway and inhibits H9c2 cardiomyocyte injury induced by hypoxia-reoxygenation[J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2019, 42(5): 721-727.
- [20] 王小平, 杜少兵, 白吉庆, 等. 基于肠道菌群的丹参-红花药对抗心肌缺血机制探讨[J]. 中国药业, 2022, 31(8): 30-37.
- [21] LI D, LONG Y, YU S, et al. Research advances in cardiovascular diseases of *Ligusticum chuansiang hort*[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 12: 832673.
- [22] WANG J, WANG L, LOU G H, et al. *Coptidis Rhizoma*: A comprehensive review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2019, 57(1): 193-225.
- [23] 颜梦凡, 刘泳钊, 李彩云, 等. 丹参通络解毒汤含药血清调控 miR-126 表达对缺氧/复氧大鼠心肌微血管内皮细胞自噬的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2024, 31(11): 136-141.
- [24] 柳鑫龙, 于倩, 孔鹏. m⁶A 修饰与血管重构[J/OL]. 中国动脉硬化杂志, 1-19[2024-10-28]. <https://link.cnki.net/urlid/43.1262.R.20240918.1720.002>.
- [25] KE W L, HUANG Z W, PENG C L, et al. m⁶A demethylase FTO regulates the apoptosis and inflammation of cardiomyocytes via YAP1 in ischemia-reperfusion injury[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 5443-5452.
- [26] CHIEN C S, LI J Y, CHIEN Y, et al. METTL3-dependent N⁶-methyladenosine RNA modification mediates the atherogenic inflammatory cascades in vascular endothelium[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(7): e2025070118.
- [27] SONG H W, FENG X, ZHANG H, et al. METTL3 and ALKBH5 oppositely regulate m⁶A modification of TFEB mRNA, which dictates the fate of hypoxia/reoxygenation-treated cardiomyocytes[J]. *Autophagy*, 2019, 15(8): 1419-1437.
- [28] 李娟, 蒋扬青, 沈瑞明, 等. METTL3 通过 mRNA m⁶A 甲基化促进类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖、迁移及分泌炎症因子[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(4): 619-626.
- [29] 何宏湖, 陈红常, 廖嘉家, 等. METTL3 通过调节 MAPK 和 NF- κ B 信号通路参与脂多糖诱导小鼠小胶质细胞的细胞炎症反应[J]. 中国临床神经科学, 2021, 29(2): 121-127.
- [30] 张天择, 陈旭, 王微, 等. 甲基转移酶样蛋白 3(METTL3)通过 NF- κ B 信号通路促进小鼠巨噬细胞活化和炎症反应[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35(8): 727-732.
- [31] 赵德刚. 血清总 CK、CKMB 质量/总 CK 在心血管疾病中的表达及意义[J]. 检验医学与临床, 2023, 20(23): 3477-3479, 3484.
- [32] GUO X, HU S, LIU J J, et al. Piperine protects against pyroptosis in myocardial ischaemia/reperfusion injury by regulating the miR-383/RP105/AKT signalling pathway[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2021, 25(1): 244-258.
- [33] 高楠, 田祥, 刘露, 等. 白细胞介素-10 与心血管疾病关系研究进展[J]. 陕西医学杂志, 2017, 46(11): 1623-1624.
- [34] 刘媛媛, 田学峰, 霍红, 等. 急性心肌梗死患者 PCI 术后血清 TNF- α 和 IL-10 水平变化及其临床意义[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2019, 11(8): 94-97.

(本文编辑 苏维)