基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003742

PRMT7在Duchenne肌营养不良小鼠肌肉炎症、氧化应激和纤维化中的作用及机制研究

孙思媛[1]，蔡　娜[2]
（1.西北妇女儿童医院儿童保健科，西安　710061；2.西北妇女儿童医院医学遗传中心，西安　710061）

【摘　要】目的：探究蛋白精氨酸甲基转移酶7（protein arginine methyltransferase 7，PRMT7）在Duchenne肌营养不良（duchenne muscular dystrophy，DMD）小鼠肌肉炎症、氧化应激和纤维化中的作用和机制。**方法：**本研究以C57BL/6野生型小鼠为对照组，以小鼠为DMD疾病模型组，以尾静脉注射AAV9-PRMT7的mdx小鼠为实验组。采用酶联免疫吸附实验（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）法测定炎症因子水平；利用商业试剂盒检测氧化应激相关指标；通过Masson染色评估腓肠肌纤维化程度；通过Western blot实验检测PRMT7、过氧化物酶体增殖物激活受体γ共激活因子-1α（peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator-1 alpha，PGC-1α）和核因子红系2相关因子2（nuclear factor erythroid 2-related factor 2，Nrf2）的表达；通过免疫沉淀实验检测PGC-1α的精氨酸甲基化水平。**结果：**PRMT7在mdx小鼠腓肠肌中的表达量显著减少（0.67 ± 0.03，F=70.764，P=0.001）；上调PRMT7显著降低mdx小鼠腓肠肌中的炎症因子水平[白细胞介素-1β（interleukin-1 beta，IL-1β）：167.87 ± 13.25，F=407.751，P<0.001；肿瘤坏死因子-α（tumour necrosis factor-α，TNF-α）：1 071.54 ± 46.63，F=55.996，P=0.048]；上调PRMT7明显改善mdx小鼠腓肠肌的氧化应激和纤维化状态[活性氧（reactive oxygen species，ROS）：1.16 ± 0.03，F=86.820，P=0.008；丙二醛（malondialdehyde，MDA）：66.11 ± 3.84，F=228.175，P=0.001；谷胱甘肽（reduced glutathione，GSH）/氧化型谷胱甘肽（oxidized glutathione disulfide，GSSG）：2.53 ± 0.06，F=499.962，P<0.001；纤维化面积：10.33 ± 0.47，F=604.272，P=0.002）；上调PRMT7提高PGC-1α精氨酸甲基化水平；上调PRMT7显著提高PGC-1α和Nrf2的蛋白水平（PGC-1α：1.94 ± 0.11，F=31.565，P=0.038；Nrf2：1.53 ± 0.12，F=140.761，P<0.001）。**结论：**促进PRMT7的表达能够减轻mdx小鼠腓肠肌中的炎症、氧化应激和纤维化病理状态，这些作用可能是通过PGC-1α/Nrf2通路来实现的。

【关键词】肌营养不良；蛋白精氨酸甲基转移酶7；炎症；纤维化；过氧化物酶体增殖物激活受体γ共激活因子-1α；核因子红系2相关因子2
【中图分类号】R746.2　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2024-01-26

Role and mechanism of PRMT7 in muscle inflammation, oxidative stress, and fibrosis in Duchenne muscular dystrophy mice

Sun Siyuan[1], *Cai Na*[2]
(*1. Department of Children Health Care, Northwest Women's and Children's Hospital;*
2. Department of Clinical Genetics, Northwest Women's and Children's Hospital)

【Abstract】*Objective*: To investigate the role and mechanism of protein arginine methyltransferase 7 (PRMT7) in muscle inflammation, oxidative stress, and fibrosis in Duchenne muscular dystrophy mice. ***Methods*:** In this study, C57BL/6 wild-type mice were used as the control group, mdx mice as the model group of Duchenne muscular dystrophy, and mdx mice injected with AAV9-PRMT7 by the caudal vein as the experimental group. The levels of inflammatory factors were measured by an enzyme-linked immunosorbent assay. Oxidative stress-related indicators were measured using commercial kits. Masson staining was performed to assess the fibrosis degree of the gastrocnemius. The expression of PRMT7, peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha (PGC-1α), and nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) was analyzed by a Western blot assay. The arginine methylation level of PGC-1α was determined by an immunoprecipitation assay. ***Results*:** PRMT7 expression was significantly reduced in the gastrocnemius of mdx mice (0.67 ± 0.03, F=70.764, P=0.001). The up-regulation of PRMT7 resulted in significant decreases in the levels of inflammatory factors (interleukin-1β: 167.87 ± 13.25, F=407.751, P<0.001; tumor necrosis factor-α: 1071.54 ± 46.63, F=55.996, P=0.048) and significant improvements in the oxidative stress and fibrosis status in the gastrocnemius of mdx mice (reactive oxygen species: 1.16 ± 0.03, F=86.820, P=0.008; malondialdehyde: 66.11 ± 3.84, F=228.175, P=0.001; glutathione/oxidized glutathione: 2.53 ± 0.06, F=499.962, P<0.001; fibrosis area: 10.33 ± 0.47, F=604.272, P=0.002), an in-

作者介绍：孙思媛，Email：ssy116729@126.com，研究方向：儿童保健。
通信作者：蔡　娜，Email：nannancnn@126.com。
基金项目：陕西省卫生健康高层次人才（团队）培育计划——青年人才资助项目。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250121.2132.002（2025-01-22）

crease in the arginine methylation level of PGC-1α, and significant increases in protein levels of PGC-1α and Nrf2 (PGC-1α: 1.94 ± 0.11, F=31.565, P=0.038; Nrf2: 1.53 ± 0.12, F=140.761, P<0.001). ***Conclusion***: Increasing PRMT7 expression attenuates the inflammation, oxidative stress, and pathological state of fibrosis in the gastrocnemius of mdx mice. Thses effects may be achieved through the PGC-1α/Nrf2 pathway.

【Key words】muscular dystrophy; protein arginine methyltransferase 7; inflammation; fibrosis; peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha; nuclear factor erythroid 2-related factor 2

Duchenne 肌营养不良（duchenne muscular dystrophy, DMD）是一种严重的、进行性的肌肉萎缩疾病，由抗肌萎缩蛋白缺失引起。抗肌萎缩蛋白对肌纤维的质膜稳定至关重要，在缺乏抗肌萎缩蛋白的情况下，肌肉收缩会导致肌纤维坏死，并引发随后的炎症、氧化应激和纤维化[1]。为了应对肌纤维的损失，肌肉卫星细胞被激活并产生新的肌纤维。反复的肌肉损伤和再生会导致肌肉卫星细胞的耗竭，最终肌肉将被无功能的纤维化组织或脂肪组织取代[2]。目前 DMD 的治疗策略主要包括基因疗法、细胞疗法以及抗炎、抗氧化和抗纤维化治疗[3]。近年，腺相关病毒（adeno-associated virus, AAV）介导的基因转移在改善 DMD 小鼠肌肉功能方面展现出很大前景[4-5]。然而，DMD 是一种多系统疾病，其发病机制复杂，还需要深入探究 DMD 的分子机制，开发潜在的治疗靶点。

蛋白精氨酸甲基转移酶（protein arginine methyltransferase, PRMT）负责催化组蛋白和非组蛋白底物精氨酸残基的对称或不对称二甲基化，以此参与调节多种生物学过程。有研究表明，PRMT7 在肌肉卫星细胞分化期间表达，PRMT7 的缺失导致肌肉卫星细胞分化受损和肌肉再生延迟[6]。敲除 PRMT7 的肌肉卫星细胞表现出细胞周期停滞和过早衰老等特征，导致肌肉损伤时卫星细胞再生能力缺陷[7]。这说明 PRMT7 与肌肉卫星细胞的分化和肌肉再生有关。另一项研究发现，PRMT7 还参与了菊科草本植物保护小鼠免受肥胖诱导的骨骼肌萎缩的分子调控机制[8]。但是，PRMT7 在 DMD 中的作用，以及 PRMT7 能否改善 DMD 的肌肉病理状态尚未被研究。

因此，本研究旨在探究 PRMT7 在 mdx 小鼠肌肉炎症、氧化应激以及纤维化中的作用和机制，为临床上 DMD 的治疗提供新的实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

C57BL/6 野生型小鼠（WT）购自西安交通大学动物实验中心；DMD 模型小鼠（mdx）购自上海南方模式生物科技股份有限公司；PRMT7 载体 AAV9（AAV-PRMT7）、R3K、si-PGC-1α 和 si-Nrf2 由中国吉凯公司提供；胰蛋白酶、胎牛血清和 DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司；Lipofectamine 3000 购自美国 Thermo 公司；肌酸激酶（creatine kinase, CK）活性检测试剂盒购自美国 Sigma 公司；蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂、蛋白定量试剂盒和免疫沉淀试剂盒均购自美国 Thermo 公司；精氨酸甲基化抗体购自美国 Abcam 公司，其他抗体均购自中国武汉三鹰公司；小鼠白细胞介素-1β（interleukin-1β, IL-1β）和肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α, TNF-α）酶联免疫吸附实验（enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）试剂盒购自中国碧云天公司；活性氧（reactive oxygen species, ROS）检测试剂盒、丙二醛（malondialdehyde, MDA）检测试剂盒以及还原型谷胱甘肽（reduced glutathione, GSH）和氧化型谷胱甘肽（oxidized glutathione disulfide, GSSG）检测试剂盒购自中国碧云天公司；改良 Masson 三色染色试剂盒购自中国索莱宝公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物实验 在动物实验中心饲养雄性的 WT 小鼠和 mdx 小鼠。动物房内保持恒定的温度和湿度，并保证 12 h 光照/12 h 黑暗的循环照明时间，所有小鼠可自由获取食物和水。将包含 PRMT7 载体的 AAV9（6×10^{12} vg）通过尾静脉注射到 5 周龄的 mdx 小鼠中。在载体递送 12 周后处死小鼠，进行组织学和分析。动物实验严格按照动物护理和使用委员会的指导方针进行，并得到西安交通大学动物管理委员会的批准（编号：XJTUAE2024-1991）。

1.2.2 血清肌酸激酶活性测定 用异氟醚麻醉小鼠，通过心脏穿刺收集血液。让血液在室温下凝固 30 min，然后在 4 ℃下以 2 000 g 离心 10 min，获得血清。根据 CK 活性检测试剂盒的说明书，通过分光光度法检测血清 CK 活性。

1.2.3 成肌细胞的分离培养 麻醉并处死 mdx 小鼠后，迅速取出双侧腓肠肌，去脂肪、血液、纤维和结缔组织，剪碎至 1 mm^3。将碎块移入离心管中，加入 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 消化液，置于 37 ℃水浴中消化 30 min；加入 10% 胎牛血清培养基，用吸管反复吹打组织块，用细胞筛网进行过滤，保留细胞悬液；离心后弃上清液，用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基进行重悬；在培养箱中静置 30 min 后，取上清细胞悬液接种于培养瓶中，培养条件为 37 ℃，5% CO_2；每隔 2 d 更换 1 次培养基，当细胞融合度达到 80%~90% 时，进行传代培养（从骨骼肌中获得的肌卫星细胞在体外分离培养时被统称为成肌细胞）。

1.2.4 细胞转染 将成肌细胞接种在 6 孔板中，次日更换 1 mL 培养基，每孔加入 10 μL AAV-PRMT7，感染 2 h 后，补加 1 mL 培养基，在培养箱中孵育过夜后，更换新的培养基。PGC-1α 的精氨酸甲基化位点突变体 R3K（包括 R665K、

R667K 和 R669K，即将 665、667 和 669 位点的精氨酸突变为赖氨酸）、si-PGC-1α 和 si-Nrf2 通过 Lipofectamine 3000 转染到成肌细胞中。

1.2.5 Western blot 将蛋白裂解液与蛋白酶抑制剂按 1∶1 的比例配制成蛋白提取工作液。将小鼠腓肠肌或成肌细胞用蛋白提取工作液进行裂解，离心并收集上清液。利用蛋白定量试剂盒测定上清液中的蛋白质浓度，加入蛋白 loading buffer 后进行蛋白质变性。向浓缩胶加样孔中加入 30 μg 蛋白样品，80 V 恒压电泳 20 min 后，更换为 120 V 恒压电泳。采用湿转法将蛋白质转移到 PVDF 膜上，将膜放置在 5% 脱脂奶粉中封闭 1 h，然后在 4 ℃用一抗孵育过夜，次日洗膜后，加入二抗，在室温孵育 1.5 h。最后加入增强型化学发光显影液，在凝胶成像系统中显影成像。

1.2.6 免疫沉淀实验 PGC-1α 抗体与磁珠孵育 1 h，形成抗体偶联磁珠；用免疫沉淀裂解缓冲液处理成肌细胞 5 min，收集上清液；上清液与抗体偶联磁珠孵育 2 h 后，用磁力架分离并洗脱磁珠；通过 Western blot 检测 PGC-1α 蛋白水平以及 PGC-1α 的精氨酸甲基化水平。

1.2.7 炎症因子水平测定 采用小鼠 IL-1β ELISA 试剂盒和小鼠 TNF-α ELISA 试剂盒检测 IL-1β 和 TNF-α 水平。取适量小鼠腓肠肌，在预冷 PBS 中清洗去除血液，然后加入 5 mL 预冷 PBS 进行组织匀浆，5 000 g 离心 5 min，留取上清液。将 100 μL 上清液加入反应孔中，室温孵育 2 h；加入 100 μL 生物素化抗体，室温孵育 1 h；加入 100 μL 辣根过氧化物酶标记的 Streptavidin，室温避光孵育 20 min；加入显色剂 TMB 溶液，室温避光孵育 20 min；加入 50 μL 终止液后，检测 450 nm 处的吸光度。对于成肌细胞培养基中的 IL-1β 水平的测定，直接收集培养基，5 000 g 离心 5 min，留取上清液，后续操作同上。

1.2.8 氧化应激指标检测 用预冷 PBS 清洗小鼠腓肠肌，然后加入适量预冷 PBS 进行组织匀浆，10 000 g 离心 10 min 后，收集上清液。根据 ROS 检测试剂盒、MDA 检测试剂盒以及 GSH 和 GSSG 检测试剂盒的说明书，检测小鼠腓肠肌中的 ROS 水平、MDA 水平、GSH/GSSG 比率以及成肌细胞中的 ROS 水平。

1.2.9 Masson 染色 将小鼠腓肠肌放置在 10% 福尔马林中固定 48 h，然后进行石蜡包埋并切片（4 μm 厚）。依次将石蜡切片放入二甲苯Ⅰ和二甲苯Ⅱ中各 20 min，无水乙醇Ⅰ、无水乙醇Ⅱ、85% 酒精和 75% 酒精中各 5 min，然后用蒸馏水缓慢清洗。将切片放入媒染液中，室温浸染过夜；滴加天青石染液染 3 min；用酸性分化液分化 5 s；滴加丽春红品红染液染 10 min；用磷钼酸溶液处理 10 min；滴加苯胺蓝染液染 5 min；滴加弱酸染液洗去苯胺蓝；脱水透明；用中性树胶封片。

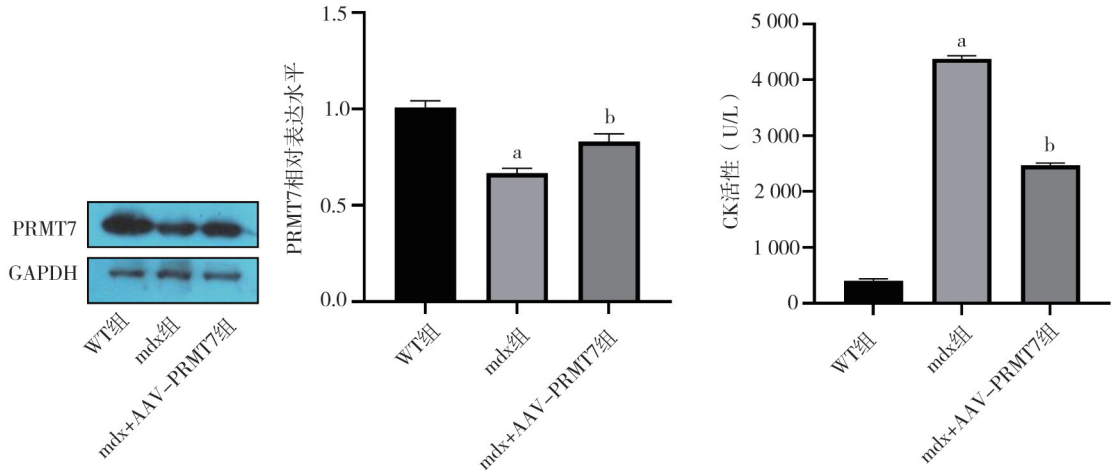
1.3 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，2 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（one-way ANOVA）和 Dunnett's T3 多重比较。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 PRMT7 在 mdx 小鼠腓肠肌中表达减少

为了探究 PRMT7 在 DMD 中的作用，向 mdx 小鼠尾静脉注射 PRMT7 载体 AAV9，以在 mdx 小鼠中过表达 PRMT7。与 WT 组（1.00 ± 0.04）相比，PRMT7 在 mdx 小鼠腓肠肌中表达减少（mdx 组：0.67 ± 0.03；F=70.764，P=0.001 vs. WT 组；图 1A）。尾静脉注射 AAV9 后，PRMT7 在 mdx 小鼠中的表达量增加（mdx+AAV-PRMT7 组：0.83 ± 0.04；F=70.764，P=0.022 vs. mdx 组；图 1A）。对肌肉损伤标志物的检测发现，与 WT 小鼠（402.66 ± 35.62）相比，mdx 小鼠的血清 CK 活性明显升高（mdx 组：4 376.18 ± 53.72；F=6 131.050，P<0.001 vs. WT 组；图 1B）。注射 AAV9 后，mdx 小鼠血清 CK 活性明显降低（mdx+AAV-PRMT7 组：2 469.33 ± 40.53；F=6 131.050，P<0.001 vs. mdx 组；图 1B）。以上结果表明，PRMT7 在 mdx 小鼠中表达减少，且 PRMT7 可能与 DMD 病理进展有关。



A. 腓肠肌中PRMT7的表达情况　　B. 血清CK活性

注：a，与 WT 组比较，P<0.05；b，与 mdx 组比较，P<0.05

图 1 上调 PRMT7 对 mdx 小鼠中 PRMT7 表达以及 CK 活性的影响

2.2 PRMT7减轻mdx小鼠腓肠肌的炎症和氧化应激

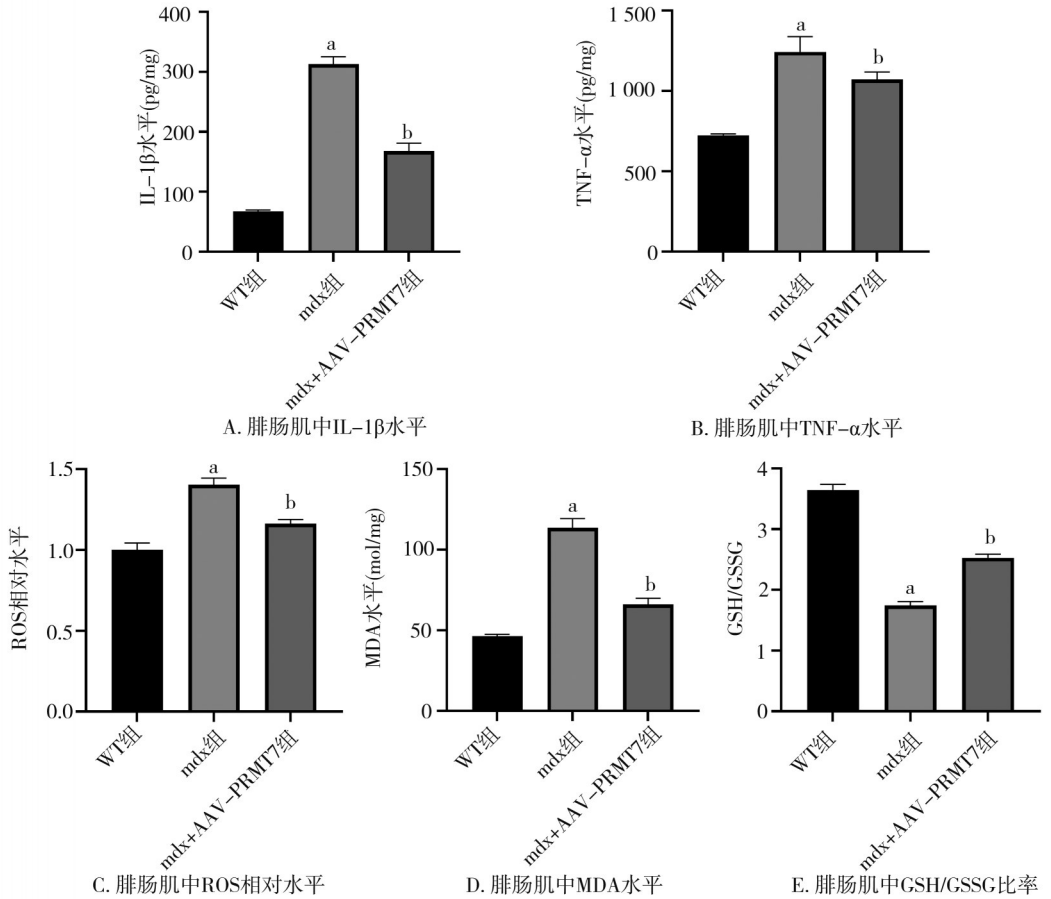
检测小鼠腓肠肌中的炎症和氧化应激相关指标，结果显示，mdx小鼠中的IL-1β和TNF-α水平明显比WT小鼠中的高（IL-1β：F=407.751，P=0.002；TNF-α：F=55.996，P=0.023；图2A和2B），而过表达PRMT7明显降低了mdx小鼠中的IL-1β和TNF-α水平（mdx+AAV-PRMT7组 vs. mdx组；IL-1β：F=407.751，P<0.001；TNF-α：F=55.996，P=0.048；图2A和2B）。另外，与WT组相比，mdx组中的ROS和MDA水平明显提高，GSH/GSSG比率明显降低（ROS：F=86.820，P=0.001；MDA：F=228.175，P=0.005；GSH/GSSG：F=499.962，P<0.001），而过表达PRMT7降低了mdx小鼠中的ROS和MDA水平，提高了GSH/GSSG比率（mdx+AAV-PRMT7组 vs. mdx组；ROS：F=86.820，P=0.008；MDA：F=228.175，P=0.001；GSH/GSSG：F=499.962，P<0.001；图2C~2E）。这说明，上调PRMT7能够抑制mdx小鼠腓肠肌的炎症和氧化应激。

2.3 PRMT7抑制mdx小鼠腓肠肌纤维化

探究PRMT7对mdx小鼠肌肉纤维化的影响。Masson染色显示，mdx小鼠腓肠肌肌肉纤维排列紊乱，间隙增大，并伴有胶原纤维沉积（图3A）。而注射过表达PRMT7的AAV9后，胶原纤维含量较mdx小鼠明显减少（mdx+AAV-PRMT7组 vs. mdx组；F=604.272，P=0.002；图3B），且肌肉纤维的排列也更接近WT小鼠（图3A）。进一步检测纤维化相关标志蛋白collagen Ⅰ及信号分子转化生长因子-β1（transforming growth factor-beta 1，TGF-β1）发现，mdx小鼠腓肠肌中collagen Ⅰ和TGF-β1的表达量明显增加（mdx组 vs. WT组；collagen Ⅰ：F=201.369，P<0.001；TGF-β1：F=240.305，P=0.001；图3C和3D），而过表达PRMT7明显降低了collagen Ⅰ和TGF-β1的蛋白表达水平（mdx+AAV-PRMT7组 vs. mdx组；collagen Ⅰ：F=201.369，P=0.002；TGF-β1：F=240.305，P=0.004；图3C和3D）。这些结果表明，上调PRMT7可以减轻mdx小鼠腓肠肌的纤维化。

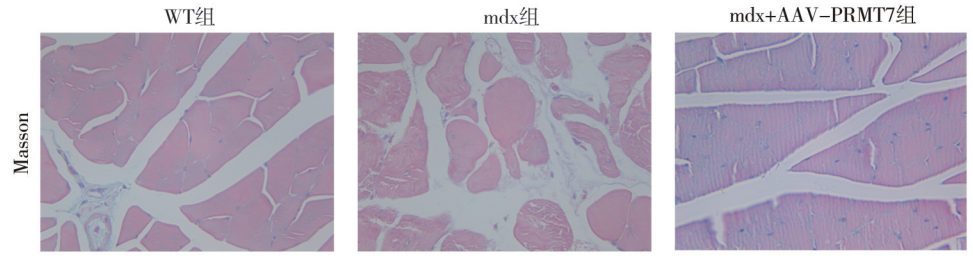
2.4 PRMT7促进mdx小鼠中PGC-1α和Nrf2表达

有研究报道，沉默PRMT7能够降低成肌细胞中PGC-1α的表达水平[9]。另外，PGC-1α能强烈诱导Nrf2表达，以维持细胞内氧化还原稳态和抑制炎症反应[10]。因此，本研究猜测PRMT7可能通过PGC-1α/Nrf2通路影响mdx小鼠肌肉病理改变。Western blot实验结果显示，上调PRMT7明显促进mdx小鼠腓肠肌中PGC-1α和Nrf2表达（mdx+AAV-PRMT7组 vs. mdx组；PGC-1α：F=31.565，P=0.038；Nrf2：F=140.761，P<0.001；图4A和4B）。Mendoza M等[11]的研究结果表明，PRMT7参与调节PGC-1α的精氨酸残基甲基化。为进一步探究PRMT7调节PGC-1α蛋白水平的机制，本研究分离培养mdx小鼠腓肠肌中的成肌细胞，并转染AAV-PRMT7或/和PGC-1α的精氨酸甲基化位点突变体R3K。免疫沉淀结

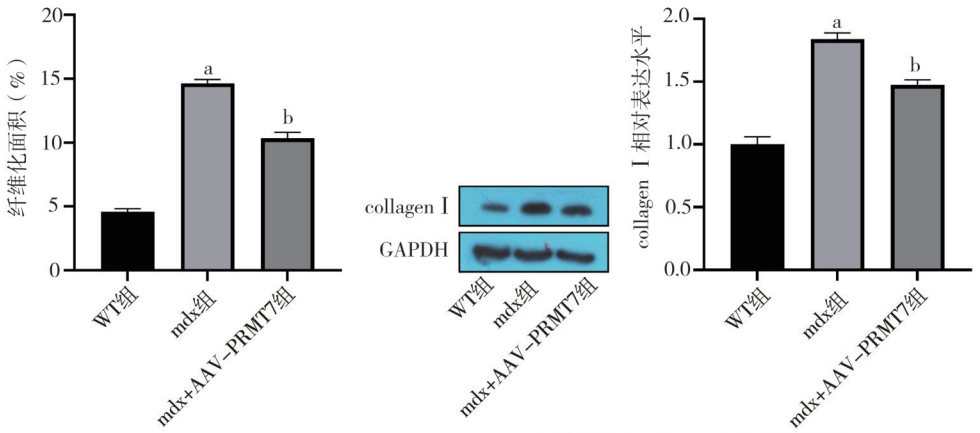


注：a，与WT组比较，P<0.05；b，与mdx组比较，P<0.05

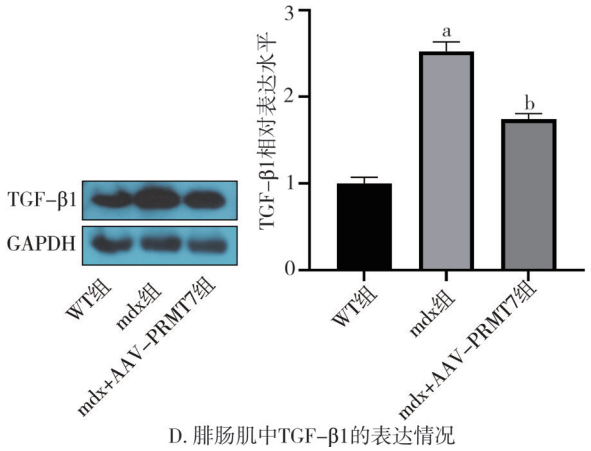
图2 上调PRMT7对mdx小鼠腓肠肌的炎症和氧化应激的影响



A. 腓肠肌切片Masson染色（200×）



B. 腓肠肌切片纤维化面积　　C. 腓肠肌中collagen Ⅰ的表达情况



D. 腓肠肌中TGF-β1的表达情况

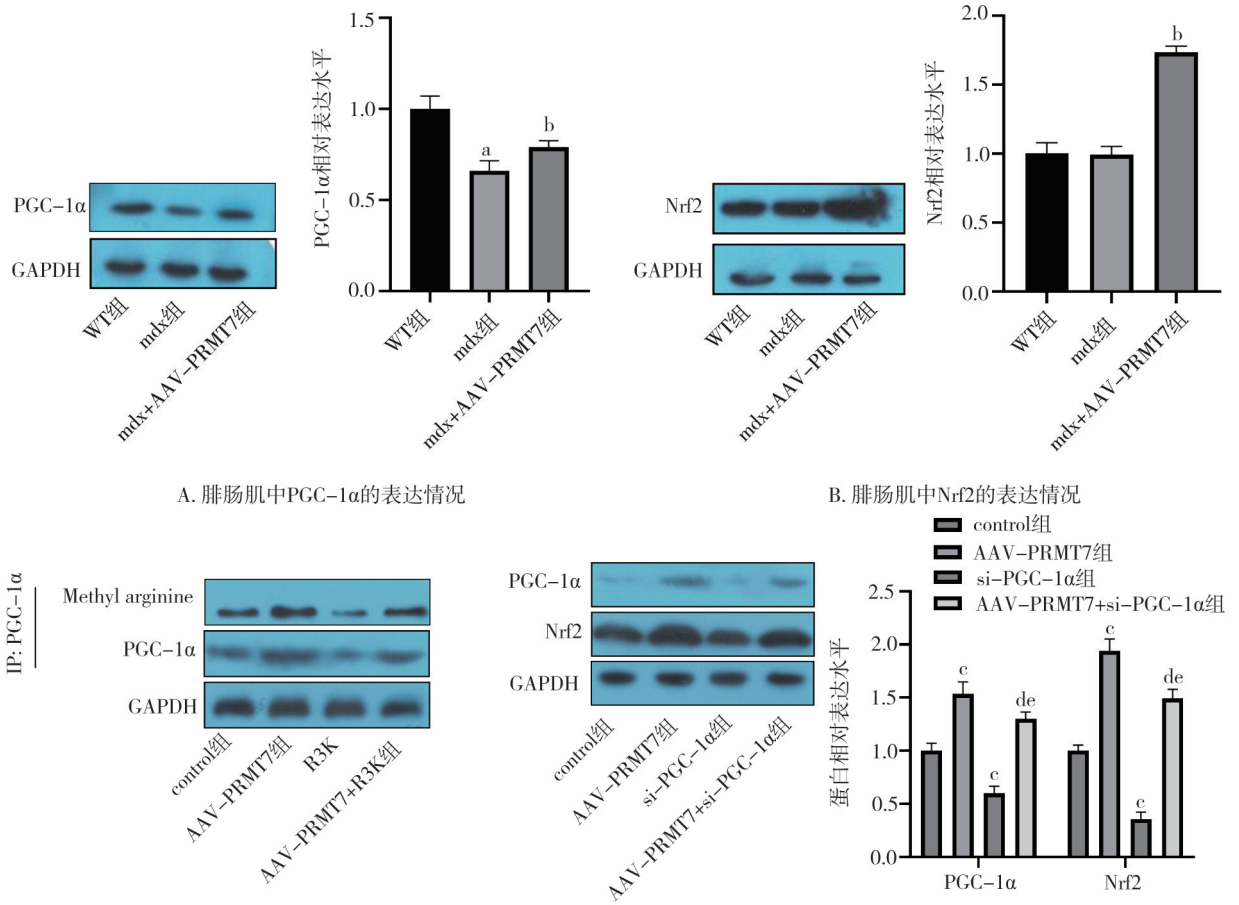
注：a，与WT组比较，$P<0.05$；b：与mdx组比较，$P<0.05$

图3　上调PRMT7对mdx小鼠腓肠肌的纤维化的影响

果显示，过表达PRMT7促进PGC-1α的精氨酸甲基化，位点突变后PGC-1α的精氨酸甲基化水平明显降低，且减弱了过表达PRMT7的作用（图4C）。此外，如图4D所示，干扰PGC-1α减弱了过表达PRMT7对PGC-1α和Nrf2蛋白水平的提升作用（AAV-PRMT7+si-PGC-1α组vs. AAV-PRMT7组，PGC-1α：$F=202.411$，$P=0.023$；Nrf2：$F=72.133$，$P=0.038$）。这些结果表明，PRMT7可能通过介导PGC-1α的精氨酸甲基化来调节PGC-1α的蛋白水平，进而影响Nrf2的表达。

2.5　PRMT7通过PGC-1α/Nrf2通路减轻mdx小鼠成肌细胞的病理特征

向成肌细胞转染AAV-PRMT7、si-PGC-1α或si-Nrf2，然后检测炎症、氧化应激和纤维化相关指标。结果显示，干扰PGC-1α或Nrf2明显提高细胞培养基中IL-1β水平（si-PGC-1α组vs. control组：$F=202.486$，$P=0.003$；si-Nrf2组vs. control组：$F=202.486$，$P=0.002$；图5A）、细胞中ROS水平（si-PGC-1α组vs. control组：$F=139.954$，$P=0.001$；si-Nrf2组vs. control组：$F=139.954$，$P=0.001$；图5B）以及细胞中collagen Ⅰ蛋白水平（si-PGC-1α组vs. control组：$F=218.068$，$P=0.003$；si-Nrf2组vs. control组：$F=218.068$，$P=0.003$；图5C）。另外，干扰PGC-1α或Nrf2逆转了过表达PRMT7对IL-1β、ROS和collagen Ⅰ水平的降低作用（AAV-PRMT7+si-PGC-1α组vs. AAV-PRMT7组；IL-1β：$F=202.486$，$P=0.044$；ROS：$F=139.954$，$P=0.003$；collagen Ⅰ：$F=218.068$，$P<0.001$。AAV-PRMT7+si-Nrf2组vs. AAV-PRMT7组；IL-1β：$F=202.486$，$P=0.003$；ROS：$F=139.954$，$P=0.002$；collagen Ⅰ：$F=218.068$，$P<0.001$；图5）。这提示，PRMT7可能通过PGC-1α/Nrf2通路改善mdx小鼠成肌细胞的病理特征。

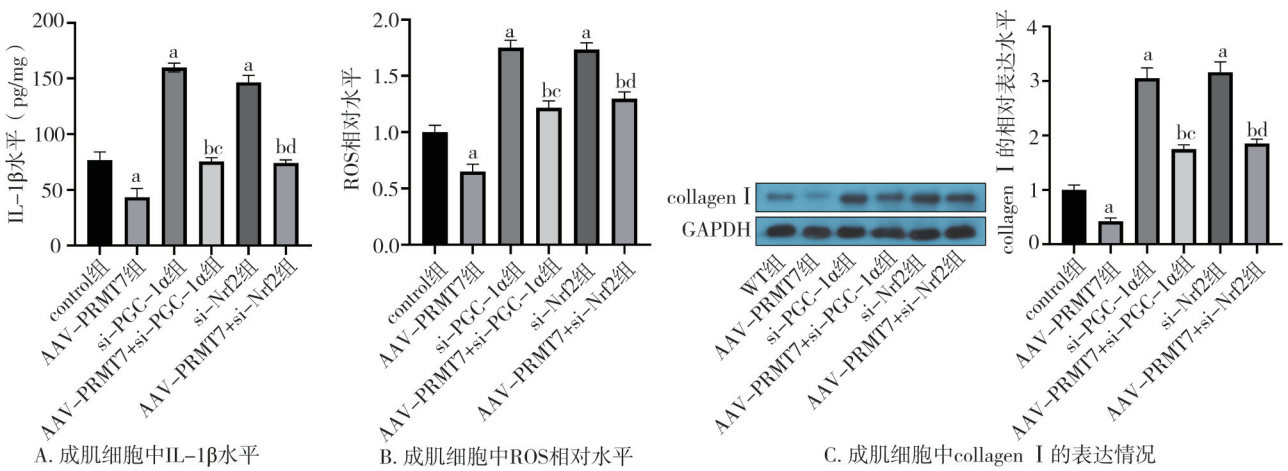


A. 腓肠肌中PGC-1α的表达情况　　B. 腓肠肌中Nrf2的表达情况

C. PGC-1α的精氨酸甲基化情况　　D. 成肌细胞中PGC-1α和Nrf2的表达情况

注：a，与WT组比较，$P<0.05$；b，与mdx组比较，$P<0.05$；c，与control组比较，$P<0.05$；d，与AAV-PRMT7组比较，$P<0.05$；e，与si-PGC-1α组比较，$P<0.05$

图4　上调PRMT7对PGC-1α/Nrf2通路的影响



A. 成肌细胞中IL-1β水平　　B. 成肌细胞中ROS相对水平　　C. 成肌细胞中collagen Ⅰ的表达情况

注：a，与control组比较，$P<0.05$；b，与AAV-PRMT7组比较，$P<0.05$；c，与si-PGC-1α组比较，$P<0.05$；d，与si-Nrf2组比较，$P<0.05$

图5　干扰PGC-1α或Nrf2对mdx小鼠成肌细胞IL-1β、ROS和collagen Ⅰ水平的影响

3　讨　论

DMD的临床体征包括骨骼肌无力、肌张力低下和肌肉萎缩等，严重情况下会影响心脏和呼吸肌，缩短患者预期寿命。但是目前DMD的治疗方法有限，既不能恢复骨骼肌功能，也不能提高患者生存率。基因疗法能够传递基因功能拷贝或修复突变

位点，AAV介导的基因转移在治疗神经肌肉疾病方面显示出巨大的前景[12]。临床数据表明，血管内AAV微肌营养不良蛋白可明显改善动物肌肉病变，增强肌肉力量，减轻营养不良性心肌病[13]。将人SERCA2a AAV9载体静脉内递送至mdx小鼠，观察到小鼠横纹肌中持续且广泛表达SERCA2a，并且小鼠的肌肉和心脏功能得到改善[14]。本研究通过尾静脉注射将PRMT7 AAV9递送到mdx小鼠体内，发现mdx小鼠腓肠肌的炎症、氧化应激以及纤维化等病理特征得到缓解，说明PRMT7可能有助于DMD的治疗。

PRMT7是PRMT Ⅲ型酶，参与调节细胞增殖、干细胞分化以及抗病毒先天免疫等多种生物过程[15]。近年的研究显示，PRMT7还参与成肌细胞分化的调节，PRMT7缺乏导致肌肉损伤时肌源性分化受损和再生能力缺陷[6]。本研究发现过表达PRMT7能够改善mdx小鼠的肌肉病理改变，这为DMD的治疗提供了新的靶点。PGC-1α是一种通用的转录共激活因子，可与各种转录因子交联调节多种生物学过程。大量研究表明，PGC-1α可能是针对神经肌肉疾病的治疗靶标，任何旨在激活PGC-1α的干预措施都可能有助于改善DMD的进展[16-17]。Nrf2是一种关键的核转录因子，有研究报道，PGC-1α/Nrf2通路的激活有助于减少氧化应激和炎症反应[18]。此外，促进Nrf2激活显示出减弱mdx小鼠肌营养不良的能力[19]。本研究结果显示，PRMT7能够提高PGC-1α和Nrf2的蛋白表达水平。挽救实验表明，PRMT7通过PGC-1α/Nrf2通路抑制mdx小鼠成肌细胞产生IL-1β、ROS和collagen I。这些结果提示，PRMT7可能通过PGC-1α/Nrf2通路来调节DMD病理特征。但为保证结论的可靠性，还需在动物实验上进一步验证PGC-1α/Nrf2通路的介导作用。

综上所述，上调PRMT7可明显减轻mdx小鼠肌肉的炎症、氧化应激和纤维化病理特征，这些作用可能是通过PGC-1α/Nrf2通路来实现的，本研究为治疗DMD提供了新的靶点和实验基础。

参 考 文 献

[1] Grounds MD, Terrill JR, Al-Mshhdani BA, et al. Biomarkers for Duchenne muscular dystrophy: myonecrosis, inflammation and oxidative stress[J]. Dis Model Mech, 2020, 13(2): 1245-1264.

[2] Kharraz Y, Guerra J, Pessina P, et al. Understanding the process of fibrosis in Duchenne muscular dystrophy[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 965631.

[3] Yao SS, Chen ZH, Yu YY, et al. Current pharmacological strategies for Duchenne muscular dystrophy[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 689533.

[4] Yonekawa T, Rauckhorst AJ, El-Hattab S, et al. *Large1* gene transfer in older *myd* mice with severe muscular dystrophy restores muscle function and greatly improves survival[J]. Sci Adv, 2022, 8(21): eabn0379.

[5] Potter RA, Griffin DA, Heller KN, et al. Dose-escalation study of systemically delivered rAAVrh74. MHCK7. micro-dystrophin in the *mdx* mouse model of Duchenne muscular dystrophy[J]. Hum Gene Ther, 2021, 32(7/8): 375-389.

[6] Jeong HJ, Lee SJ, Lee HJ, et al. Prmt7 promotes myoblast differentiation *via* methylation of p38MAPK on arginine residue 70[J]. Cell Death Differ, 2020, 27(2): 573-586.

[7] Blanc RS, Vogel G, Chen TP, et al. PRMT7 preserves satellite cell regenerative capacity[J]. Cell Rep, 2016, 14(6): 1528-1539.

[8] Yoo A, Jang YJ, Ahn J, et al. *Chrysanthemi zawadskii* var. *Latilobum* attenuates obesity-induced skeletal muscle atrophy *via* regulation of PRMTs in skeletal muscle of mice[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(8): 2811.

[9] Jeong HJ, Lee HJ, Vuong TA, et al. Prmt7 deficiency causes reduced skeletal muscle oxidative metabolism and age-related obesity[J]. Diabetes, 2016, 65(7): 1868-1882.

[10] Liang DS, Huang AR, Jin YM, et al. Protective effects of exogenous NaHS against sepsis-induced myocardial mitochondrial injury by enhancing the PGC-1α/NRF2 pathway and mitochondrial biosynthesis in mice[J]. Am J Transl Res, 2018, 10(5): 1422-1430.

[11] Mendoza M, Mendoza M, Lubrino T, et al. Arginine methylation of the PGC-1α C-terminus is temperature-dependent[J]. Biochemistry, 2023, 62(1): 22-34.

[12] Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, et al. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy[J]. N Engl J Med, 2017, 377(18): 1713-1722.

[13] Duan DS. Systemic AAV micro-dystrophin gene therapy for Duchenne muscular dystrophy[J]. Mol Ther, 2018, 26(10): 2337-2356.

[14] Wasala NB, Yue YP, Lostal W, et al. Single SERCA2a therapy ameliorated dilated cardiomyopathy for 18 months in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy[J]. Mol Ther, 2020, 28(3): 845-854.

[15] He HC, Chen JL, Zhao J, et al. PRMT7 targets of Foxm1 controls alveolar myofibroblast proliferation and differentiation during alveologenesis[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(9): 841.

[16] Suntar I, Sureda A, Belwal T, et al. Natural products, PGC-1 ***α***, and Duchenne muscular dystrophy[J]. Acta Pharm Sin B, 2020, 10(5): 734-745.

[17] Handschin C, Kobayashi YM, Chin S, et al. PGC-1alpha regulates the neuromuscular junction program and ameliorates Duchenne muscular dystrophy[J]. Genes Dev, 2007, 21(7): 770-783.

[18] Wang L, Wang XH, Kong LN, et al. Isoliquiritigenin alleviates LPS/D-GalN-induced acute liver failure by activating the PGC-1α/Nrf2 pathway to reduce oxidative stress and inflammatory response[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 100: 108159.

[19] Kourakis S, Timpani CA, de Haan JB, et al. Targeting Nrf2 for the treatment of Duchenne muscular dystrophy[J]. Redox Biol, 2021, 38: 101803.

（责任编辑：周一青）

本文引用格式：
孙思媛，蔡 娜. PRMT7在Duchenne肌营养不良小鼠肌肉炎症、氧化应激和纤维化中的作用及机制研究[J]. 重庆医科大学学报，2025，50(8)：1071-1077.