

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.19.018

miR-589-5p 靶向调控 TET2 对人脑微血管
内皮细胞增殖和凋亡的影响*王 静¹, 陈 俊¹, 魏云杰^{2△}

十堰市太和医院/湖北医药学院附属医院;1. 神经内科;2. 心血管内科, 湖北十堰 442000

摘要:目的 探讨 miR-589-5p 靶向调控甲基胞嘧啶双加氧酶 2(TET2)对人脑微血管内皮细胞(hBM-VECs)增殖和凋亡的影响。方法 体外培养 hBMVECs,进行细胞转染和双萤光素酶检测;将细胞分为对照组、LPS 组、miR-NC+LPS 组和 miR-589-5p inhibitor+LPS 组,处理 24 h 后检测细胞增殖率和细胞凋亡率,同时检测细胞中 miR-589-5p 和 TET2 相关 mRNA 和蛋白表达水平。结果 检索 TargetScan 数据库显示,miR-589-5p 对 TET2 有潜在的结合位点。与对照组相比,其余各组细胞凋亡率及 miR-589-5p mRNA、Nod 样受体蛋白 3(NLRP3)蛋白、半胱氨酸天冬氨酸酶(Caspase)-1 蛋白、白细胞介素-1 β (IL-1 β)蛋白、Caspase-3 蛋白水平均增加($P<0.05$),细胞增殖率及 TET2 mRNA、TET2 蛋白水平均降低($P<0.05$);与 LPS 组和 miR-NC+LPS 组相比,miR-589-5p inhibitor+LPS 组细胞凋亡率及 miR-589-5p mRNA、NLRP3 蛋白、Caspase-1 蛋白、IL-1 β 蛋白、Caspase-3 蛋白水平均降低($P<0.05$),细胞增殖率及 TET2 mRNA、TET2 蛋白水平均增加($P<0.05$);LPS 组和 miR-NC+LPS 组细胞增殖率、细胞凋亡率及 miR-589-5p mRNA、TET2 mRNA、TET2 蛋白、NLRP3 蛋白、Caspase-1 蛋白、IL-1 β 蛋白、Caspase-3 蛋白水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 在 LPS 环境下,hBMVECs 中的 miR-589-5p 表达增加,通过转染 miR-589-5p inhibitor 可以增加 TET2 表达,促进 hBMVECs 增殖,并抑制 hBMVECs 凋亡。

关键词:miR-589-5p; 甲基胞嘧啶双加氧酶 2; 人脑微血管内皮细胞; 细胞凋亡; 细胞增殖**中图法分类号:**R446.1;R743**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2024)19-2871-05Effect of miR-589-5p targeted regulation of TET2 on proliferation and apoptosis of
human brain microvascular endothelial cells*WANG Jing¹, CHEN Jun¹, WEI Yunjie^{2△}1. Department of Neurology; 2. Department of Cardiovascular Medicine, Taihe Hospital/
Affiliated Hospital, Hubei Medical University, Shiyan, Hubei 442000, China

Abstract: Objective To explore the effect of miR-589-5p targeting regulation of Tet methylcytosine dioxygenase 2(TET2) on the proliferation and apoptosis of human brain microvascular endothelial cells(hBM-VECs). **Methods** hBMVECs were cultured in vitro, transfected and detected by double luciferase. The cells were divided into the control group, LPS group, miR-NC+LPS group and miR-589-5p inhibitor+LPS group. After treatment for 24 h, the cell proliferation rate and apoptosis rate were detected, meanwhile the expression levels of miR-589-5p and TET2-related mRNA and protein in cells were also detected. **Results** Retrieving the Targeted Scan database showed that miR-589-5p had the potential binding sites for TET2. Compared with the control group, the apoptosis rate, miR-589-5p mRNA, Nod-like receptor protein 3 (NLRP3) protein, cysteine aspartase (Caspase)-1 protein, interleukin-1 β (IL-1 β) protein and Caspase-3 protein levels in the other groups were increased ($P<0.05$), while the cell proliferation rate, TET2 mRNA, and TET2 protein levels were decreased ($P<0.05$); compared with the LPS group and miR-NC+LPS group, the cell apoptosis rate, miR-589-5p mRNA, NLRP3 protein, Caspase-1 protein, IL-1 β protein and Caspase-3 protein levels in the miR-589-5p inhibitor+LPS group were decreased ($P<0.05$), while the cell proliferation rate, TET2 mRNA and TET2 protein levels were increased ($P<0.05$); there was no statistically significant difference in the cell proliferation rate, cell apoptosis rate, and miR-589-5p mRNA, TET2 mRNA, TET2 protein, NLRP3 protein, Caspase-1 protein, IL-1 β protein, Caspase-3 protein levels between the LPS group and miR-NC+LPS group ($P>0.05$). **Conclusion** Under the LPS environment, the expression of miR-589-5p in hBMVECs is increased. Transfect-

* 基金项目:湖北省十堰市科学技术研究与开发计划项目(2020K52)。

作者简介:王静,女,医师,主要从事神经性疾病诊治方面的研究。△ 通信作者,E-mail:weiyunjie200@163.com。

ing miR-589-5p inhibitor could increase the expression of TET2, promote the proliferation of hBMVECs and inhibit the apoptosis of hBMVECs.

Key words: miR-589-5p; Tet methylcytosine dioxygenase 2; human brain microvascular endothelial cells; cell apoptosis; cell proliferation

人脑微血管内皮细胞(hBMVECs)是血脑屏障的重要组成部分,在维持脑血管系统的稳态中起着至关重要的作用。hBMVECs 功能障碍被认为是缺血性脑卒中、蛛网膜下腔出血等脑血管疾病的最直接原因^[1-2]。许多研究表明,氧化应激、炎症和内质网应激等多种因素引起的 hBMVECs 凋亡与脑血管疾病的进展密切相关^[3]。因此,明确 hBMVECs 增殖和凋亡调控的分子机制对减轻脑损伤具有重要意义。微小核糖核酸(miRNA)是一种长度为 17~22 个核苷酸的内源性非编码单链 RNA,通过与靶 mRNA 的 3'-非翻译区(3'-UTR)结合来调节相关蛋白的表达。最近的研究表明,miRNA 在脑血管疾病的进展中起着至关重要的作用。例如,miR-1 和 miR-208 被认为是多种心脑血管疾病的新生物标志物,包括冠状动脉疾病、急性心肌梗死和脑卒中^[4-5]。miR-589-5p 最初报道存在于脑组织中,它可以通过影响脑源性神经营养因子的基因表达来调节神经元可塑性。最近的研究表明,miR-589-5p 具有肿瘤抑制作用。在肝癌中,miR-589-5p 表达下调,而过表达 miR-589-5p 可增加白细胞分化抗原 90(CD90)阳性肝癌细胞凋亡,抑制肝癌细胞增殖^[6]。上述研究提示 miR-589-5p 可能是调控癌增殖和凋亡的关键因子。然而,miR-589-5p 在 hBMVECs 增殖和凋亡中的作用和机制尚不清楚。甲基胞嘧啶双加氧酶 2(TET2)是一种表观遗传调控酶,催化 5-甲基胞嘧啶氧化为 5-氢甲基胞嘧啶(5-hmC)。研究发现,TET2 水平在动脉粥样硬化病变中下调,并导致血管内皮细胞的活力和迁移能力减弱^[7]。有趣的是,生物信息学分析表明,TET2 是 miR-589-5p 一个理论上的靶基因。因此,本研究探讨 TET2 与 miR-589-5p 之间的潜在关系,以及 miR-589-5p 在 hBMVECs 增殖和凋亡中的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 hBMVECs、胎牛血清和 DMEM 低糖培养基(葡萄糖浓度为 5.5 mmol/L)均购自美国 ScienCell 公司;脂多糖(LPS)购自美国 Sigma 公司;miR-589-5p 模拟物(miR-589-5p mimic)、Lipofectamine 3000 转染试剂盒、miRNA 阴性对照(miR-NC)和 miR-589-5p 抑制物(miR-589-5p inhibitor)均购自美国 Promega 公司;双荧光素酶检测试剂盒购自深圳市东创实验科技有限公司;miR-589-5p (正向引物:5'-GCGATACTCCCTTTAAAGGTTG-3',反向引物:5'-TACAAGGTCTCCGGTGATG-3')、TET2(正向引物:5'-GAGGAGATAGGCTTGGGT-3',反向引物:5'-CTTTGGTGGGAAGAGGA-3')和

β -actin (正向引物:5'-TGGCACCCAGCACAAT-GAA-3',反向引物:5'-CTAAGTCATAGTCCGC-CTAGAAGCA-3')均购自宝生物工程(大连)有限公司;TRIzol、RNA 反转录试剂盒和荧光定量聚合酶链反应(PCR)试剂盒购自日本 TaKaRa 公司;RIPA 裂解缓冲液购自武汉博士德生物工程有限公司;TET2、Nod 样受体蛋白 3(NLRP3)、半胱氨酸天冬氨酸酶 1(Caspase-1)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、半胱氨酸天冬氨酸酶 3(Caspase-3)、 β -actin 均购自美国 Santa Cruz 公司。流式细胞仪购自美国 Freaman-Coulter 公司;Real-time PCR 扩增仪购自美国 Life Technologies 公司;BD 垂直电泳仪购自美国 Life Technologies 公司;凝胶成像仪购自美国 UVP 公司。

1.2 miR-589-5p 对 TET2 的靶向调节作用 检索 www.Targetscan.org 分析 miR-589-5p 对 TET2 潜在的结合位点。

1.3 细胞的转染及双荧光素酶检测 将第 3 代 hBMVECs 接种于 24 孔板(4×10⁴/孔),将 miR-NC、miR-589-5p mimic、miR-589-5p inhibitor 转染到 hBMVECs,步骤参照 Lipofectamine 3000 说明书进行,转染 48 h 后分析 TET2 野生型(wt)/突变型(mut)荧光素酶活性,步骤参照双荧光素酶检测试剂盒说明书进行操作,以未进行转染的细胞为对照。

1.4 细胞培养及分组 选对数生长期细胞进行实验,对 hBMVECs 进行如下分组。(1)对照组:用 DMEM 低糖培养基培养 hBMVECs;(2)LPS 组:用含终水平为 2 μ g/mL 的 LPS DMEM 低糖培养基培养 hBMVECs;(3)miR-NC+LPS 组:转染 miR-NC 后用含终水平为 2 μ g/mL 的 LPS DMEM 低糖培养基培养 hBMVECs;(4)miR-589-5p inhibitor+LPS 组:转染 miR-589-5p inhibitor 后用含终水平为 1 μ g/mL 的 LPS DMEM 低糖培养基培养 hBMVECs。每组设置 3 个复孔,处理 24 h 后进行相关实验。

1.5 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 检测各组细胞中 miR-589-5p 和 TET2 mRNA 的表达 按 1.4 处理 hBMVECs 后收集细胞,加入 TRIzol 试剂进行总 RNA 的提取,将总 RNA 逆转录成 cDNA,进行 RT-qPCR 扩增,采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 miR-589-5p 和 TET2 mRNA 的相对表达量(以 β -actin 作为内对照)。

1.6 甲基噻唑基四唑(MTT)法检测细胞增殖率 按 1.4 处理 hBMVECs 后加入 MTT(50 μ L/孔),继续培养 4 h,加入二甲基亚砷(200 μ L/孔),酶标仪测定 490 nm 处吸光度值(A 值),计算细胞增殖率[(实验组 A 值-对照组 A 值)/对照组 A 值×100%]。

1.7 流式细胞法检测细胞凋亡率 按 1.4 处理 hBMVECs 后收集细胞,用磷酸盐缓冲液洗细胞 2 次,离心弃上清后检测细胞凋亡率,具体步骤参照 AnnexinV/PI 细胞凋亡试剂盒说明书进行。

1.8 蛋白质免疫印迹法检测细胞中 TET2、NLRP3、Caspase-1、IL-1β 和 Caspase-3 蛋白水平 按 1.4 处理 hBMVECs 后收集细胞,用磷酸盐缓冲液细胞 2 次,离心弃上清液,加入 100 μL RIPA 裂解缓冲液,冰上裂解(30 min),离心取上清液,进行电泳(30 μg/孔),8%SDS-PAGE 分离后转移到聚偏氟乙烯膜,5%脱脂牛奶封闭后与 TET2(1 : 200)、NLRP3(1 : 300)、Caspase-1(1 : 200)、IL-1β(1 : 400)、Caspase-3(1 : 300)和 β-actin(1 : 1 000)抗体孵育过夜(4 ℃),洗膜后与 HRP 标记山羊抗鼠二抗孵育(30 min),显色采集图像,进行光密度定量(以 β-actin 作为内对照)。

1.9 统计学处理 采用 SPSS24.0 软件进行数据分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 SNK-*q* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 miR-589-5p 对 TET2 的靶向调节作用 检索 TargetScan 数据库显示,miR-589-5p 对 TET2 有潜在的结合位点,见图 1。双荧光素酶结果显示,转染 miR-589-5p mimic 的细胞中 TET2-wt 荧光素酶活性高于未转染的细胞、转染 miR-NC 的细胞、转染 miR-589-5p inhibitor 的细胞($P < 0.05$),而未转染、转染 miR-NC、转染 miR-589-5p inhibitor 的 3 种细胞中 TET2-wt 荧光素酶活性比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);转染 miR-589-5p inhibitor 的细胞中 TET2-mut 荧光素酶活性均低于未转染的细胞、转染 miR-NC 的细胞、转染 miR-589-5p mimic 的细胞($P < 0.05$),而未转染、转染 miR-NC、转染 miR-589-5p mimic 的 3 种细胞中 TET2-mut 荧光素酶活性比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

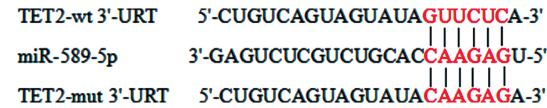


图 1 miR-589-5p 与 TET2 mRNA 的互补配对系列

2.2 各组细胞中 miR-589-5p、TET2 mRNA 水平比较 与对照组相比,其余各组细胞中 miR-589-5p mRNA 水平增加($P < 0.05$),TET2 mRNA 水平降低($P < 0.05$);与 LPS 组和 miR-NC+LPS 组相比,miR-589-5p inhibitor+LPS 组细胞中 miR-589-5p mRNA 水平降低($P < 0.05$),TET2 mRNA 水平增加($P < 0.05$);LPS 组和 miR-NC+LPS 组 miR-589-5p mRNA、TET2 mRNA 水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 各组 hBMVECs 细胞增殖率、凋亡率比较 与对照组相比,LPS 组、miR-NC+LPS 组和 miR-589-5p inhibitor+LPS 组细胞增殖率降低($P < 0.05$),细胞凋亡率增加($P < 0.05$);与 LPS 组和 miR-NC+LPS 组相比,miR-589-5p inhibitor+LPS 组细胞增殖率增加($P < 0.05$),细胞凋亡率降低($P < 0.05$);LPS 组和 miR-NC+LPS 组细胞增殖率、凋亡率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 1 双荧光素酶报告基因实验结果($\bar{x} \pm s$)

项目	TET2-wt	TET2-mut
未转染的细胞	1.00±0.10	1.00±0.15
转染 miR-NC 的细胞	1.07±0.18	1.04±0.19
转染 miR-589-5p inhibitor 的细胞	1.03±0.13	0.61±0.09 ^{ab}
转染 miR-589-5p mimic 的细胞	1.84±0.25 ^{abc}	0.99±0.12 ^c
<i>F</i>	16.112	5.990
<i>P</i>	0.001	0.019

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与转染 miR-NC 的细胞比较,^b $P < 0.05$;与转染 miR-589-5p inhibitor 的细胞比较,^c $P < 0.05$ 。

表 2 各组细胞中 miR-589-5p 和 TET2 mRNA 水平比较($\bar{x} \pm s$)

分组	miR-589-5p mRNA	TET2 mRNA
对照组	1.00±0.16	1.00±0.11
LPS 组	1.94±0.25 ^a	0.61±0.09 ^a
miR-NC+LPS 组	1.90±0.21 ^a	0.64±0.05 ^a
miR-589-5p inhibitor+LPS 组	1.41±0.05 ^{abc}	0.78±0.12 ^{abc}
<i>F</i>	17.703	10.237
<i>P</i>	0.001	0.004

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 LPS 组比较,^b $P < 0.05$;与 miR-NC+LPS 组比较,^c $P < 0.05$ 。

表 3 各组 hBMVECs 细胞增殖率和凋亡率比较($\bar{x} \pm s, \%$)

分组	细胞增殖率	细胞凋亡率
对照组	100.00±15.02	0.79±0.10
LPS 组	46.52±7.52 ^a	7.27±1.13 ^a
miR-NC+LPS 组	49.37±6.17 ^a	7.15±0.83 ^a
miR-589-5p inhibitor+LPS 组	69.40±10.64 ^{abc}	4.39±0.56 ^{abc}
<i>F</i>	16.835	48.631
<i>P</i>	0.001	<0.001

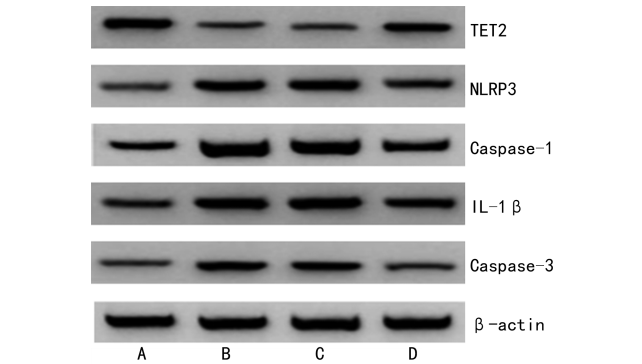
注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 LPS 组比较,^b $P < 0.05$;与 miR-NC+LPS 组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.4 各组细胞中 TET2、NLRP3、Caspase-1、IL-1β、Caspase-3 蛋白水平比较 与对照组相比,其余各组细胞中 TET2 蛋白水平降低($P < 0.05$),NLRP3、Caspase-1、IL-1β、Caspase-3 蛋白水平均增加($P < 0.05$);与 LPS 组、miR-NC+LPS 组相比,miR-589-5p inhibitor+LPS 组细胞中 TET2 蛋白水平增加($P < 0.05$),NLRP3、Caspase-1、IL-1β、Caspase-3 蛋

白水平平均降低($P<0.05$);LPS 组和 miR-NC+LPS 蛋白水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 4 和图 2。

表 4 各组细胞中 TET2、NLRP3、Caspase-1、IL-1β 和 Caspase-3 蛋白水平比较($\bar{x}\pm s$)					
分组	TET2	NLRP3	Caspase-1	IL-1β	Caspase-3
对照组	0.75±0.09	0.43±0.05	0.51±0.06	0.46±0.08	0.24±0.03
LPS 组	0.31±0.04 ^a	0.95±0.12 ^a	1.64±0.29 ^a	1.22±0.14 ^a	0.47±0.08 ^a
miR-NC+LPS 组	0.33±0.05 ^a	0.97±0.09 ^a	1.57±0.13 ^a	1.25±0.20 ^a	0.45±0.05 ^a
miR-589-5p inhibitor+LPS 组	0.62±0.07 ^{abc}	0.76±0.15 ^{abc}	0.84±0.05 ^{abc}	0.89±0.11 ^{abc}	0.32±0.05 ^{abc}
F	33.195	15.826	34.432	20.820	11.643
P	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.003

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与 LPS 组比较,^b $P<0.05$;与 miR-NC+LPS 组比较,^c $P<0.05$ 。



注:A 为对照组;B 为 LPS 组;C 为 miR-NC+LPS 组;D 为 miR-589-5p inhibitor+LPS 组。

图 2 各组细胞中 TET2、NLRP3、Caspase-1、IL-1β、Caspase-3 蛋白水平比较

3 讨 论

hBMVECs 损伤往往是脑血管疾病的主要病理特征,已被证实是缺血性脑卒中发生的关键事件^[8]。hBMVECs 增殖是新生血管形成和血管损伤修复的关键过程。先前的研究表明,LPS 可通过抑制内皮型一氧化氮合酶(ENOS),抑制 hBMVECs 增殖^[9]。大多数心血管危险因素可诱导 hBMVECs 凋亡,导致内皮功能改变^[10]。因此,明确 hBMVECs 增殖和凋亡的调控因素对脑血管疾病调控具有十分必要的意义。研究发现,miRNA 在包括细胞增殖、细胞凋亡和心血管疾病在内的多种细胞过程中发挥关键作用,且在病灶组织和正常组织中,miRNA 谱存在明显差异^[11]。本研究重点是探讨 miR-589-5p 在 hBMVECs 增殖和凋亡中的功能。既往研究表明,miR-589-5p 已被报道在许多人类疾病,特别是癌症中发挥负调控作用^[12]。有报道称,miR-589-5p 高表达与肝细胞癌患者预后不良相关^[13]。同时,miR-589-5p 在过氧化氢诱导的神经细胞中高表达,其抑制剂可以减轻神经细胞损伤^[14]。本研究发现,在 LPS 诱导下,hBMVECs 中的 miR-589-5p mRNA 水平显著上调,诱导 hBMVECs 凋亡。通过转染 miR-589-5p inhibitor 可以降低 miR-589-5p mRNA 表达,抑制 hBMVECs 凋亡。这些发现证实 miR-589-5p 的低表达可能是减轻脑损伤的有效策略。通过生物信息学分析,TET2 是 miR-589-5p 理论上的

靶基因,其结合位点在其 3'-UTR 处,这一结论基于 miR-589-5p mimic 显著增加 hBMVECs 中 TET2-wt 3'-UTR 荧光素酶活性。

TET2 属于 TET 家族,在维持干细胞多能性方面起着至关重要的作用。有研究表明,TET2 在 LPS 诱导的内皮细胞中表达明显降低,其高表达可以保护内皮细胞免受损伤^[15-16]。最重要的是,有报道称 TET2 过表达是动脉粥样硬化的一种治疗策略,而 TET2 敲低也会增加脑梗死面积和神经功能损伤,从而加速脑损伤^[17-18]。与这些报道的结果相似,本研究表明,TET2 过表达对 hBMVECs 具有保护作用,可以抑制 LPS 诱导的 hBMVECs 凋亡,降低细胞内的氧化应激和炎症反应,降低内质网应激。转染实验结果显示,miR-589-5p 的敲低逆转了 TET2 对 LPS 诱导的 hBMVECs 损伤的负调控,证实 miR-589-5p 通过靶向 TET2 调控脑损伤。

内质网应激诱导的 hBMVECs 凋亡参与了包括缺血再灌注损伤在内的脑血管疾病的进展。LPS 是 hBMVECs 功能障碍的关键危险因素,LPS 致细胞内氧化应激加剧^[19]。活性氧(ROS)主要来源于线粒体,是炎症小体活化的重要介质,线粒体来源的 ROS 可抑制内皮 ENOS 合酶,激活核转录因子-κB (NF-κB) 信号,促进 NLRP3 的活化^[20]。NLRP3 炎症小体可以激活 Caspase-1,进而促进炎症细胞因子 IL-1β 的分泌,激活 Caspase-3 致细胞凋亡,导致炎症加重^[21]。本研究发现,转染 miR-589-5p inhibitor 后可以增加 hBMVECs 中 TET2 水平,进而降低 hBMVECs 中 NLRP3、Caspase-1、IL-1β、Caspase-3 蛋白水平,抑制 LPS 诱导的 hBMVECs 凋亡,为靶向治疗脑血管疾病提供了一条新的信号通路。然而,本研究存在一定的局限性。其他 miRNA 和基因可能在 hBMVECs 增殖和凋亡中也发挥重要作用。一个 miRNA 可以调控多个靶基因,同一个靶基因又可以受多个 miRNA 调控^[22-23]。除了 miR-589-5p 外,TET2 还有其他潜在的 miRNA 结合位点,如 miR-495,据报道,miR-199a-5p 通过调节 TET2 的表达,在人脐静脉内皮细胞的增殖和凋亡中也发挥重要作用^[24]。提示 miR-495 可能在

hBMVECs 增殖和凋亡中发挥重要作用。此外, miR-589-5p 可能调控其他基因, 这些基因也可能在 hBMVECs 生物学中发挥重要作用。因此, 本研究将在未来的研究中重点关注其他 miRNA 和靶基因在 hBMVECs 增殖和凋亡中的作用。

综上所述, 在 LPS 环境下, hBMVECs 中的 miR-589-5p mRNA 表达增加, 并抑制 hBMVECs 增殖, 诱导 hBMVECs 凋亡, 通过转染 miR-589-5p inhibitor 后, 可以靶向促进 TET2 表达, 抑制 hBMVECs 凋亡, 提示 miR-589-5p 可能是治疗脑血管疾病的一个新的潜在靶点。然而, 需要进一步的直接证据来验证 miR-589-5p 在体内的具体作用, 并确定是否通过 TET2 对 hBMVECs 的增殖、凋亡发挥调控作用。

参考文献

- [1] 柳双桂, 张慧燕, 王震华. REDD1 升高加重脑梗死后血管内皮细胞损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(8): 1415-1421.
- [2] YANG Q, YU J, QIN H, et al. Irbesartan suppresses lipopolysaccharide(LPS)-induced blood-brain barrier(BBB) dysfunction by inhibiting the activation of MLCK/MLC [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 98(1): 107834.
- [3] HUANG Z H, HUANG B, WEI Q S, et al. The protective effects of benzbromarone against Propofol-Induced inflammation and injury in human brain microvascular endothelial cells (hBMVECs) [J]. Neurotox Res, 2021, 39(5): 1449-1458.
- [4] 王佳, 徐李文静, 孙启玉. 血浆 miR-1、RDW 水平对高血压并发心房颤动患者发生缺血性脑卒中的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(13): 1816-1820.
- [5] 罗高蓉, 李鸿宇, 葛尤. 门冬氨酸钾镁联合重组人脑利钠肽对急性心肌梗死病人心室重塑及血清 miR-208b、miR-302b 表达的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(10): 1848-1853.
- [6] LIU J, JIANG K. METTL3-mediated maturation of miR-589-5p promotes the malignant development of liver cancer[J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(9): 2505-2519.
- [7] ZHU G Z, LI Y J, ZHU F, et al. Coordination of engineered factors with TET1/2 promotes early-stage epigenetic modification during somatic cell reprogramming[J]. Stem Cell Reports, 2014, 2(3): 253-261.
- [8] 何彩霞. 微血管内皮细胞膜微粒对星形胶质细胞和血脑屏障功能的调节及对缺血性脑卒中的影响[D]. 湛江: 广东医学院, 2016.
- [9] CHANDRA P K, RUTKAI I, KIM H, et al. Latent HIV-Exosomes induce mitochondrial hyperfusion due to loss of phosphorylated Dynamin-related protein 1 in brain endothelium[J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(6): 2974-2989.
- [10] SCHMITT R R, KALIYAPPAN K, MUTHAIAH V P K, et al. Blast-induced injury responsive relative gene expression of traumatic brain injury biomarkers in human brain microvascular endothelial cells[J]. Brain Res, 2021,

1770: 147642.

- [11] SAGWAL V, SIHAG P, SINGH Y, et al. Development and characterization of nitrogen and phosphorus use efficiency responsive genic and miRNA derived SSR markers in wheat[J]. Heredity (Edinb), 2022, 128(6): 391-401.
- [12] JI L, JIANG X, MAO F, et al. miR-589-5p is downregulated in prostate cancer and regulates tumor cell viability and metastasis by targeting CCL-5 [J]. Mol Med Rep, 2019, 20(2): 1373-1382.
- [13] 徐牧. 基于 TCGA 数据库的肝癌组织 microRNA 表达谱分析及 miR-589-5p 在肝癌中作用的初步探究[D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [14] WANG Y F, DONG L W, LIU Y Y. Targeting thyroid receptor interacting protein 6 by microRNA-589-5p inhibits cell proliferation, migration, and invasion in endometrial carcinoma[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2019, 34(8): 529-536.
- [15] MA Q Y, DASGUPTA C, SHEN G F, et al. MicroRNA-210 downregulates TET2 and contributes to inflammatory response in neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. J Neuroinflammation, 2021, 18(1): 6.
- [16] LV H, ZONG Q, CHEN C, et al. TET2-mediated tumor cGAS triggers endothelial STING activation to regulate vasculature remodeling and anti-tumor immunity in liver cancer[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 6.
- [17] 瓮佳旭, 仇鑫, 李子孝. TET2 突变相关不确定潜能的克隆性造血与卒中发生发展的研究进展[J]. 中国卒中杂志, 2022, 17(4): 413-417.
- [18] CONG B, ZHANG Q, CAO X. The function and regulation of TET2 in innate immunity and inflammation[J]. Protein Cell, 202, 12(3): 165-173.
- [19] WANG J G, HUA M M, LI H X, et al. Circ_0007706 downregulation ameliorates neonatal hypoxic ischemic encephalopathy via regulating the miR-579-3p/TRAF6 axis [J]. Brain Res Bull, 2023, 194: 90-99.
- [20] WANG W, MAO S H, YU H L, et al. Pinellia pedatisecta lectin exerts a proinflammatory activity correlated with ROS-MAPKs/NF- κ B pathways and the NLRP3 inflammasome in RAW264. 7 cells accompanied by cell pyroptosis[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 66: 1-12.
- [21] HUANG Y, XU W, ZHOU R B. NLRP3 inflammasome activation and cell death[J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18(9): 2114-2127.
- [22] DIENER C, KELLER A, MEESE E. Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic[J]. Trends Genet, 2022, 38(6): 613-626.
- [23] SHANG R, LEE S, SENAVIRATHNE G, et al. microRNAs in action: biogenesis, function and regulation[J]. Nat Rev Genet, 2023, 24(12): 816-833.
- [24] QI X B, JIA B, WANG W, et al. Role of miR-199a-5p in osteoblast differentiation by targeting TET2 [J]. Gene, 2020, 726: 144193.