

长链非编码RNA Airn通过改善线粒体功能减轻小鼠心肌梗死诱导的损伤

姜龙龙^{1,2}, 陈静^{1,2}, 郝凯凯², 王霄霄², 陈妍妍², 郭春棉², 冯旭阳^{2*} (¹西安医学院临床医学院, 西安 710068; ²空军军医大学西京医院心血管内科; *通讯作者, E-mail: fengxuyang@sohu.com)

摘要: 目的 探讨长链非编码RNA Airn在急性心肌梗死(MI)中的表达变化,并阐明其对心脏功能的保护作用及其潜在分子机制。方法 C57BL/6J小鼠随机分为3组:假手术+空载病毒组(sham+AAV9-EV)、心肌梗死+空载病毒组(MI+AAV9-EV)和心肌梗死+Airn过表达组(MI+AAV9-Airn)。于造模前28 d经心肌内注射腺相关病毒,随后构建MI模型。术后第3,7天,超声心动图评估左心室射血分数(LVEF)和左心室短轴缩短率(LVFS)。术后第1,3,7,14天分别取小鼠心脏组织后,采用RT-PCR和RNA-FISH检测Airn表达水平;采用TUNEL染色观察心肌细胞凋亡;Western blot分析凋亡相关蛋白cleaved Caspase-9和Caspase-9的表达。分离培养新生SD大鼠的原代心肌细胞,分为3组:常氧对照组(normoxia)、缺氧+空载病毒组(hypoxia+Ad-NC)和缺氧+Airn过表达组(hypoxia+Ad-Airn)。hypoxia+Ad-NC组和hypoxia+Ad-Airn组待病毒感染后,进行缺氧处理;normoxia组不感染病毒,在正常氧浓度培养。JC-1染色和Mito-Tracker染色评估线粒体膜电位和线粒体形态;采用ATP检测试剂盒检测细胞ATP含量;CCK-8法检测细胞活力。结果 与sham+AAV9-EV组相比,MI+AAV9-EV组小鼠心肌组织中Airn表达显著下调($P<0.0001$),且LVEF和LVFS均显著降低($P<0.01$)。与MI+AAV9-EV组相比,MI+AAV9-Airn组小鼠心功能得到显著改善,具体表现为LVEF和LVFS均升高($P<0.01$),心肌细胞凋亡率和梗死面积降低($P<0.05$)。与normoxia组相比,hypoxia+Ad-NC组原代心肌细胞Airn表达下调($P<0.0001$)。与hypoxia+Ad-NC组相比,hypoxia+Ad-Airn组线粒体膜电位恢复($P<0.01$),ATP含量升高($P<0.05$),细胞活力增强($P<0.01$)。结论 长链非编码RNA Airn在心肌梗死及缺氧条件下表达下调;过表达Airn可通过改善线粒体功能、抑制心肌细胞凋亡,从而减轻心肌梗死损伤并改善心脏功能。

关键词: 心肌梗死; 纤维化; 长链非编码RNA Airn; 线粒体; 细胞凋亡

中图分类号: R542.22 文献标识码: A 文章编号: 1007-6611(2026)03-0258-09 DOI: 10.13753/j.issn.1007-6611.2026.03.003

Long non-coding RNA Airn alleviates myocardial infarction-induced injury in mice by improving mitochondrial function

JIANG Longlong^{1,2}, CHEN Jing^{1,2}, HAO Kaikai², WANG Xiaoxiao², CHEN Yanyan², GUO Chunmian², FENG Xuyang^{2*} (¹College of Clinical Medicine, Xi'an Medical University, Xi'an 710068, China; ²Department of Cardiology, Xijing Hospital, Air Force Medical University; *Corresponding author, E-mail: fengxuyang@sohu.com)

Abstract: *Objective* To investigate the expression changes of long non-coding RNA Airn in acute myocardial infarction (MI), and elucidate its protective effect on cardiac function and the underlying molecular mechanisms. *Methods* C57BL/6J mice were randomly assigned to three groups: sham+AAV9-EV group, MI+AAV9-EV group, and MI+AAV9-Airn group. Adeno-associated viruses were injected intramyocardially at 28 d before MI induction. Cardiac function (LVEF and LVFS) was assessed by echocardiography at post-operative days 3, 7. Heart tissues were collected at days 1, 3, 7, 14 to detect Airn expression by RT-PCR and RNA-FISH. Apoptosis was evaluated by TUNEL staining, and the expressions of apoptosis-related proteins (cleaved Caspase-9, Caspase-9) were analyzed by Western blot. Primary neonatal rat cardiomyocytes (NRCMs) were isolated and divided into normoxia group, hypoxia+Ad-NC group, and hypoxia+Ad-Airn group. After viral infection, the NRCMs in hypoxia+Ad-NC group and hypoxia+Ad-Airn group underwent hypoxia treatment; the NRCMs in normoxia group were not infected with virus and cultured under normoxic conditions. Mitochondrial membrane potential and morphology were assessed using JC-1 and Mito-Tracker staining, respectively. ATP content was measured using an ATP assay kit, and the cell viability was measured by CCK-8 assay. *Results* Compared with sham+AAV9-EV group, Airn expression was down-regulated ($P<0.0001$), and both LVEF and LVFS decreased in MI+AAV9-EV group ($P<0.01$). Compared with MI+AAV9-EV group, the cardiac function in MI+AAV9-Airn group was significantly improved, as evidenced by increased LVEF and LVFS ($P<0.01$) and reduced cardiomyocyte apoptosis rate and infarct size (both $P<0.05$). In primary cardiomyocytes, Airn expression was lower in hypoxia+Ad-NC group than in normoxia group ($P<0.0001$). Compared with hypoxia+Ad-NC group, the mitochondrial membrane potential was restored in hypoxia+Ad-Airn group ($P<0.01$), ATP content was elevated ($P<0.05$), and the cell viability

基金项目:陕西省自然科学基金面上项目(S2022-JC-YB-1927)

作者简介:姜龙龙,男,2000-07生,在读硕士,E-mail:17691281780@163.com

收稿日期:2025-09-17

was enhanced ($P < 0.01$). **Conclusion** Long non-coding RNA Airn is down-regulated under myocardial infarction and hypoxia conditions. Airn overexpression can improve the cardiac function and alleviate the myocardial injury after infarction through improvement of mitochondrial function and inhibition of cardiomyocyte apoptosis.

Keywords: myocardial infarction; fibrosis; lncRNA Airn; mitochondria; apoptosis

心肌梗死(myocardial infarction, MI)是由于冠状动脉血流中断导致的心肌细胞缺血性死亡^[1],是全球范围内致死率最高的疾病之一^[2,3]。尽管再灌注治疗等现有手段在一定程度上改善了患者预后,但心肌细胞的不可逆损伤及其后续的不良心室重构仍是临床面临的重要挑战。

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度超过200个核苷酸、不编码蛋白质的RNA分子。它们可通过染色质修饰、转录干扰、miRNA海绵效应等多种机制,在表观遗传、转录及转录后水平精密调控基因表达^[4]。大量研究表明,lncRNA的表达异常与肿瘤、神经性疾病、心血管疾病等重大人类疾病的发生发展密切相关^[4]。Airn是Igf2r印记簇中的关键lncRNA^[5,6],并在许多疾病中起着重要作用。它参与调控胰岛素敏感性、脂肪细胞分化等过程,其异常表达可能通过影响胰岛素信号通路和脂质代谢,促进胰岛素抵抗和肥胖的发生^[7,8]。此外,Airn位于Igf2bp2上游,可调控包括凋亡相关基因和心肌细胞存活相关基因在内的多个mRNA的翻译^[9-12]。然而,Airn在急性心肌梗死中的具体作用及机制尚未明确。

长链非编码RNA Airn虽定位于细胞核并通过表观遗传沉默Igf2r发挥作用^[13,14],但能通过调节IGF信号通路间接影响线粒体代谢功能^[10]。心肌细胞作为终末分化细胞,高度依赖线粒体氧化磷酸化以维持其持续的能量供应。线粒体不仅是ATP合成的主要场所,更是调控细胞存活与死亡的关键枢纽^[15]。其功能完整性对维持心脏正常的电生理活动和收缩功能至关重要^[16,17]。在缺血、缺氧或再灌注损伤条件下,线粒体功能发生严重紊乱,成为心肌细胞凋亡的核心诱因^[18,19]。该过程常伴随氧化应激急剧增强,功能受损的电子传递链发生电子泄漏,大量生成活性氧(ROS),导致细胞内氧化还原稳态失衡^[19,20]。但其是否通过调控线粒体功能参与心肌梗死病理进程,目前知之甚少。

因此,本研究试图探究Airn在心肌梗死发生发展中的作用。我们假设Airn可能通过改善线粒体功能,减轻心肌梗死诱导的心肌损伤。为验证此假

说,本研究将在体内外心肌梗死/缺氧模型中,系统评估Airn的表达变化,并通过干预其表达,深入探讨其对心功能、细胞凋亡及线粒体功能的影响,以期为心肌梗死的机制研究与潜在治疗靶点提供新的线索。

1 材料与方法

1.1 实验动物

C57BL/6J野生型(WT)小鼠(6~8周)购自空军军医大学实验动物中心。本研究经过空军军医大学动物伦理委员会批准(批准号:IACUC-20240125),动物实验严格遵循《实验动物护理和使用指南》。动物饲养在SPF级环境中,温度维持在(22±2)°C,湿度为50%±10%,12 h/12 h明暗循环。所有动物均给予标准食物和自来水。

1.2 主要试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 AAV9-CTnT-Airn过表达腺相关病毒(AAV9-Airn)、空载对照腺相关病毒(AAV9-EV)、过表达Airn的腺病毒(Ad-Airn)及空载对照腺病毒(Ad-NC)购自上海汉恒生物技术有限公司。DMEM培养基、胎牛血清(FBS)及IV型胶原酶均购自美国Gibco公司。Trizol® Reagent、PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser及TB Green® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)均购自宝日生物技术(北京)有限公司(Takara)。RIPA裂解缓冲液、PMSF蛋白酶抑制剂、BCA蛋白浓度检测试剂盒及TUNEL凋亡检测试剂盒(C1086)均购自碧云天生物技术有限公司。抗cleaved Caspase-9、Caspase-9、GAPDH、β-actin一抗及HRP标记二抗购自美国CST公司。JC-1线粒体膜电位检测试剂盒、MitoTracker™ Red及ATP检测试剂盒均购自美国Thermo Fisher Scientific公司。lncRNA FISH试剂盒及Airn特异性探针由上海吉玛制药技术有限公司设计并合成。

1.2.2 主要仪器 小动物呼吸机购自美国Harvard Apparatus公司。小鼠心脏超声系统(Vevo 2100)购自飞依诺科技有限公司。酶标仪、荧光显微镜及Western blot发光系统购自美国Bio-Rad公司。共聚焦显微镜购自德国Leica公司。

1.3 心肌梗死(MI)模型构建与实验分组

6~8周龄 C57BL/6 小鼠随机分为3组:假手术+空载病毒组(sham+AAV9-EV)、心肌梗死+空载病毒组(MI+AAV9-EV)和心肌梗死+Airn 过表达病毒组(MI+AAV9-Airn)。在实施手术前28 d,对所有小鼠经胸骨左侧开胸,于直视下向心肌内注射相应 AAV9 病毒。空载病毒(AAV9-EV)及过表达病毒(AAV9-Airn)均以 PBS 稀释,每只小鼠于左心室前壁注射总体积 20 μ L,病毒滴度为 1×10^{12} vg/mL。

MI模型的建立:小鼠吸入2%~3%异氟烷麻醉后固定,连接小动物呼吸机维持麻醉(异氟烷浓度降至2%),胸背部备皮并依次以清水及75%酒精清洁消毒。于左胸切开约1.2 cm皮肤,分离胸壁肌肉,暴露第四肋间,用止血钳轻压胸壁使心脏部分挤出。以6-0丝线结扎左冠状动脉前降支,成功结扎标准为左心室前壁即时苍白或心电图显示缺血性改变。假手术(sham)小鼠接受相同的手术操作,包括开胸及心脏暴露,但不结扎LAD。迅速将心脏复位,逐层缝合肌层与皮肤,手动排气后闭合胸腔。为动态观察心肌梗死后 Airn 的表达变化,于术后第1,3,7,14天分别处死动物,取心脏梗死区组织,通过 RT-PCR 检测各时间点心肌组织中 Airn 的 mRNA 表达水平。

1.4 新生大鼠原代心肌细胞(NRCMs)的分离、培养及分组处理

取1~3日龄 SD 乳鼠,75%酒精消毒后取出心脏,预冷 PBS 冲洗干净,使用1 mg/mL IV型胶原酶逐步消化。消化终止后以含10% FBS 的 DMEM 完全培养基重悬,经差速贴壁2.5 h去除成纤维细胞。收集未贴壁细胞接种培养48 h,待观察到规律搏动后,用于后续实验。

为动态观察缺氧早期 Airn 的表达变化,取部分搏动良好的心肌细胞,置于缺氧培养箱(1% O₂、5% CO₂、37 °C)中分别处理2,4,6,8 h,随后提取总 RNA,通过 qRT-PCR 检测各时间点细胞中 Airn 的 mRNA 表达水平。将另一部分搏动良好的细胞随机分为3组:常氧对照组(normoxia)、缺氧+空载病毒组(hypoxia+Ad-NC)和缺氧+Airn 过表达组(hypoxia+Ad-Airn)。其中,hypoxia+Ad-NC 组和 hypoxia+Ad-Airn 组细胞分别用完全培养基分别稀释空载腺病毒(Ad-NC)或 Airn 过表达腺病毒(Ad-Airn)至工作浓度(5.0×10^{10} PFU/mL),均匀加入对应组的细胞中。将细胞放回培养箱孵育6~8 h后更换为新鲜的完全

培养基继续培养,待感染48~72 h基因表达稳定后,将两组细胞置于缺氧培养箱(1% O₂、5% CO₂、37 °C)中培养8 h以建立体外缺氧模型;常氧对照组细胞则在正常氧浓度(21% O₂、5% CO₂、37 °C)条件下培养相同时间。

1.5 超声心动图检测心功能

小鼠经吸入异氟烷(1.5%)进行轻度麻醉后,取左侧卧位,使用 Vevo 2100 高分辨率小动物超声成像系统及其配套的 MS400 线阵探头进行心脏超声检查。于胸骨旁左心室长轴切面获取 M 型超声图像。测量并计算连续至少6个心动周期的以下参数取平均值:左心室舒张末期内径(LVIDd)、左心室收缩末期内径(LVIDs)、左心室射血分数(LVEF)和左心室短轴缩短率(LVFS)。所有操作由不知分组信息者完成。

1.6 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测 cleaved Caspase-9 和 Caspase-9 蛋白表达

组织或细胞经预冷 RIPA 裂解液(含1% PMSF)冰上裂解30 min,4 °C 12 000g 离心15 min,取上清采用 BCA 法定量蛋白。经 SDS-PAGE 电泳分离后转至 PVDF 膜,5%脱脂牛奶封闭1 h,加一抗(1:1 000 稀释)4 °C 孵育过夜。PBST 洗膜后孵育 HRP 标记二抗(1:10 000 稀释)1 h,ECL 化学发光显影,以 GAPDH 为内参。

1.7 实时定量 PCR(qRT-PCR)检测 Airn 表达

使用 TRIzol[®] Reagent 提取心脏组织或细胞的总 RNA。使用 NanoDrop 2000 分光光度计检测 RNA 的浓度与纯度。取1 μ g 总 RNA,使用 PrimeScript[™] RT reagent Kit with gDNA Eraser 进行基因组 DNA 去除并逆转录合成 cDNA。qPCR 反应使用 TB Green[®] Premix Ex Taq[™] II 在 CFX96 Touch[™] Real-Time PCR Detection System 上进行,以 18S 为内参基因进行标准化处理。引物序列如下:① Airn-F:5'-CTGCTGT-TGCTGACCTGTAA-3', Airn-R:5'-CAGTTACCACG-CAGACATCC-3';② 18S-F:5'-CGGCGACGACCCA-TTCGAAC-3', 18S-R:5'-GAATCGAACCTGATTC-CCCCTC-3'。

1.8 RNA 荧光原位杂交(RNA-FISH)检测 Airn 定位与表达

采用长链非编码 RNA 荧光原位杂交(lncRNA FISH)试剂盒进行荧光原位杂交。首先,细胞爬片经4%多聚甲醛固定15 min,0.5% Triton X-100 通透15 min。将样本置于37 °C避光湿盒中杂交过夜

(16~18 h)。次日,经严格洗涤去除未结合的探针,细胞核用 DAPI 复染。封片后,使用奥林巴斯 FV1000 共聚焦激光扫描显微镜采集图像。若需进行共定位分析,可在杂交同时进行免疫荧光染色。Airm FISH 探针序列为: AGGATGTC+TGCCTGG-TAAC+TGGCGGCTGACC+TGTAACCAAAC+TGC-CGAGGACT+TGGGTCAAC+TGGCAGAGTGA。

1.9 TUNEL 染色检测心肌细胞凋亡

术后第 1 天,摘取小鼠心脏,置于 4% 多聚甲醛中过夜固定,随后石蜡包埋并切片。采用 TUNEL 试剂盒标记凋亡细胞,以 TUNEL 阳性核占 DAPI 阳性核的百分比表示凋亡率。用抗荧光淬灭封片液封片后,用荧光显微镜在相同视野下观察并记录 DAPI 标记的全部细胞核与 TUNEL 标记的凋亡细胞核。通过计算 TUNEL 阳性核数占 DAPI 阳性核总数的百分比,定量分析心肌细胞凋亡率。

1.10 JC-1 与 MitoTracker 染色评估线粒体膜电位与形态

根据说明书的方案,使用 JC-1 染色试剂盒和 MitoTracker Red 荧光染料检测线粒体膜电位和线粒体形态。通过激光共聚焦显微镜和 ImagePro 图像分析软件分析图像。

1.11 RNA 干扰与转录组测序分析

为探究 Airm 沉默的影响,对原代心肌细胞进行 RNA 干扰及测序。将 NRVMs 分为两组: siRNA 阴性对照组 (siNC) 与靶向 Airm 的 siRNA 组 (siAirm)。使

用 Lipofectamine RNAiMAX 转染试剂,按说明书将 siNC 或 siAirm 转染入细胞,培养 48 h 后收集样本。使用 TRIzol 法提取细胞总 RNA,经质量检测合格后,委托基因公司进行文库构建与 Illumina NovaSeq 平台双端测序。通过 DESeq2 进行差异表达分析。

1.12 统计分析

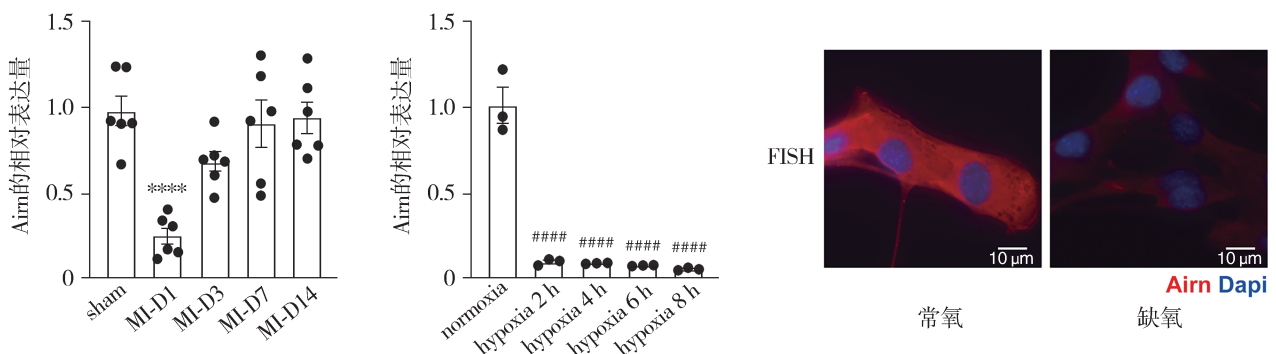
采用 Graphpad Prism 8.0 进行统计分析。所有数据均以平均值±标准误表示 ($\bar{X}\pm S_{\bar{X}}$),两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,若 ANOVA 结果显示有统计学意义,则进一步使用 Tukey 检验进行多组间的两两比较,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Airm 表达在心肌梗死及缺氧模型中的变化

RT-PCR 结果显示,与 sham 组相比,MI 组小鼠在术后第 1 天梗死区心肌组织中 Airm 的表达水平显著降低 ($P<0.0001$)。随后在梗死第 3, 7, 14 天 Airm 表达逐渐恢复,与 sham 组差异无统计学意义 (见图 1)。

在细胞层面,与常氧对照相比,缺氧处理 2, 4, 6, 8 h 后,原代心肌细胞中 Airm 的表达水平均出现显著下调 (均 $P<0.0001$, 见图 1)。RNA-FISH 结果进一步证实,缺氧 8 h 后,与常氧对照组相比,缺氧组心肌细胞核内 Airm 的荧光信号强度明显减弱 (见图 1)。



注:与 sham 组相比,**** $P<0.0001$;与 normoxia 组相比,#### $P<0.0001$ 。

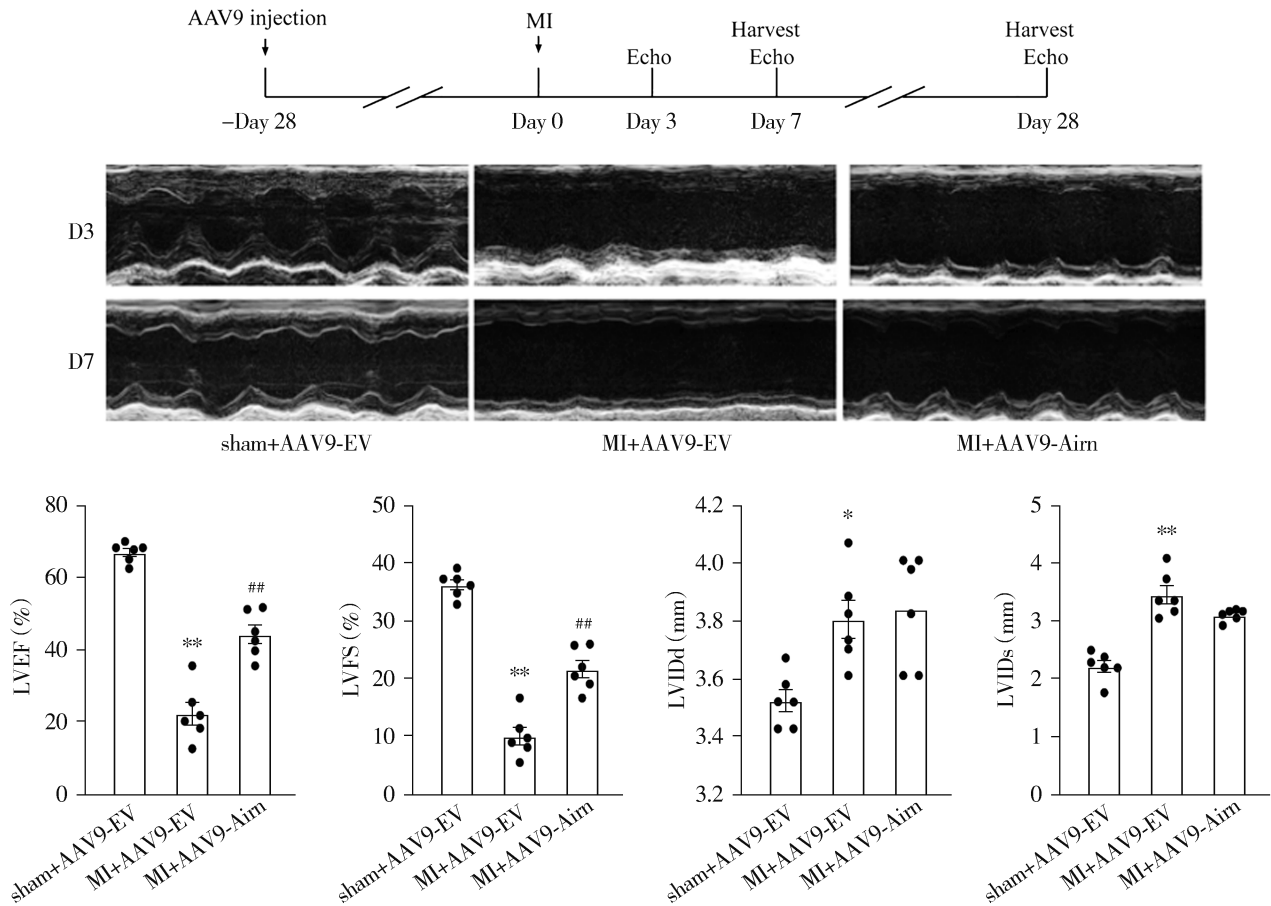
图 1 Airm 表达在心肌梗死及缺氧模型中的变化

Figure 1 Changes of Airm expression in myocardial infarction and hypoxic models

2.2 过表达 Airm 对心肌梗死后心脏功能与结构的影响

MI 术后第 3 天和第 7 天,与 sham+AAV9-EV 组相比,MI+AAV9-EV 组小鼠的 LVEF 和 LVFS 均显著

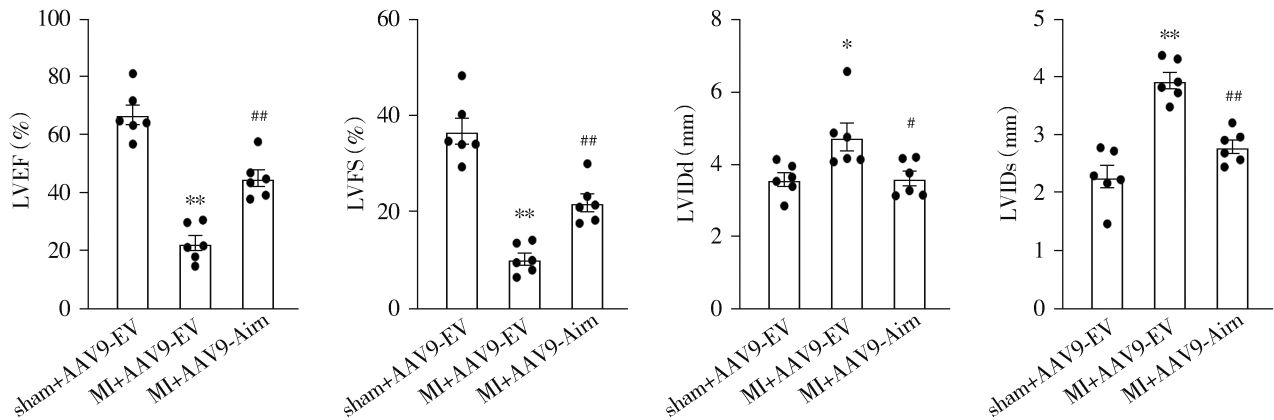
降低 (均 $P<0.01$);与 MI+AAV9-EV 组相比,MI+AAV9-Airm 组小鼠 LVEF 和 LVFS 均显著升高 (均 $P<0.01$, 见图 2、图 3)。



注:与 sham+AAV9-EV 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 MI+AAV9-EV 组相比, ## $P < 0.01$ 。

图2 过表达 Airn 对心肌梗死后第3天心脏功能的影响

Figure 2 Effect of Airn overexpression on cardiac function at day 3 after myocardial infarction



注:与 sham+AAV9-EV 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 MI+AAV9-EV 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图3 过表达 Airn 对心肌梗死后第7天心脏功能的影响

Figure 3 Effect of Airn overexpression on cardiac function at day 7 after myocardial infarction

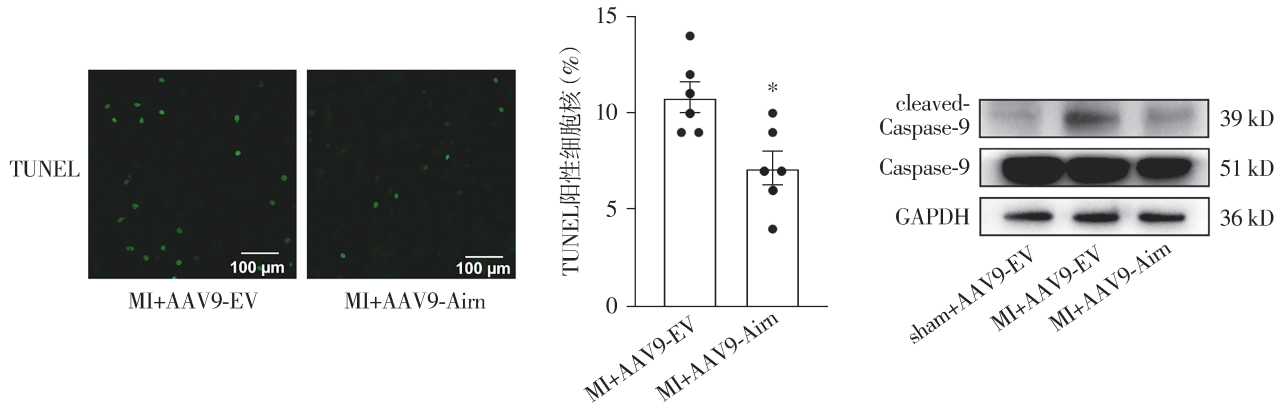
2.3 过表达 Airn 对心肌梗死后细胞凋亡及梗死面积的影响

与 MI+AAV9-EV 组相比, MI+AAV9-Airn 组小鼠心肌组织的 TUNEL 阳性细胞百分比显著降低 ($P <$

0.05, 见图 4)。同时, 与 MI+AAV9-EV 组相比, MI+AAV9-Airn 组小鼠心脏的梗死面积显著减小 ($P < 0.01$, 见图 5)。Western blot 结果显示, 与 sham+AAV-EV 组相比, MI+AAV9-EV 组促凋亡相关基因

(cleaved Caspase-9、Caspase-9)的蛋白表达升高;而与MI+AAV9-EV组相比,MI+AAV9-Airm组促凋亡相

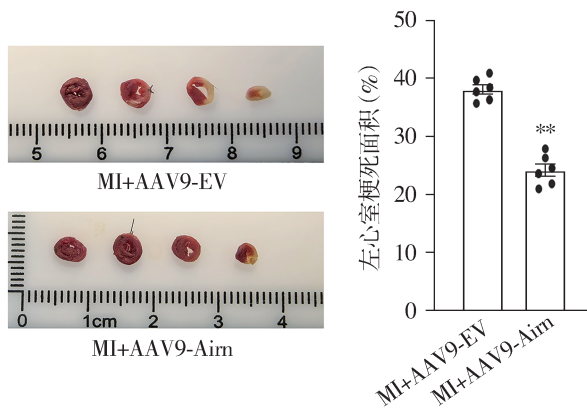
关基因(cleaved Caspase-9、Caspase-9)的表达均降低(见图4)。



注:与MI+AAV9-EV组相比,*P<0.05。

图4 过表达Airm对心肌梗死后细胞凋亡的影响

Figure 4 Effect of Airm overexpression on cardiomyocyte apoptosis after myocardial infarction



注:与MI+AAV9-EV组相比,**P<0.01。

图5 过表达Airm对心肌梗死后梗死面积的影响

Figure 5 Effect of Airm overexpression on infarct size after myocardial infarction

2.4 过表达Airm对缺氧心肌细胞线粒体功能的影响

RNA测序结果显示,与siNC组相比,siAirm组线粒体氧化应激指标显著升高(见图6)。KEGG通路富集分析表明,差异表达基因最显著地富集于“氧化磷酸化”通路(见图6)。与hypoxia+Ad-NC组相比,hypoxia+Ad-Airm组细胞活力显著增强(P<0.01),细胞内ATP含量升高(P<0.05,见图7)。JC-1染色结果显示,与hypoxia+Ad-NC组相比,hypoxia+Ad-Airm组的线粒体膜电位(红/绿荧光强度比值)显著升高(P<0.01,见图8)。Mito-Tracker染色显示,与hypoxia+Ad-NC组相比,hypoxia+Ad-Airm组的线粒体荧光信号增强,且形态多以细长管状为主(P<0.01,见图9),提示功能改善。

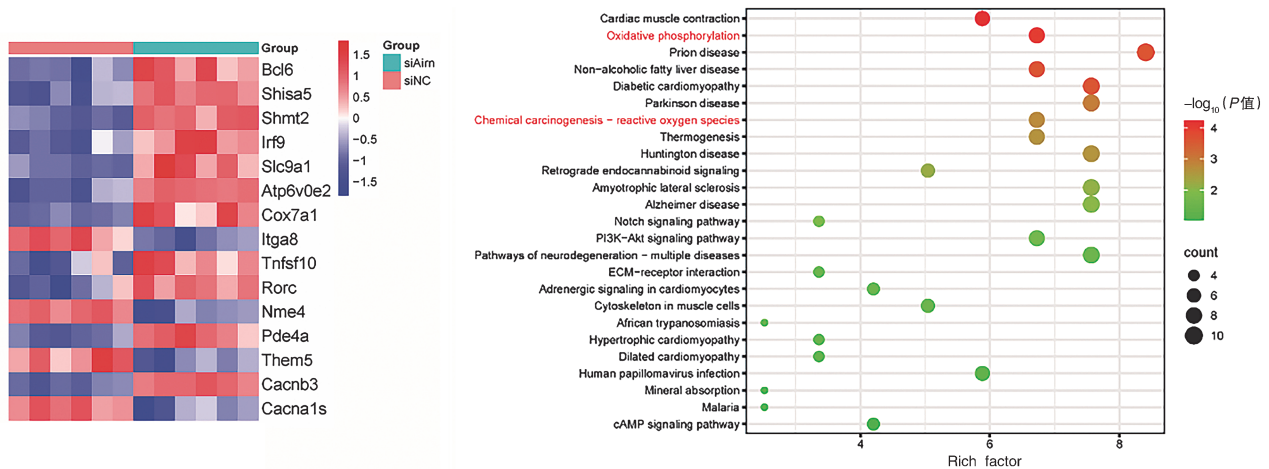
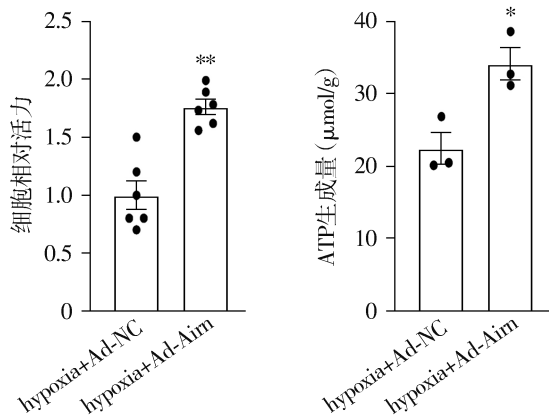


图6 RNA干扰Airm对基因表达谱及通路的影响

Figure 6 Effects of RNA interference targeting Airm on gene expression profiles and signaling pathways

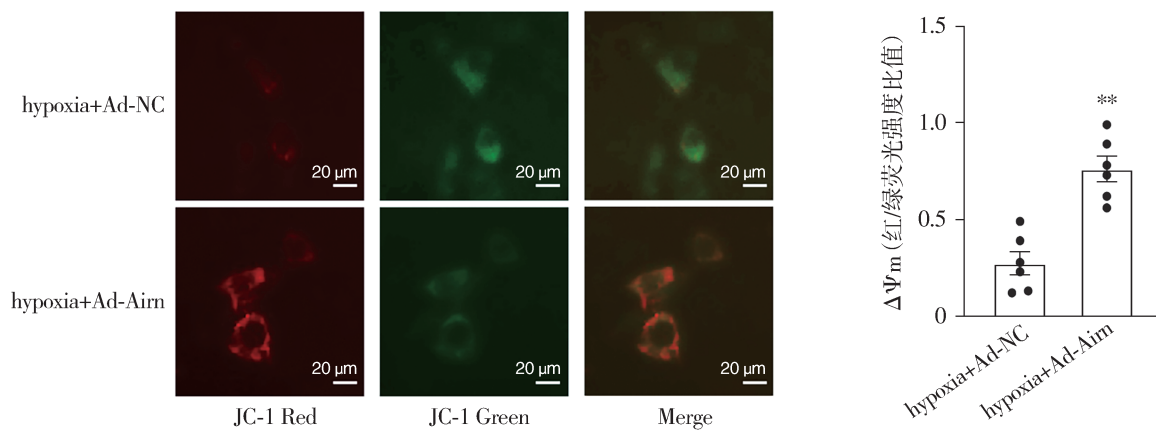


注:与hypoxia+Ad-NC组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图7 过表达Aim对缺氧心肌细胞活力及ATP含量的影响
Figure 7 Effects of Aim overexpression on cell viability and ATP content in hypoxia-treated cardiomyocytes

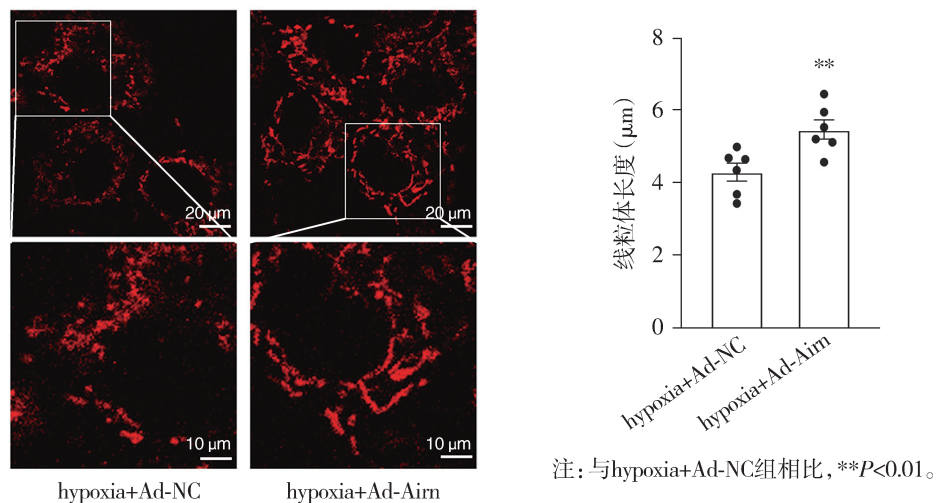
3 讨论

心肌梗死作为全球范围内致死率最高的心血管急症之一,其核心病理特征是冠状动脉急性闭塞导致的心肌细胞缺血性死亡及随之而来的心室重构^[21]。尽管再灌注治疗在一定程度上改善了部分患者预后,但如何减轻心肌细胞不可逆损伤、抑制不良重构仍是临床面临的重大挑战。近年来,长链非编码RNA(lncRNA)被发现 在心血管疾病中扮演重要调控角色^[22,23],其中,Aim作为Igf2r印记簇的重要成员,已被报道参与细胞凋亡调控^[9-12],但其在心肌缺血/再灌注损伤中的具体功能及机制尚不明确。因此,阐明Aim在心肌梗死病理进程中的作用,对于寻找新的心脏保护靶点具有重要意义。



注:与hypoxia+Ad-NC组相比,** $P < 0.01$ 。

图8 过表达Aim对缺氧心肌细胞线粒体膜电位的影响
Figure 8 Effect of Aim overexpression on mitochondrial membrane potential in hypoxic cardiomyocytes



注:与hypoxia+Ad-NC组相比,** $P < 0.01$ 。

图9 过表达Aim对缺氧心肌细胞线粒体形态的影响
Figure 9 Effect of Aim overexpression on mitochondrial morphology in hypoxic cardiomyocytes

既往研究表明,缺血缺氧微环境可通过影响缺氧诱导因子(HIF)等转录因子活性,进而调控下游基因表达^[24]。本研究结果显示,在小鼠心肌梗死后的早期,梗死区心肌组织中 Airn 的表达水平下调;在体外,缺氧处理亦可导致心肌细胞中 Airn 表达水平下降。RNA-FISH 结果进一步证实,缺氧后细胞核内 Airn 信号减弱。综上提示,Airn 表达下调可能是心肌缺血损伤早期的一个特征性事件,其可能与缺氧应激导致的转录抑制有关。

心肌细胞凋亡是心肌梗死中心功能恶化的重要细胞学基础^[25]。本研究结果表明,在心肌梗死前通过 AAV9 病毒心脏特异性过表达 Airn,可显著改善小鼠 MI 术后心功能(LVEF、LVFS 升高),并同时减少心肌梗死面积和心肌细胞凋亡率。Western blot 分析显示,Airn 过表达抑制了促凋亡蛋白 cleaved Caspase-9 的表达。这些结果直接证实,恢复 Airn 表达能够有效减轻心肌梗死后的结构损伤与功能衰退,其保护作用与抑制心肌细胞凋亡密切相关。

线粒体功能紊乱是缺血缺氧导致细胞凋亡的核心环节^[25,26]。本研究通过 RNA-seq 技术发现,沉默 Airn 可引起心肌细胞氧化磷酸化通路基因表达改变和氧化应激水平升高。而过表达 Airn 能显著缓解缺氧心肌细胞的线粒体膜电位下降、改善线粒体网络形态、提升 ATP 含量并增强细胞活力。这一系列证据表明 Airn 可通过改善线粒体功能,增强细胞能量代谢与抗氧化能力,从而抑制凋亡、增强细胞存活。这与已有文献中报道的 Airn 在其他疾病模型中通过调节相关信号通路发挥保护作用的机制相辅相成,也扩展了 Airn 在心肌缺血领域特有的线粒体调控维度。

综上所述,本研究首次系统揭示了 lncRNA Airn 在心肌梗死中的保护作用:Airn 在缺血缺氧条件下表达下调,而通过病毒载体恢复其表达能够通过改善线粒体功能、抑制心肌细胞凋亡,减轻心肌损伤并改善心功能。这为理解 lncRNA 在心肌缺血损伤中的调控机制提供了新的视角,同时将 Airn 确立为一个潜在的心脏保护靶点。尽管本研究明确了 Airn 通过线粒体途径发挥作用,但其具体下游效应分子及是否存在通过外泌体等介导的非心肌细胞旁分泌效应仍需进一步研究阐明。这些后续研究将为开发以 Airn 为靶点的心肌梗死治疗新策略奠定更为坚实的理论基础。

参考文献:

- [1] DUNaeva M, Waltenberger J. Hh signaling in regeneration of the ischemic heart[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(19): 3481-3490.
- [2] He L, Chen X. Cardiomyocyte induction and regeneration for myocardial infarction treatment: cell sources and administration strategies[J]. *Adv Healthc Mater*, 2020, 9(22): e2001175.
- [3] Yu YW, Xue YJ, Qian LL, *et al.* Screening and identification of potential hub genes in myocardial infarction through bioinformatics analysis[J]. *Clin Interv Aging*, 2020, 15: 2233-2243.
- [4] Emami Meybodi SM, Soleimani N, Yari A, *et al.* Circulatory long noncoding RNAs (circulatory-LNC-RNAs) as novel biomarkers and therapeutic targets in cardiovascular diseases: implications for cardiovascular diseases complications[J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 225: 1049-1071.
- [5] Latos PA, Pauler FM, Koerner MV, *et al.* Airn transcriptional overlap, but not its lncRNA products, induces imprinted Igf2r silencing[J]. *Science*, 2012, 338(6113): 1469-1472.
- [6] Marcho C, Bevilacqua A, Tremblay KD, *et al.* Tissue-specific regulation of Igf2r/Airn imprinting during gastrulation[J]. *Epigenetics Chromatin*, 2015, 8: 10.
- [7] Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, *et al.* Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(5): 367-377.
- [8] Yang W, Lyu Y, Xiang R, *et al.* Long noncoding RNAs in the pathogenesis of insulin resistance[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 16054.
- [9] Hosen MR, Militello G, Weirick T, *et al.* Airn regulates Igf2bp2 translation in cardiomyocytes[J]. *Circ Res*, 2018, 122(10): 1347-1353.
- [10] Jing F, Zhao J, Jing X, *et al.* Long noncoding RNA Airn protects podocytes from diabetic nephropathy lesions via binding to Igf2bp2 and facilitating translation of Igf2 and Lamb2[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(9): 1860-1869.
- [11] Wang C, Liu J, Hou X, *et al.* cIAP2-mediated IGF2BP2 ubiquitination and degradation regulate cardiomyocyte apoptosis via stabilizing m6A-modified BAX mRNA in myocardial infarction[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2025, 41(1): 92-105.
- [12] Mably JD, Wang DZ. Long non-coding RNAs in cardiac hypertrophy and heart failure: functions, mechanisms and clinical prospects[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2024, 21(5): 326-345.
- [13] Ferrer J, Dimitrova N. Transcription regulation by long non-coding RNAs: mechanisms and disease relevance[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(5): 396-415.
- [14] Andergassen D, Muckenhuber M, Bammer PC, *et al.* The Airn lncRNA does not require any DNA elements within its locus to silence distant imprinted genes[J]. *PLoS Genet*, 2019, 15(7): e1008268.
- [15] Dambrova M, Zuurbier CJ, Borutaite V, *et al.* Energy substrate metabolism and mitochondrial oxidative stress in cardiac ischemia/reperfusion injury[J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 165:

- 24–37.
- [16] Torrealba N, Aranguiz P, Alonso C, *et al.* Mitochondria in structural and functional cardiac remodeling [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 982: 277–306.
- [17] Hoppel CL. Mitochondria bioenergetics in the heart [M]//Sperelakis N, ed. *Cell Physiology Source Book: Essentials of Membrane Biophysics*. 4th ed. San Diego: Academic Press, 2012: 125–138.
- [18] Jeong EM, Liu M, Sturdy M, *et al.* Metabolic stress, reactive oxygen species, and arrhythmia [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 52(2): 454–463.
- [19] Mattera R, Benvenuto M, Giganti MG, *et al.* Effects of polyphenols on oxidative stress-mediated injury in cardiomyocytes [J]. *Nutrients*, 2017, 9(5): 523–535.
- [20] Yang B, Xu Y, Yu J, *et al.* Salidroside pretreatment alleviates ferroptosis induced by myocardial ischemia/reperfusion through mitochondrial superoxide-dependent AMPK α 2 activation [J]. *Phytomedicine*, 2024, 128: 155365.
- [21] Liu Z, Zheng Z, Xie J, *et al.* Hydrogel-based cardiac patches for myocardial infarction therapy: recent advances and challenges [J]. *Mater Today Bio*, 2024, 29: 101331.
- [22] Liang H, Su X, Wu Q, *et al.* LncRNA 2810403D21Rik/Mirf promotes ischemic myocardial injury by regulating autophagy through targeting Mir26a [J]. *Autophagy*, 2020, 16(6): 1077–1091.
- [23] Xu Z, Mo Y, Li X, *et al.* The novel LncRNA AK035396 drives cardiomyocyte apoptosis through Mterf1 in myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 773381.
- [24] Chen K, Wang S, Sun QW, *et al.* Klotho deficiency causes heart aging via impairing the Nrf2-GR pathway [J]. *Circ Res*, 2021, 128(4): 492–507.
- [25] Zhu L, Liu Y, Wang K, *et al.* Regulated cell death in acute myocardial infarction: molecular mechanisms and therapeutic implications [J]. *Ageing Res Rev*, 2025, 104: 102629.
- [26] Zhang S, Yan F, Luan F, *et al.* The pathological mechanisms and potential therapeutic drugs for myocardial ischemia reperfusion injury [J]. *Phytomedicine*, 2024, 129: 155649.

(责任编辑:阮爱萍)