doi：10.7499/j.issn.1008-8830.2510083

论著·实验研究

miR-155-5p 调节 TLR4/MAPK/NF-κB 通路对川崎病小鼠炎症反应、冠状动脉病变及免疫功能的影响

刘伟东[1] 蒋丰智[1,2] 朱丁贤[2] 梁燕勇[2]

（1.广东医科大学第一临床医学院，广东湛江 524023；2.广东省东莞市妇幼保健院，广东东莞 523011）

［摘要］**目的** 探究微小RNA（miRNA, miR）-155-5p调控TLR4/MAPK/NF-κB通路对川崎病小鼠炎症反应、冠状动脉病变及免疫功能的影响。**方法** 将60只雄性BALB/C小鼠采用随机数字表法分为健康组、川崎病（Kawasaki disease, KD）组、miR-155-5p agomir（激动剂）组、agomir-NC（激动剂阴性对照）组、miR-155-5p antagomir（拮抗剂）组、antagomir-NC（拮抗剂阴性对照）组，每组10只。采用干酪乳杆菌细胞壁提取物腹腔注射法建立KD小鼠模型。采用ELISA法检测白细胞介素（interleukins, IL）-6、IL-1β、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）-α水平，流式细胞术检测淋巴细胞亚群$CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ T百分率及$CD4^+/CD8^+$比值，高频小动物超声成像法检测冠状动脉内径，苏木精–伊红染色观察冠状动脉组织病理形态，TUNEL染色观察冠状动脉组织内皮细胞凋亡情况，免疫印迹法检测核因子κB（nuclear factor kappa-B, NF-κB）p65、磷酸化NF-κB p65（phosphorylated NF-κB p65, p-NF-κB p65）、Toll样受体4（Toll-like receptor 4, TLR4）、p38丝裂原激活的蛋白激酶（p38 mitogen-activated protein kinase, MAPK）蛋白表达水平。**结果** 与健康组相比，KD组冠状动脉管壁增厚、内皮脱落，大量炎性细胞浸润，平滑肌层排列紊乱，伴血管扩张及管腔狭窄；miR-155-5p agomir组冠脉炎性浸润、管壁增厚及管腔狭窄较KD组显著加重；miR-155-5p antagomir组冠状动脉炎性浸润减少、管壁增厚减轻，平滑肌排列较规整，管腔狭窄明显改善。与健康组相比，KD组IL-6、IL-1β、TNF-α水平与$CD4^+$百分率、$CD4^+/CD8^+$比值、冠状动脉内径、内皮细胞凋亡率及p-NF-κB p65、TLR4、p38 MAPK蛋白表达水平升高（$P<0.05$），$CD3^+$、$CD8^+$百分率降低（$P<0.05$）。与KD组相比，miR-155-5p agomir组IL-6、IL-1β、TNF-α水平与$CD4^+$百分率、$CD4^+/CD8^+$比值、冠状动脉内径、内皮细胞凋亡率及p-NF-κB p65、TLR4、p38 MAPK蛋白表达水平升高（$P<0.05$），$CD3^+$、$CD8^+$百分率降低（$P<0.05$）；miR-155-5p antagomir组IL-6、IL-1β、TNF-α水平与$CD4^+$百分率、$CD4^+/CD8^+$比值、冠状动脉内径、内皮细胞凋亡率及p-NF-κB p65、TLR4、p38 MAPK蛋白表达水平降低（$P<0.05$），$CD3^+$、$CD8^+$百分率升高（$P<0.05$）。**结论** 川崎病模型小鼠中过表达miR-155-5p可加重炎症反应、冠状动脉病变及内皮细胞凋亡，诱发免疫功能紊乱，其机制可能与调控TLR4/MAPK/NF-κB通路相关；抑制miR-155-5p表达则可逆转上述病理改变。［中国当代儿科杂志，2026，28（6）：754-762］

［关键词］川崎病；炎症反应；miR-155-5p；内皮细胞凋亡；Toll样受体4；免疫功能；小鼠

Effect of miR-155-5p regulating the TLR4/MAPK/NF-κB pathway on inflammatory response, coronary artery lesion and immune function in mice with Kawasaki disease

LIU Wei-Dong, JIANG Feng-Zhi, ZHU Ding-Xian, LIANG Yan-Yong. First Clinical Medical College of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524023 (Jiang F-Z, Email: fortunejam@163.com)

Abstract: Objective To investigate the effect of miR-155-5p regulation of the TLR4/MAPK/NF-κB pathway on inflammatory response, coronary artery lesion, and immune function in mice with Kawasaki disease (KD). **Methods** Sixty male BALB/C mice were randomly assigned to six groups (n=10 each): healthy, KD, miR-155-5p agomir, agomir-negative control (agomir-NC), miR-155-5p antagomir, and antagomir-negative control (antagomir-NC).

［收稿日期］2025-10-19；［接受日期］2026-05-08
［基金项目］国家自然科学基金资助项目（82106792）。
［作者简介］刘伟东，男，硕士，副主任医师。
［通信作者］蒋丰智，男，主任医师。Email：fortunejam@163.com。

KD models were established by intraperitoneal injection of *Lactobacillus casei* cell wall extract in all groups except the healthy group. Levels of interleukin (IL)-6, IL-1β, and tumor necrosis factor (TNF)-α were measured by ELISA. Flow cytometry was used to determine the proportions of $CD3^+$, $CD4^+$, and $CD8^+$ T lymphocyte subsets and the $CD4^+/CD8^+$ ratio. Coronary artery diameter was assessed by high-frequency ultrasound, and histopathological changes were observed by hematoxylin-eosin staining. Endothelial cell apoptosis in coronary tissue was detected with TUNEL staining. Expression levels of nuclear factor kappa-B (NF-κB) p65, phosphorylated NF-κB p65 (p-NF-κB p65), Toll-like receptor 4 (TLR4), and p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) proteins were analyzed by Western blot. **Results** Compared with the healthy group, the KD group showed coronary arterial wall thickening, endothelial shedding, extensive inflammatory cell infiltration, disordered smooth muscle layer arrangement, vascular dilation, and lumen stenosis. The miR-155-5p agomir group exhibited aggravated coronary inflammation, wall thickening, and lumen stenosis versus the KD group, whereas the miR-155-5p antagomir group showed attenuated inflammation and wall thickening, improved smooth muscle arrangement, and reduced stenosis. The KD group demonstrated increased IL-6, IL-1β, TNF-α, $CD4^+$ T cell percentage, $CD4^+/CD8^+$ ratio, coronary artery diameter, endothelial apoptosis rate, and p-NF-κB p65, TLR4, and p38 MAPK protein expression compared to the healthy group (all $P<0.05$), with decreased $CD3^+$ and $CD8^+$ T cell percentages ($P<0.05$). No significant differences were observed among the KD, agomir-NC, and antagomir-NC groups. Compared with the KD group, the miR-155-5p agomir group showed further increased inflammatory cytokines (IL-6, IL-1β, and TNF-α), $CD4^+$ T cell percentage, $CD4^+/CD8^+$ ratio, coronary diameter, endothelial apoptosis, and protein expression of p-NF-κB p65, TLR4, and p38 MAPK, while reduced $CD3^+$ and $CD8^+$ T cell percentages (all $P<0.05$). Conversely, the miR-155-5p antagomir group showed significant reductions in inflammatory cytokines, protein expression of p-NF-κB p65, TLR4, and p38 MAPK, $CD4^+$ T cell percentage, $CD4^+/CD8^+$ ratio, coronary artery diameter, and endothelial apoptosis, as well as significant increases in $CD3^+$ and $CD8^+$ T cell percentages (all $P<0.05$). **Conclusions** Overexpression of miR-155-5p exacerbates inflammatory response, coronary artery lesions, endothelial cell apoptosis, and immune dysfunction in KD, potentially through modulation of the TLR4/MAPK/NF-κB pathway. Inhibition of miR-155-5p may reverse these pathological changes.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2026, 28(6): 754-762]

Key words: Kawasaki disease; Inflammatory response; miR-155-5p; Endothelial cell apoptosis; Toll-like receptor 4; Immune function; Mouse

川崎病（Kawasaki disease, KD）是5岁以下儿童常发的全身血管炎性疾病，患儿可表现为发热、四肢末梢形态改变、皮疹、卡介苗接种部位红肿、双侧球结膜充血、口唇和口腔黏膜病变、颈部非化脓性淋巴结肿大，该病20%~25%患儿可合并心血管系统疾病[1]。冠状动脉病变（coronary artery lesion, CAL）是KD常诱发的并发症之一，属于特发性炎症疾病，常与炎症反应及免疫紊乱相关[2]。有研究发现，KD机体中包括巨噬细胞和T细胞等多种细胞可表现出持续的炎症反应，产生多种炎性介质及免疫激活的共刺激因子，并通过加快对内皮细胞损伤途径参与CAL病情进展[3]。另外，KD发生过程中某些致炎信号通路也参与促进作用。Toll样受体4（Toll-like receptor 4, TLR4）是介导炎症反应的相关信号通路，其可参与先天免疫识别脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）而介导炎症反应，并可激活核因子κB（nuclear factor kappa-B, NF-κB）及丝裂原激活的蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase, MAPK）而引起炎症介质的合成及释放[4]。有研究表明，KD人冠状动脉内皮细胞中TLR4激活后会增加NF-κB表达而加快炎症损伤，而抑制TLR4后可缓解损伤[5]。近年来，微小RNA（microRNA, miRNA）作为一种调控基因表达的重要分子，引起了医学研究领域的广泛关注，其广泛存在于动植物细胞中并可通过调控基因等而参与疾病发生发展[6]。miR-155-5p是miRNA家族中的重要成员，其功能广泛，参与炎症反应、免疫应答及肿瘤发生、侵袭和转移等过程[7]。且随着对miR-155-5p研究的深入发现其与KD也存在一定关联。有研究表明[8]，在KD小鼠中抑制miR-155-5p可促进免疫平衡，并抑制血管炎症反应，机制可能与沉默信息调节因子1（silent information regulator 1, SIRT1）激活相关。但miR-155-5p在KD中对冠脉病变、TLR4/MAPK/NF-κB信号通路等的影响还不清楚，故本文以此作为创新点，探究其作用，为相关研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 动物来源

60只无特定病原体BALB/C雄性小鼠购自赛业（苏州）生物科技有限公司，3~4周龄，体重15~20 g，生产许可证：SCXK（苏）2020–0005。按照

《实验动物管理条例》要求饲养，给予清洁饲料，饲养环境湿度为55%~60%，温度25℃，模拟黑白交替光照，5只小鼠一个笼子，定时清洗、消毒鼠笼。本研究经广东医科大学动物伦理委员会审批，审批号：IACUC-2025–0737。

1.2 主要试剂与仪器

干酪乳杆菌细胞壁提取物（lactobacilluscasei cell wall extract, LCWE）购自深圳子科生物科技有限公司；miR-155-5p agomir、agomir-NC、miR-155-5p antagomir、antagomir-NC均购自广州锐博生物技术有限公司；白细胞介素（interleukins, IL）-6、IL-1β ELISA试剂盒购自上海古朵生物科技有限公司；肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）-α ELISA试剂盒购自美国PeproTech公司；苏木精–伊红染色试剂盒购自上海联祖生物科技有限公司；TUNEL试剂盒购自上海沪震实业有限公司；BCA试剂盒购自上海经科化学科技有限公司；GAPDH兔多克隆抗体购自美国Thermo Fisher Scientific公司；辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG购自上海碧云天生物技术股份有限公司；NF-κB p65、p-NF-κB p65、TLR4购自美国Cell Signaling Technology公司；p38 MAPK购自上海优宁维生物科技股份有限公司；BD FACSCelesta型流式细胞仪购自美国BD公司；CIM倒置显微镜购自英国ioLight公司；XinPOWER电泳仪购自上海勤翔科学仪器有限公司。

1.3 分组、建模及干预方法

将60只小鼠采用随机数字表法分为健康组、KD组、miR-155-5p agomir（激动剂）组、agomir-NC（激动剂阴性对照）组、miR-155-5p antagomir（拮抗剂）组、antagomir-NC（拮抗剂阴性对照）组，每组各10只。参照文献［9］建立KD模型：将LCWE接种于无菌培养基，37 ℃厌氧条件下培养48 h后，以5 000 r/min离心30 min，弃上清液，加入40 g/L SDS溶液裂解，再次离心后采用PBS洗涤；加入10倍体积、浓度为250 μg/mL的RNase溶液、DNase Ⅰ溶液、胰蛋白酶混匀，37 ℃孵育4 h；离心操作3次后加入PBS重悬，水浴超声破碎2 h；12 000 r/min离心60 min，收集上清液即为LCWE原液，稀释至1 mg/mL备用。除健康组不予造模，其余各组小鼠均单次腹腔注射LCWE溶液0.5 mL，每日1次，连续注射3 d，以小鼠出现易激惹、竖毛、活动减少、精神萎靡、弓背、口唇及鼻部红肿等典型表现为KD模型建立成功判定标准。本研究所有建模小鼠均符合建模成功标准。建模成功次日进行分组干预：miR-155-5p agomir组、agomir-NC组、miR-155-5p antagomir组、antagomir-NC组分别经尾静脉注射200 μL的miR-155-5p agomir、agomir-NC、miR-155-5p antagomir、antagomir-NC化学修饰的复合物；健康组与KD组小鼠注射200 μL PBS，各组均每日注射1次，连续注射7 d。

1.4 炎症因子检测

各组小鼠连续注射第7天后，腹主动脉取血5 mL，2 mL抗凝备用，3 mL以3 500 r/min、10 cm离心半径离心10 min，保留血清。采用ELISA试剂盒检测IL-6、IL-1β及TNF-α水平，按照试剂盒说明书操作，使用酶标仪于450 nm处测定光密度值，绘制标准曲线并计算各因子含量。

1.5 免疫功能检测

取上述抗凝处理全血2 mL，加入等量无菌PBS充分吹打混匀；缓慢加入淋巴细胞分离液上层，保持液面分界清晰，2 000 r/min离心20 min；吸取白膜层单个核细胞，PBS重悬洗涤2次，每次1 500 r/min离心10 min，调整细胞浓度至1×10^6个细胞/mL；取100 μL细胞悬液，分别加入荧光标记分化抗原（cluster of differentiation, CD）3、CD4及CD8单克隆抗体，避光冰上孵育30 min；加入PBS洗涤2次，1 500 r/min离心5 min弃上清；加入400 μL PBS重悬过滤，采用流式细胞仪检测$CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ T淋巴细胞占总T淋巴细胞的百分比，计算$CD4^+/CD8^+$比值。

1.6 冠状动脉内径检测

各组小鼠采用高频超声检测冠状动脉内径，操作方法：各组小鼠予1.5%异氟烷吸入麻醉，剔除胸部毛发后涂抹超声耦合剂。使用配备30 MHz机械扫描探头的小动物高频超声成像系统，采集左冠状动脉主干及左前降支近端切面，冻结图像后测量血管内径，多次测量取平均值。

1.7 苏木精–伊红染色观察冠状动脉组织病理形态

免疫功能检测实验结束后，采用随机数字表法每组取5只小鼠处死。钝性分离心脏，PBS灌洗至心脏呈灰白色，取左冠状动脉主干膨出部位标本，用于病理染色及细胞凋亡检测。标本经多聚甲醛固定24 h，梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋后，制作7 μm厚度切片；烘干后经二甲苯脱蜡、水化，苏木精染色5 min，自来水冲洗；1%

盐酸乙醇分化 5 s，0.5% 氨水返蓝，伊红染色 2 min。标本依次脱水、透明、封片，光学显微镜下观察冠状动脉组织病理形态变化。

1.8 TUNEL 染色观察冠状动脉内皮细胞凋亡情况

石蜡切片脱蜡水化后，用 20 μg/mL 蛋白酶 K 于 37 ℃消化 30 min 以暴露 DNA 断裂末端。PBS 漂洗后，按 TUNEL 凋亡检测试剂盒说明书操作，向样品区加入含 TdT 酶和荧光标记 dUTP 的反应工作液，37℃湿盒避光孵育 60 min。加入小鼠抗大鼠 CD31 单克隆抗体特异性标记血管内皮细胞，4℃孵育过夜。次日经 PBS 漂洗后，加入山羊抗小鼠 IgG 二抗，室温避光孵育 60 min。最后用 DAB 染色标记。采用 Image J 图像分析软件统计阳性区域内 TUNEL 与细胞核共定位阳性细胞数，计算冠状动脉内皮细胞凋亡率。

1.9 免疫印迹检测 NF-κB p65、p-NF-κB p65、TLR4 及 p38 MAPK 蛋白表达

各组剩余 5 只小鼠进行免疫印迹实验。取小鼠冠状动脉组织，液氮充分研磨置于匀浆器内，加入 500 μL 蛋白裂解液充分碎裂组织；室温静置 30 min 后转移至离心管，12 000 r/min、4 ℃离心 10 min，收集蛋白上清液，采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度并统一各组蛋白浓度。蛋白样品加入等体积 2×SDS 上样缓冲液，95 ℃水浴使蛋白变性。配制 12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶，每孔加样 25 μL 进行电泳，随后转膜，5% 脱脂奶粉封闭 1 h。TBST 洗膜 3 次，每次 5 min；加入（NF-κB p65、p-NF-κB p65、TLR4、p38 MAPK，稀释比例均为 1∶500）一抗及内参 GAPDH 抗体（稀释比例为 1∶2 000），4℃孵育过夜。次日经 TBST 漂洗 3 次，每次 10 min，加入羊抗兔 IgG 二抗（稀释比例为 1∶2 500）孵育。采用凝胶成像系统采集图像，Image J 软件分析条带灰度值，以目的条带与内参 GAPDH 的灰度比值作为蛋白相对表达量。

1.10 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用独立样本 t 检验。P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠血清炎症因子水平比较

与健康组相比，KD 组 IL-6、IL-1β 及 TNF-α 水平均升高（P<0.05）；与 KD 组相比，miR-155-5p agomir 组 IL-6、IL-1β 及 TNF-α 水平均升高（P<0.05），miR-155-5p antagomir 组 IL-6、IL-1β 及 TNF-α 水平均降低（P<0.05）；与 miR-155-5p agomir 组相比，miR-155-5p antagomir 组 IL-6、IL-1β 及 TNF-α 水平均降低（P<0.05）。见表 1。

表 1 各组小鼠血清 IL-6、IL-1β 及 TNF-α 水平比较

（$\bar{x} \pm s$，n=10，pg/mL）

组别	IL-6	IL-1β	TNF-α
健康组	55 ± 8	43 ± 7	63 ± 11
KD 组	108 ± 18[a]	87 ± 14[a]	128 ± 24[a]
miR-155-5p agomir 组	164 ± 24[a,b]	107 ± 19[a,b]	154 ± 31[a,b]
agomir-NC 组	110 ± 19[a,c]	87 ± 10[a,c]	129 ± 26[a,c]
miR-155-5p antagomir 组	81 ± 15[a,b,c,d]	66 ± 8[a,b,c,d]	91 ± 18[a,b,c,d]
antagomir-NC 组	108 ± 20[a,c,e]	85 ± 9[a,c,e]	124 ± 26[a,c,e]
F 值	40.220	32.550	19.000
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注：［IL-6］白细胞介素 -6；［IL-1β］白细胞介素 -1β；［TNF-α］肿瘤坏死因子 -α。[a]与健康组比较，P<0.05；[b]与 KD 组比较，P<0.05；[c]与 miR-155-5p agomir 组相比，P<0.05；[d]与 agomir-NC 组相比，P<0.05；[e]与 miR-155-5p antagomir 组相比，P<0.05。

2.2 各组小鼠 $CD3^+$、$CD4^+$ 和 $CD8^+$ 百分率及 $CD4^+/CD8^+$ 比值比较

与健康组相比，KD 组 $CD3^+$、$CD8^+$ 百分率降低，$CD4^+$ 百分率、$CD4^+/CD8^+$ 比值升高（P<0.05）。与 KD 组相比，miR-155-5p agomir 组 $CD3^+$、$CD8^+$ 百分率降低，$CD4^+$ 百分率、$CD4^+/CD8^+$ 比值升高（P<0.05）；miR-155-5p antagomir 组 $CD3^+$、$CD8^+$ 百分率升高，$CD4^+$ 百分率、$CD4^+/CD8^+$ 比值降低（P<0.05）。与 miR-155-5p agomir 组相比，miR-155-5p antagomir 组 $CD3^+$、$CD8^+$ 百分率升高，$CD4^+$ 百分率、$CD4^+/CD8^+$ 比值降低（P<0.05）。见表 2。

2.3 各组小鼠冠脉内径比较

与健康组［（0.22 ± 0.03）mm］相比，KD 组［（0.43 ± 0.09）mm］冠状动脉内径升高（P<0.05），KD 组、agomir-NC 组［（0.44 ± 0.11）mm］、antagomir-NC 组［（0.42 ± 0.10）mm］比较差异无统计学意义（P>0.05）；与 KD 组相比，miR-155-5p agomir 组［（0.52 ± 0.10）mm］冠状动脉内径升高，miR-155-5p antagomir 组［（0.35 ± 0.08）mm］冠状动脉内径降低（P<0.05）；与 miR-155-5p agomir 组相比，miR-155-5p antagomir 组冠状动脉内径降低（P<0.05）。

表2　各组CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺百分率及CD4⁺/CD8⁺比值比较　（$\bar{x} \pm s$，n=10）

组别	CD3⁺ (%)	CD4⁺ (%)	CD8⁺ (%)	CD4⁺/CD8⁺
健康组	46 ± 8	20 ± 5	25.9 ± 4.5	0.79 ± 0.13
KD组	31 ± 7[a]	27 ± 5[a]	4.6 ± 0.8[a]	5.75 ± 1.27[a]
miR-155-5p agomir组	24 ± 5[a,b]	30 ± 7[a,b]	2.9 ± 0.6[a,b]	10.44 ± 1.50[a,b]
agomir-NC组	31 ± 6[a,c]	26 ± 5[a,c]	4.8 ± 0.9[a,c]	5.44 ± 1.22[a,c]
miR-155-5p antagomir组	38 ± 7[a,b,c,d]	23 ± 5[a,b,c,d]	14.9 ± 2.6[a,b,c,d]	1.56 ± 0.30[a,b,c,d]
antagomir-NC组	32 ± 7[a,c,e]	27 ± 4[a,c,e]	4.8 ± 1.0[a,c,e]	5.67 ± 1.39[a,c,e]
F值	12.350	4.561	169.000	97.970
P值	<0.001	0.002	<0.001	<0.001

注：［CD］分化抗原。[a]与健康组比较，P<0.05；[b]与KD组比较，P<0.05；[c]与miR-155-5p agomir组相比，P<0.05；[d]与agomir-NC组相比，P<0.05；[e]与miR-155-5p antagomir组相比，P<0.05。

2.4　各组小鼠冠状动脉组织病理形态比较

健康组冠状动脉管壁结构完整，内皮细胞连续，平滑肌层排列整齐，未见炎性细胞浸润及血管扩张；KD组冠状动脉管壁增厚、内皮细胞脱落，伴大量炎性细胞浸润，平滑肌层排列紊乱，可见血管扩张及管腔狭窄；miR-155-5p agomir组冠状动脉炎症浸润进一步加重，管壁明显增厚，管腔狭窄程度较KD组加剧；agomir-NC组病理表现与KD组相近，仍存在明显炎性浸润与管壁增厚；miR-155-5p antagomir组冠状动脉炎性细胞浸润较KD组减少，管壁增厚程度减轻，平滑肌层排列较规整，管腔狭窄明显改善；antagomir-NC组冠状动脉病理改变与KD组无明显差异。见图1。

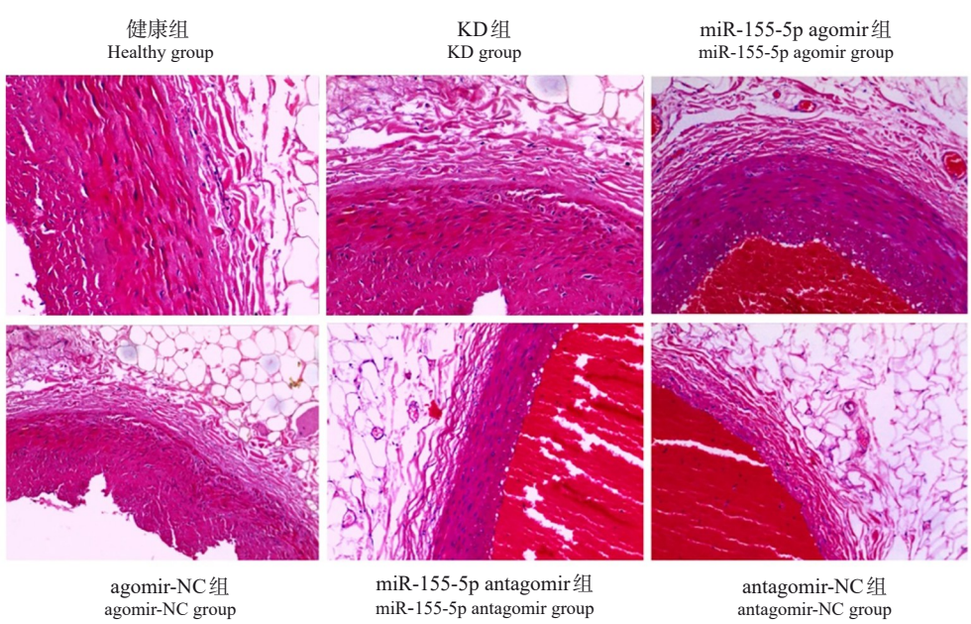


图1　各组小鼠冠状动脉组织病理形态比较（200×，苏木精–伊红染色）　健康组冠状动脉管壁结构完整，内皮细胞连续，平滑肌层排列整齐，未见炎性细胞浸润及血管扩张；KD组冠状动脉管壁增厚、内皮细胞脱落，伴大量炎性细胞浸润，平滑肌层排列紊乱，可见血管扩张及管腔狭窄；miR-155-5p agomir组冠状动脉炎症浸润进一步加重，管壁明显增厚，管腔狭窄程度较KD组加剧；agomir-NC组病理表现与KD组相近，仍存在明显炎性浸润与管壁增厚；miR-155-5p antagomir组冠状动脉炎性细胞浸润较KD组减少，管壁增厚程度减轻，平滑肌层排列较规整，管腔狭窄明显改善；antagomir-NC组冠状动脉病理改变与KD组无明显差异。

2.5　各组小鼠冠状动脉组织内皮细胞凋亡率比较

与健康组（5.3% ± 0.8%）相比，KD组（21.1% ± 3.4%）内皮细胞凋亡率升高（P<0.05），KD组、agomir-NC组（22.1% ± 4.2%）、antagomir-NC组（20.4% ± 3.7%）比较差异无统计学意义（P>0.05）；与KD组相比，miR-155-5p agomir组

（36.8%±9.0%）内皮细胞凋亡率升高，miR-155-5p antagomir组（14.1%±3.2%）内皮细胞凋亡率降低（*P*<0.05）；与miR-155-5p agomir组相比，miR-155-5p antagomir组内皮细胞凋亡率降低（*P*<0.05）。见图2。

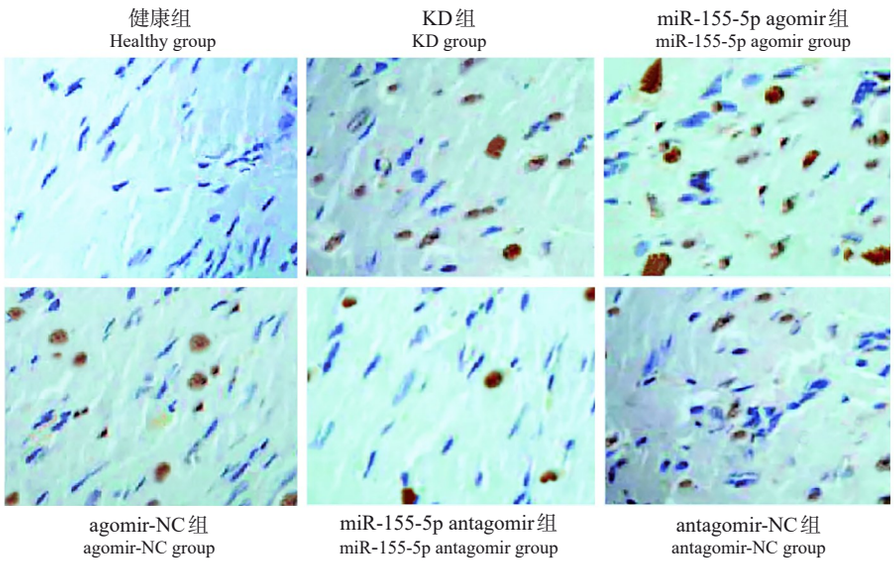


图2　各组冠脉组织内皮细胞凋亡率比较　细胞核呈棕褐色/棕黄色染色为凋亡阳性细胞，细胞核呈蓝色为正常细胞。健康组冠状动脉内皮细胞凋亡少见，凋亡阳性细胞数量极少；KD组凋亡阳性细胞数量明显增多；miR-155-5p agomir组凋亡阳性细胞数量较KD组进一步增多；agomir-NC组、antagomir-NC组凋亡水平与KD组相比无明显差异；miR-155-5p antagomir组凋亡阳性细胞数量较KD组明显减少。

2.6　各组NF-κB p65、p-NF-κB p65、TLR4及p38 MAPK蛋白表达比较

与健康组相比，KD组p-NF-κB p65、TLR4及p38 MAPK蛋白表达升高（*P*<0.05）；与KD组相比，miR-155-5p agomir组p-NF-κB p65、TLR4及p38 MAPK蛋白表达升高，miR-155-5p antagomir组p-NF-κB p65、TLR4及p38 MAPK蛋白表达降低（*P*<0.05）；与miR-155-5p agomir组相比，miR-155-5p antagomir组p-NF-κB p65、TLR4及p38 MAPK蛋白表达降低（*P*<0.05）；各组NF-κB p65蛋白表达比较差异无统计学意义（*P*>0.05）。见表3、图3。

表3　各组NF-κB p65、p-NF-κB p65、TLR4及p38 MAPK蛋白表达比较　（$\bar{x}\pm s$，n=5）

组别	NF-κB p65	p-NF-κB p65	TLR4	p38 MAPK
健康组	0.96±0.10	0.46±0.05	0.122±0.021	0.33±0.05
KD组	0.93±0.11	0.71±0.09[a]	0.853±0.132[a]	0.80±0.11[a]
miR-155-5p agomir组	0.95±0.10	0.89±0.10[a,b]	1.214±0.240[a,b]	1.16±0.17[a,b]
agomir-NC组	0.97±0.12	0.73±0.08[a,c]	0.864±0.151[a,c]	0.82±0.10[a,c]
miR-155-5p antagomir组	1.01±0.15	0.56±0.07[a,b,c,d]	0.482±0.092[a,b,c,d]	0.50±0.09[a,b,c,d]
antagomir-NC组	0.98±0.13	0.70±0.10[a,c,e]	0.830±0.102[a,c,e]	0.83±0.14[a,c,e]
*F*值	0.261	15.830	36.430	31.050
*P*值	0.930	<0.001	<0.001	<0.001

注：［NF-κB p65］核因子κB p65；［p-NF-κB p65］磷酸化核因子κB p65；［TLR4］Toll样受体4；［p38 MAPK］p38丝裂原激活的蛋白激酶。[a]与健康组比较，*P*<0.05；[b]与KD组比较，*P*<0.05；[c]与miR-155-5p agomir组相比，*P*<0.05；[d]与agomir-NC组相比，*P*<0.05；[e]与miR-155-5p antagomir组相比，*P*<0.05。

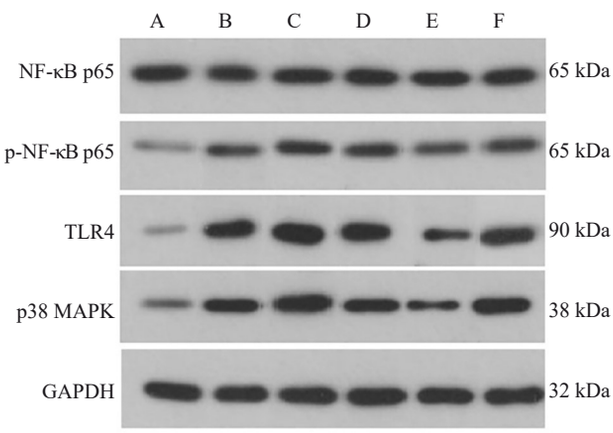


图 3　各组 NF-κB p65、p-NF-κB p65、TLR4 及 p38 MAPK蛋白表达电泳图　A：健康组；B：KD组；C：miR-155-5p agomir 组；D：agomir-NC 组；E：miR-155-5p antagomir 组；F：antagomir-NC组。

3　讨论

KD是儿童常见的急性系统性血管炎，其核心危害在于诱发CAL，而炎症反应失控与免疫紊乱是驱动KD发生发展的关键病理环节[10]。近年来，miRNA在KD发病中的调控作用备受关注，其中miR-155-5p与炎症反应及免疫细胞活化相关性较高，且已被证实与类风湿关节炎[11]、动脉粥样硬化[12]等炎症性疾病密切相关。本研究以LCWE诱导的KD小鼠模型为研究对象，探究miR-155-5p通过TLR4/MAPK/NF-κB信号通路对KD小鼠炎症反应、冠脉病变及免疫功能的影响，旨在为KD的病理机制解析与靶向干预提供实验依据，现将主要结果结合现有研究展开分析与讨论。

KD基本病理改变为全身炎症反应，炎症细胞如巨噬细胞等被激活加快局部浸润、组织坏死，疾病急性期T淋巴细胞可释放大量免疫球蛋白和白细胞介素类炎症因子，其中IL-1β、IL-6、TNF-α等可介导炎性细胞聚集、活化，促进炎症介质释放，同时刺激体温调节中枢引起全身发热，加重炎症症状[13]。因此，治疗KD的关键在于抑制炎症反应。本研究结果显示，KD小鼠血清炎症因子IL-6、IL-1β、TNF-α水平升高，且T淋巴细胞$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$比值升高，$CD3^+$、$CD8^+$细胞水平降低。经miR-155-5p agomir干预后炎症反应进一步加剧，而miR-155-5p antagomir干预可抑制炎症因子释放，下调$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$水平，提高$CD3^+$、$CD8^+$细胞表达。提示miR-155-5p在KD疾病中发挥促炎、促免疫紊乱作用，特异性抑制其表达可缓解KD小鼠的炎症损伤及免疫失衡状态。miR-155定位于人13号染色体21 kb区域，包含5p、3p两条链，其中miR-155-5p是主导表达的形式，其在不同的细胞类型和组织环境中存在差异，可响应多种细胞信号通路的调控[14]。研究表明，miR-155-5p在活化免疫细胞中异常高表达，巨噬细胞中过表达的miR-155-5p可上调基质金属蛋白酶-2、基质金属蛋白酶-9等的表达，并通过调控诱导型一氧化氮合酶激活NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3炎症小体，进而提升IL-1β、TNF-α、IL-6水平[15]。周海燕等[16]研究表明，抑制miR-155-5p可通过调控p-NF-κB p65/p38 MAPK信号通路，减轻LPS诱导的炎症损伤，降低TNF-α、IL-1β、IL-6水平。KD患儿外周血T细胞亚群失衡主要表现为$CD4^+$ T细胞增加，$CD8^+$ T细胞减少，$CD4^+/CD8^+$比值升高，这使得机体免疫处于活化状态，$CD4^+$ T细胞可促进B细胞增殖分化为浆细胞，诱导免疫球蛋白及炎症因子大量分泌，进一步参与疾病进展[17]。miR-155-5p可通过靶向*CTLA4*、*BTLA*基因促进T细胞活化，同时调控叉头框蛋白O3、含SH2结构域的肌醇5'-磷酸酶1通路抑制$CD4^+$ T细胞凋亡[18]。研究显示，抑制KD小鼠miR-155表达可降低IL-6水平及脾脏$CD4^+$细胞比例，减轻心肌炎症损伤[19]。miR-155-5可靶向抑制SOCS1表达，上调促炎因子IL-6、TNF-α水平，促进$CD4^+$ T细胞活化，使$CD4^+$细胞占比升高[20]。本研究证实，在KD小鼠中抑制miR-155-5p可降低$CD4^+$细胞百分率及$CD4^+/CD8^+$比值，改善免疫紊乱，进而发挥抗炎作用。其潜在机制可能为：抑制miR-155-5p可减少促炎因子分泌，恢复T淋巴细胞亚群分化平衡，抑制$CD4^+$ T细胞异常扩增，增强$CD8^+$ T细胞的免疫杀伤功能，从而降低$CD4^+$细胞百分率与$CD4^+/CD8^+$比值，逆转机体免疫紊乱。

KD诱发CAL的机制为疾病进展过程中炎症反应失控及免疫紊乱。炎症因子释放并直接作用于冠状动脉，损伤内皮功能、破坏血管屏障功能，引发冠状动脉组织病变。此外，炎症反应可进一步加重冠状动脉内皮细胞氧化应激损伤，活性氧水平升高后，下调B淋巴细胞瘤-2表达、上调B淋巴细胞瘤-2相关X蛋白表达，加速内皮细胞凋亡。该过程会破坏冠状动脉管壁的完整性与修复能力，在加重CAL的同时，还会增加血栓形成、血管狭窄等发生风险[21]。本研究结果显示，KD小鼠冠状动脉组织病变程度较重，内皮细胞凋亡率显著升

高。miR-155-5p agomir可加重上述病理改变，而miR-155-5p antagomir则可减轻冠状动脉组织损伤。研究表明，与对照组相比，KD患儿体内miR-155表达明显升高，且其表达水平与冠状动脉损害程度呈正相关[22]。内皮细胞功能障碍是KD合并CAL的重要特征之一，miR-155-5p可能通过影响内皮细胞的结构完整性和生理功能，进而参与冠状动脉病变的进程。研究表明，转化生长因子-β1可诱导人冠状动脉内皮细胞中miR-155-5p表达上调，miR-155-5p可能通过调控靶基因*c-SKI*介导转化生长因子-β1对冠状动脉内皮细胞活性的调控作用[23]。本研究结果显示，KD小鼠冠状动脉组织中p-NF-κB p65、TLR4及p38 MAPK蛋白表达升高，miR-155-5p agomir干预后进一步上调上述蛋白表达，而miR-155-5p antagomir干预可抑制p-NF-κB p65、TLR4及p38 MAPK蛋白表达，但对NF-κB p65蛋白水平无明显影响。这可能是因为miR-155-5p的作用靶点位于NF-κB信号通路的上游激活区域，其可通过抑制通路负向调控因子，提升核因子κB抑制蛋白激酶复合体活性，特异性促进NF-κB p65亚基磷酸化。该过程不影响p65蛋白本身的合成与降解，因此各组总NF-κB p65蛋白表达水平无显著差异。TLR4作为该信号通路的上游模式识别受体，可在KD发病过程中被病原体相关分子模式激活，进一步活化下游p38 MAPK，通过信号转导促进NF-κB p65亚基磷酸化，使p65从细胞质转位至细胞核，启动炎症因子转录与释放，进而放大炎症级联反应[24]。该效应既可加重KD全身性炎症反应，还可直接作用于冠状动脉，损伤血管内皮细胞，最终参与CAL的发生发展。已有研究表明，抑制TLR4/NF-κB信号通路可改善KD介导的血管炎症和内皮细胞凋亡损伤[25]。此外，靶向沉默TLR2可下调磷酸化p38 MAPK蛋白表达，缓解LCWE诱导的RAW264.7细胞KD模型的炎症反应[26]。miR-155-5p过表达可增加p38 MAPK活性，而抑制miR-155-5p表达可下调TLR4、NF-κB p65及其磷酸化蛋白水平，进而发挥抗炎作用[27]。另有研究证实，NF-κB信号通路与炎症和免疫反应相关，miR-155为该通路的关键调控因子，可通过靶向作用于p65亚基、核因子κB抑制蛋白等分子，直接调控NF-κB活性[28]。有研究发现，灯盏花素可下调大鼠脑组织miR-155-5p表达，抑制TNF-α、IL-6、IL-1β表达水平，而miR-155-5p antagomir可逆转灯盏花素的抗炎效应，上调NF-κB表达[29]。因此，KD模型中降低miR-155-5p活性可显著抑制TLR4/MAPK/NF-κB信号通路的异常激活，进而发挥疾病保护作用。

综上所述，KD状态下miR-155-5p过表达可加重机体炎症反应，诱导内皮细胞凋亡，加剧CAL并紊乱免疫功能，其机制可能与调控TLR4/MAPK/NF-κB信号通路相关；而抑制miR-155-5p则可逆转上述病理改变。

作者贡献声明：刘伟东设计方案，收集数据，设计文章内容，查阅文献，撰写文章；蒋丰智协助数据整理分析，修改、补充文章设计缺陷；朱丁贤对本文数据进行统计学分析及统计学图片制作；梁燕勇审阅文章，补充遗漏，核对统计值。

利益冲突声明：所有作者声明无利益冲突。

［参 考 文 献］

[1] Xiong Y, Xu J, Zhang D, et al. MicroRNAs in Kawasaki disease: an update on diagnosis, therapy and monitoring[J]. Front Immunol, 2022, 13: 1016575. PMID: 36353615. PMCID: PMC9638168. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1016575.

[2] Xuan W, Yao Y, Wang Y, et al. A nomogram for predicting coronary artery lesions in patients with Kawasaki disease[J]. Medicine (Baltimore), 2024, 103(44): e40428. PMID: 39495992. PMCID: PMC11537659. DOI: 10.1097/MD.0000000000040428.

[3] Li C, Zhang H, Yin W, et al. Development and validation of a nomogram-based prognostic model to predict coronary artery lesions in Kawasaki disease from 6847 children in China[J]. Comput Methods Programs Biomed, 2025, 260: 108588. PMID: 39793529. DOI: 10.1016/j.cmpb.2025.108588.

[4] Li R, Ma Y, Wu H, et al. 4-Octyl itaconate alleviates endothelial cell inflammation and barrier dysfunction in LPS-induced sepsis via modulating TLR4/MAPK/NF- κB signaling : 4-octyl itaconate alleviates endothelial dysfunction[J]. Mol Med, 2025, 31(1): 240. PMID: 40524158. PMCID: PMC12168283. DOI: 10.1186/s10020-025-01160-2.

[5] Yao L, Lai Y, Li H, et al. USP5 deletion inhibits KD serum induced-human coronary artery endothelial cell dysfunction by regulating the NFATC1/TLR4-mediated NF-κB signaling pathway in Kawasaki disease[J]. Inflammation, 2025, 48(5): 3446-3457. PMID: 40053057. PMCID: PMC12596296. DOI: 10.1007/s10753-025-02276-7.

[6] Yang WW, Li QX, Wang F, et al. Exosomal miR-155-5p promote the occurrence of carotid atherosclerosis[J]. J Cell Mol Med, 2024, 28(21): e70187. PMID: 39495676. PMCID: PMC11534067. DOI: 10.1111/jcmm.70187.

[7] Park B, Choi ME, Ryu KJ, et al. Exosomal miR-155-5p drives ibrutinib resistance in B-cell lymphoma[J]. Exp Cell Res, 2024,

442(2): 114248. PMID: 39260673.
DOI: 10.1016/j.yexcr.2024.114248.

[8] 魏刚, 田晶, 梁冬雪, 等. miR-155-5p/sirt1 信号通路对白色念珠菌诱导川崎病模型小鼠免疫功能的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2025, 60(2): 307-312.
DOI: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.02.017.

[9] Lehman TJ, Walker SM, Mahnovski V, et al. Coronary arteritis in mice following the systemic injection of group B *Lactobacillus casei* cell walls in aqueous suspension[J]. Arthritis Rheum, 1985, 28(6): 652-659. PMID: 3924060.
DOI: 10.1002/art.1780280609.

[10] 高广川, 魏春艳, 况建华. 川崎病患儿急性期免疫及炎症相关指标变化及其与预后的关系[J]. 实用临床医药杂志, 2021, 25(14): 24-27. DOI: 10.7619/jcmp.20210984.

[11] 张玉红, 单新洁, 周俊. miR-155 通过 SOCS1/STAT3 途径调控类风湿性关节炎中炎症反应和 Th17/Treg 失衡[J]. 实用医学杂志, 2024, 40(13): 1791-1796.
DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2024.13.005.

[12] Wassaifi S, Kaeffer B, Zarrouk S. Cellular phenotypic transformation during atherosclerosis: the potential role of miRNAs as biomarkers[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(5): 2083. PMID: 40076710. PMCID: PMC11900927.
DOI: 10.3390/ijms26052083.

[13] Wang X, Zhang L. Integrative machine learning identifies robust inflammation-related diagnostic biomarkers and stratifies immune-heterogeneous subtypes in Kawasaki disease[J]. Pediatr Rheumatol Online J, 2025, 23(1): 61. PMID: 40457357. PMCID: PMC12128390. DOI: 10.1186/s12969-025-01114-2.

[14] Klein M, Gagnon PA, Salem M, et al. MicroRNA-155-5p differentially regulates IL-13Rα1 and IL-13Rα2 expression and signaling driving abnormal lung epithelial cell phenotype in severe asthma[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2024, 71(5): 603-616. PMID: 39051933. DOI: 10.1165/rcmb.2024-0089OC.

[15] Xu WD, Feng SY, Huang AF. Role of miR-155 in inflammatory autoimmune diseases: a comprehensive review[J]. Inflamm Res, 2022, 71(12): 1501-1517. PMID: 36308539.
DOI: 10.1007/s00011-022-01643-6.

[16] 周海燕, 周俐红, 张彩霞, 等. miR-155-5p 靶向下调 SOCS1 减轻脂多糖诱导的 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞炎症损伤[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2023, 39(3): 220-229.
DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.009560.

[17] 李惠丽, 陈伟明, 林若萍, 等. 炎症细胞因子及 T 淋巴细胞亚群评估川崎病患儿价值分析[J]. 中国医学创新, 2021, 18(20): 13-17. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4985.2021.20.004.

[18] Chen L, Gao D, Shao Z, et al. miR-155 indicates the fate of $CD4^+$ T cells[J]. Immunol Lett, 2020, 224: 40-49. PMID: 32485191. DOI: 10.1016/j.imlet.2020.05.003.

[19] 李海洲, 张琳, 王瑾, 等. 基于 SOCS1/STAT3 信号通路探讨 miR-155 对川崎病幼鼠心肌损伤的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(12): 2004-2009.
DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2021.12.010.

[20] Cheng J, Zhang Y, Yang J, et al. MiR-155-5p modulates inflammatory phenotype of activated oral lichen-planus-associated-fibroblasts by targeting SOCS1[J]. Mol Biol Rep, 2022, 49(8): 7783-7792. PMID: 35733067.
DOI: 10.1007/s11033-022-07603-x.

[21] 李小亚, 芦秦梅, 李丛哲. REEP5 在川崎病中的表达及通过影响线粒体功能对血管内皮细胞早期凋亡的影响[J]. 中国心血管病研究, 2024, 22(5): 415-421.
DOI: 10.3969/j.issn.1672-5301.2024.05.006.

[22] 叶佳云, 陈雪贞, 廖雄宇, 等. MiR-155、miR-208 和 miR-499 在川崎病患儿中的表达检测与分析[J]. 岭南现代临床外科, 2019, 19(6): 709-713.
DOI: 10.3969/j.issn.1009-976X.2019.06.014.

[23] 吕忠英, 巴·巴音斯勒玛, 张岳, 等. miR-155-5p 靶向 c-SKI 对冠状动脉内皮细胞增殖及胶原合成的影响[J]. 医学研究杂志, 2021, 50(2): 57-62.
DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.02.014.

[24] Yu L, Luo Q, Rao X, et al. Unveiling the anti-inflammatory mechanism of exogenous hydrogen sulfide in Kawasaki disease based on network pharmacology and experimental validation[J]. Sci Rep, 2025, 15(1): 7410. PMID: 40033067. PMCID: PMC11876624. DOI: 10.1038/s41598-025-91998-7.

[25] Guan Y, Ruan J, Tan P, et al. Hesperidin alleviates endothelial cell inflammation and apoptosis of Kawasaki disease through inhibiting the TLR4/IκBα/NF-κB pathway[J]. Chem Biol Interact, 2025, 411: 111445. PMID: 39987982.
DOI: 10.1016/j.cbi.2025.111445.

[26] 高吊清, 白瑞, 宋晓苏, 等. Toll 样受体信号途径在 RAW264.7 细胞川崎病模型炎症反应中的作用及其机制研究[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(2): 210-213.
DOI: 10.11655/zgywylc2019.02.005.

[27] Tuohudaali W, Ji TF, Ding WT, et al. Urolithin B inhibits LPS-induced macrophage M1 polarization via miR155-5p mediated MAPK/NF-κB pathway[J]. J Asian Nat Prod Res, 2025, 27(5): 787-796. PMID: 39671344.
DOI: 10.1080/10286020.2024.2435984.

[28] Mohan S, Hakami MA, Dailah HG, et al. From inflammation to metastasis: the central role of miR-155 in modulating NF-κB in cancer[J]. Pathol Res Pract, 2024, 253: 154962. PMID: 38006837. DOI: 10.1016/j.prp.2023.154962.

[29] 石露露, 赵育林, 韩卫南, 等. 灯盏花素通过 microRNA-155-5p 调控 NF-κB 减轻感染性休克大鼠脑损伤[J]. 解剖科学进展, 2024, 30(5): 534-537, 540.
DOI: 10.16695/j.cnki.1006-2947.2024.05.023.

（本文编辑：杨丹）

（©《中国当代儿科杂志》编辑部，开放获取 CC BY-NC-ND 4.0 协议）
（© Editorial Office of *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*. OA under CC BY-NC-ND 4.0 license）