



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2023.10.014

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.10.014>

· 临床研究 ·

长链非编码 RNA 转移相关肺腺癌转录本 1 及微小 RNA-874 对气道平滑肌细胞功能改善的调控

陈璐 陈艳萍 段效军 张瑾 李林瑞 郭宽鹏

【摘要】 目的 探讨长链非编码 RNA 转移相关肺腺癌转录本 1 (lncRNA MALAT1) 与微小 RNA-874 (miR-874) 在血小板衍生因子 (PDGF)-BB 处理的气道平滑肌细胞 (ASMCs) 中的表达与功能。**方法** 采用 PDGF-BB 处理 ASMCs 建立哮喘细胞模型。将 ASMCs 分为正常培养的对照组 (Control 组)、PDGF-BB 处理的 PDGF-BB 组 [再根据处理时间分为 PDGF-BB (6 h) 组、PDGF-BB (12 h) 组、PDGF-BB (24 h) 组、PDGF-BB (24 h) 组]、PDGF-BB 处理的转染 sh-MALAT 组 (PDGF-BB + sh-MALAT 组)、PDGF-BB 处理的转染 sh-NC 组 (PDGF-BB + sh-NC 组)、PDGF-BB 处理的转染 miR-874 mimics 组 (PDGF-BB + miR-874 mimics 组)、PDGF-BB 处理的转染 miR-NC 组 (PDGF-BB + miR-NC 组)、PDGF-BB 处理的共转染 sh-NC 与 miR-NC 组 (PDGF-BB + sh-NC + miR-NC 组)、PDGF-BB 处理的共转染 sh-MALAT1 与 miR-NC 组 (PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-NC 组)、PDGF-BB 处理的共转染 sh-MALAT1 与 miR-874 inhibitor 组 (PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-874 inhibitor 组)。将 MALAT-WT 或 MALAT-MUT 序列和 miR-874 mimics 或 miR-NC 共同转染入 psi-CHECK2 荧光素酶报告载体中,并将共转染的细胞分为 miR-874 mimics + MALAT-WT 组、miR-NC + MALAT-WT 组、miR-874 mimics + MALAT-MUT 组和 miR-NC + MALAT-MUT 组。采用 RT-PCR 检测 MALAT1、miR-874 表达水平,采用 CCK-8 法检测吸光度值代表细胞增殖能力,采用 Transwell 实验计算迁移细胞数代表细胞迁移能力,采用 ELISA 试验检测 IL-1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子 (TNF)- α 水平。使用在线数据库 starbase 预测 MALAT 和 miR-874 之间的潜在结合位点,采用双荧光素酶报告系统检测各组 ASMCs 中荧光素酶活性。**结果** Control 组、PDGF-BB (6 h) 组、PDGF-BB (12 h) 组、PDGF-BB (18 h) 组及 PDGF-BB (24 h) 组细胞 MALAT1 相对水平依次升高,miR-874 相对水平依次降低 ($P < 0.05$)。与 Control 组比较,PDGF-BB 组、PDGF-BB + sh-NC 组及 PDGF-BB + sh-MALAT1 组、PDGF-BB + miR-NC 组及 PDGF-BB + miR-874 mimics 组细胞增殖能力、迁移能力及细胞上清液中 IL-1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子 (TNF)- α 水平均明显增强;与 PDGF-BB 组比较,PDGF-BB + sh-MALAT1 组及 PDGF-BB + miR-874 mimics 组细胞上述能力与指标水平均明显降低 ($P < 0.05$)。与 miR-NC + MALAT1-WT 组细胞比较,miR-874 mimics + MALAT1-WT 组细胞荧光素酶活性显著降低;与 Control 组比较,转染 sh-MALAT1 后细胞 miR-874 表达水平明显升高 ($P < 0.05$)。与 sh-NC + miR-NC 组比较,PDGF-BB + sh-NC + miR-NC 组、PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-NC 组和 PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-874 inhibitor 组细胞增殖能力与迁移能力均明显升高;与 PDGF-BB + sh-NC + miR-NC 组比较,PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-874 inhibitor 组细胞上述能力均明显降低 ($P < 0.05$)。**结论** 通过降低细胞增殖、迁移和炎症因子分泌可抑制 MALAT1/miR-874 轴表达,在 PDGF-BB 诱导的 ASMCs 中发挥保护作用。

【关键词】 长链非编码 RNA 转移相关肺腺癌转录本 1; 微小 RNA-874; 气道平滑肌细胞; 细胞增殖; 细胞迁移

[中图分类号] R392.12

[文献标识码] A

基金项目:湖南省卫生健康委员会科研计划项目(202206015321)

作者单位:410000 长沙,湖南省儿童医院呼吸内科

通讯作者:陈艳萍, E-mail: someclass00@163.com

Regulation of airway smooth muscle cells function by long non-coding RNA metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 and microRNA-874

Chen Lu, Chen Yanping, Duan Xiaojun, Zhang Jin, Li Linrui, Guo Kuanpeng. Department of Respiratory Medicine, Hunan Children's Hospital, Changsha 410000, China

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and function of long non-coding RNA metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (lncRNA MALAT1) and microRNA-874 (miR-874) in platelet-derived factor (PDGF)-BB treated airway smooth muscle cells (ASMCs). **Methods** The asthma cell model was established by treating ASMCs with PDGF-BB. ASMCs were divided into normal culture control group and PDGF-BB treated group [which were divided into PDGF-BB (6 h) group, PDGF-BB (12 h) group, PDGF-BB (24 h) group and PDGF-BB (24 h) group according to the treatment time], transfected sh-MALAT1 group with PDGF-BB treatment (PDGF-BB + sh-MALAT1 group), sh-NC group with PDGF-BB treatment (PDGF-BB + sh-NC group), miR-874 mimics group with PDGF-BB treatment (PDGF-BB + miR-874 mimics group), PDGF-BB transfected miR-NC group (PDGF-BB + miR-NC group), the combined transfection of sh-NC and miR-NC group with PDGF-BB treatment (PDGF-BB + sh-NC + miR-NC group), the combined transfection of sh-MALAT1 and miR-NC group with PDGF-BB treatment (PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-NC group) the combined transfection of sh-MALAT1 and miR-874 inhibitor group with PDGF-BB treatment (PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-874 inhibitor group). MALAT-WT or MALAT-MUT sequence and miR-874 mimics or miR-NC were co-transfected into the psi-CHECK2 luciferase reporter vector. The co-transfected cells were divided into miR-874 mimics + MALAT-WT group, miR-NC + MALAT-WT group, miR-874 mimics + MALAT-MUT group and miR-NC + MALAT-MUT group. The expression levels of MALAT1 and miR-874 were detected by RT-PCR. The absorbance value was detected by CCK-8 method, which represented the cell proliferation ability. The number of migrating cells was calculated by transwell experiment to represent the migration ability of cells. The levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α were detected by ELISA. The online database starbase was used to predict potential binding sites between MALAT and miR-874. Double luciferase reporting system was used to detect luciferase activity in ASMCs of each group. **Results** The relative level of MALAT1 in control group, PDGF-BB (6 h) group, PDGF-BB (12 h) group, PDGF-BB (18 h) group and PDGF-BB (24 h) group were increased successively, and the relative level of miR-874 were decreased successively ($P < 0.05$). Compared with control group, the proliferation and migration of cells and the levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in cell supernatant in PDGF-BB group, PDGF-BB + sh-NC group and PDGF-BB + sh-MALAT1 group, PDGF-BB + miR-NC group and PDGF-BB + miR-874 mimics group were significantly enhanced; compared with PDGF-BB group, the above abilities and indexes levels of PDGF-BB + sh-MALAT1 group and PDGF-BB + miR-874 mimics group were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with miR-NC + MALAT1-WT group, the luciferase activity in miR-874 mimics + MALAT1-WT group was significantly decreased; compared with the control group, the expression level of miR-874 in cells transfected with sh-MALAT1 was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with sh-NC + miR-NC group, cell proliferation and migration ability of PDGF-BB + sh-NC + miR-NC group, PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-NC group and PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-874 inhibitor group were significantly increased; compared with PDGF-BB + sh-NC + miR-NC group, the above ability of PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-874 inhibitor group were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Inhibition of MALAT1/miR-874 axis expression can play a protective role in PDGF-BB-induced ASMCs by reducing cell proliferation, migration and secretion of inflammatory factors.

[Key words] Long non-coding RNA metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1; MicroRNA-874; Airway smooth muscle cells; Cell proliferate; Cell migration

支气管哮喘是一种常见的慢性呼吸道炎症性疾病^[1-2]。尽管在治疗方面取得了很大进展,但哮喘仍是导致肺部疾病发病率和死亡率高的主要原因^[3]。转移相关肺腺癌转录本 1 (MALAT1) 是一种长链非编码 RNA (lncRNA), 已被报道参与多种肿瘤和疾病的发生与发展^[4]。微小 RNA (miRNA) 是长度为 18 ~ 25 个核苷酸的短链非编码内源性 RNA, 可在转录后水平调节基因表达^[5]。有研究报道, miR-874 的异常表达可能与过敏性鼻炎发展密切相关, 并参与哮喘发病过程^[6]。利用生物信息学技术预测发现, MALAT1 与 miR-874 存在靶向调节的关系, 但尚无相关研究报道。因此, 本研究通过检测血小板衍生因子-BB (PDGF-BB) 刺激下气道平滑肌细胞 (ASMCs) 中 MALAT1 和 miR-874 的表达,

明确 MALAT1/miR-874 轴在哮喘发展的过程中对 ASMCs 的增殖、迁移和炎性因子分泌的作用。

材料与方 法

1. 材料: ASMCs 购自中国科学院上海细胞库; DMEM 培养基、Transwell 小室 (8 μ m) 购自美国 Corning 公司; 胎牛血清 (FBS)、SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒均购自美国 Thermo 公司; PDGF-BB 购自美国 R&D 公司; TRIzol 试剂、Lipofectamine2000 转染试剂均购自美国 Invitrogen 公司; CCK-8 试剂盒购自美国 Sigma 公司; TaqMan microRNA 逆转录试剂盒购自美国 Applied Biosystems 公司; ELISA 试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司; miR-874 mimics、miR-874 inhibitor 及阴性对

照序列 miR-NC 和下调 MALAT1 表达的 sh-MALAT 及阴性对照序列 sh-NC、携带与 miR-874 潜在结合位点的 MALAT 野生型 (MALAT-WT) 及其突变型 (MALAT-MUT) 序列均购自广州锐博生物技术有限公司; psi-CHECK2 荧光素酶报告载体购自美国 Promega 公司; 分光光度计购自美国 Bio-Rad 公司; 双荧光素酶分析系统购自美国 Promega 公司。

2. 方法

(1) 细胞培养、转染及分组: 使用含 10% FBS 的 DMEM 培养基在 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养 ASMCs 过夜。取对数生长期 ASMCs, 按 Lipofectamine2000 转染试剂说明书方法参考文献[7]进行转染, 使用 25 ng/ml 的 PDGF-BB 处理 ASMCs, 并将 ASMCs 分为正常培养的对照组 (Control 组)、PDGF-BB 处理的 PDGF-BB 组[再根据处理时间分为 PDGF-BB (6 h) 组、PDGF-BB (12 h) 组、PDGF-BB (28 h) 组、PDGF-BB (24 h) 组]、PDGF-BB 处理的转染 sh-MALAT 组 (PDGF-BB + sh-MALAT 组)、PDGF-BB 处理的转染 sh-NC 组 (PDGF-BB + sh-NC 组)、PDGF-BB 处理的转染 miR-874 mimics 组 (PDGF-BB + miR-874 mimics 组)、PDGF-BB 处理的转染 miR-NC 组 (PDGF-BB + miR-NC 组)、PDGF-BB 处理的联合转染 sh-NC 与 miR-NC 组 (PDGF-BB + sh-NC + miR-NC 组)、PDGF-BB 处理的联合转染 sh-NC 与 miR-NC 组 (PDGF-BB + sh-NC + miR-NC 组) PDGF-BB 处理的联合转染 sh-MALAT1 与 miR-NC 组 (PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-NC 组)、PDGF-BB 处理的联合转染 sh-MALAT1 与 miR-874 inhibitor 组 (PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-874 inhibitor 组)。

(2) RT-PCR: 采用 TRIzol 法提取 ASMCs 中总 RNA, 使用 TaqMan microRNA 逆转录试剂盒合成 cDNA, 然后按照 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒说明书方法行 RT-PCR 检测 MALAT1、miR-874 表达水平。

(3) CCK-8 法: 将各组 ASMCs 在 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养 24 h 后向每孔加入 10 μl 的 CCK-8 试剂, 在分光光度计 490 nm 波长处检测每孔吸光度值代表细胞增殖能力, 每组设置 5 个复孔。

(4) Transwell 实验: 取转染后 ASMCs 按 3 × 10⁴ 个/孔接种至 Transwell 小室中, 并加入 200 μl 不含 FBS 的 DMEM 培养基进行培养, 下室为 600 μl 按方法 (3) 进行处理分组。培养 24 h 后, 4% 甲醛溶液固定 15 min, 0.4% 结晶紫染色 10 min, 选取 5 个视野在倒置显微镜下计数迁移细胞数代表细胞迁移能力。

(5) ELISA 试验: 取各组 ASMCs 的培养上清液, 按 ELISA 试剂盒说明书方法检测 IL-1β、IL-6 和肿瘤坏死因子 (TNF)-α 水平。

(6) 双荧光素酶基因报告实验: 使用在线数据库 starbase (2.0 版; <http://starbase.sysu.edu.cn>) 预测 MALAT 和 miR-874 之间的潜在结合位点。将 MALAT-WT 或 MALAT-MUT 序列和 miR-874 mimics 或 miR-NC 共同转染入 psi-CHECK2 荧光素酶报告载体中, 并将共转染的细胞分为 miR-874 mimics + MALAT-WT 组、miR-NC + MALAT-WT 组、miR-874 mimics + MALAT-MUT 组和 miR-NC + MALAT-MUT 组。培养 48 h 后, 采用双荧光素酶报告系统检测各组 ASMCs 中荧光素酶活性。

3. 统计学处理: 应用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计分析。符合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, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. 不同 PDGF-BB 处理时间组 ASMCs 中 MALAT1 与 miR-874 表达水平比较: Control 组、PDGF-BB (6 h) 组、PDGF-BB (12 h) 组、PDGF-BB (18 h) 组及 PDGF-BB (24 h) 组细胞 MALAT1 相对水平依次升高, miR-874 相对水平依次降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同 PDGF-BB 处理时间组 ASMCs 中 MALAT1 与 miR-874 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	MALAT1	miR-874
Control 组	1.00 ± 0.17	1.00 ± 0.12
PDGF-BB (6 h) 组	1.63 ± 0.24 ^a	0.73 ± 0.14 ^a
PDGF-BB (12 h) 组	2.56 ± 0.19 ^{ab}	0.56 ± 0.10 ^{ab}
PDGF-BB (18 h) 组	4.08 ± 0.36 ^{abc}	0.39 ± 0.14 ^{abc}
PDGF-BB (24 h) 组	6.47 ± 0.42 ^{abcd}	0.25 ± 0.11 ^{abcd}

注: 与 Control 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 PDGF-BB (6 h) 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 PDGF-BB (12 h) 组比较, ^c $P < 0.05$; 与 PDGF-BB (18 h) 组比较, ^d $P < 0.05$

2. 下调 LncRNA MALAT1 表达对 ASMCs 增殖与迁移能力和炎症因子水平的影响: 与 Control 组 (1.00 ± 0.14) 比较, PDGF-BB + sh-MALAT1 组 (0.27 ± 0.08) 细胞 MALAT1 表达水平降低 ($P < 0.01$), 但 PDGF-BB + sh-NC 组 (0.94 ± 0.18) 细胞 MALAT1 表达水平无明显变化 ($P > 0.05$)。与 Control 组比较, PDGF-BB 组、PDGF-BB + sh-NC 组和 PDGF-BB + sh-MALAT1 组细胞增殖能力、迁移能力和细胞上清液中 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 水平均明显增强; 与 PDGF-BB 组比较, PDGF-BB + sh-MALAT1 组细胞上述能力与指标水平均明显降低 ($P < 0.05$), PDGF-BB + sh-NC 组无明显改变 ($P > 0.05$)。见表 2。

3. 过表达 miR-874 对 ASMCs 增殖与迁移能力和炎症因子水平的影响: 与 Control 组 (1.00 ± 0.08) 比

表 2 各组 ASMCs 增殖与迁移能力和炎症因子水平的影响

($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	增殖能力 (%)	迁移能力 (个)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
Control 组	100.0 \pm 0.0	33.6 \pm 7.5	1.9 \pm 0.7	255.2 \pm 44.3	12.0 \pm 1.2
PDGF-BB 组	166.7 \pm 15.0 ^a	133.9 \pm 19.5 ^a	7.0 \pm 1.2 ^a	719.8 \pm 115.3 ^a	28.3 \pm 2.5 ^a
PDGF-BB + sh-NC 组	170.3 \pm 13.3 ^a	128.1 \pm 21.2 ^a	6.8 \pm 1.4 ^a	707.4 \pm 136.1 ^a	30.2 \pm 2.2 ^a
PDGF-BB + sh-MALAT1 组	129.2 \pm 12.5 ^{ab}	79.8 \pm 10.0 ^{ab}	3.9 \pm 0.7 ^{ab}	525.8 \pm 94.3 ^{ab}	17.5 \pm 3.1 ^{ab}

注:与 Control 组比较,^a $P < 0.05$;与 PDGF-BB 组比较,^b $P < 0.05$

较,PDGF-BB + miR-874 mimics 组(4.17 \pm 0.28)细胞 miR-874 表达水平明显升高($P < 0.01$),PDGF-BB + miR-NC 组(0.89 \pm 0.15)细胞 miR-874 表达水平无明显变化($P > 0.05$)。与 Control 组比较,PDGF-BB 组、PDGF-BB + miR-NC 组和 PDGF-BB + miR-874 mimics 组细胞增殖能力、迁移能力和细胞上清液中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平均明显升高;与 PDGF-BB 组比较,PDGF-BB + miR-874 mimics 组细胞上述能力与指标水平均明显降低($P < 0.05$),PDGF-BB + miR-NC 组无明显变化($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 各组 ASMCs 增殖与迁移能力和炎症因子水平的影响

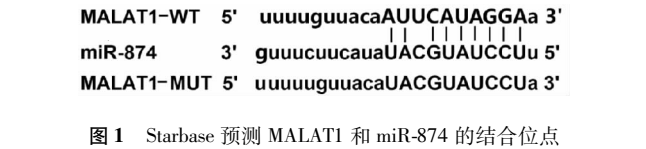
($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	增殖能力 (%)	迁移能力 (个)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
Control 组	100.0 \pm 0.0	27.9 \pm 10.1	2.1 \pm 0.1	248.9 \pm 62.4	10.6 \pm 1.3
PDGF-BB 组	172.1 \pm 23.4 ^a	129.2 \pm 22.6 ^a	6.9 \pm 1.7 ^a	809.4 \pm 134.6 ^a	29.7 \pm 1.9 ^a
PDGF-BB + miR-NC 组	168.1 \pm 19.3 ^a	132.3 \pm 18.7 ^a	6.7 \pm 1.5 ^a	762.8 \pm 127.2 ^a	31.1 \pm 2.0 ^a
PDGF-BB + miR-874 mimics 组	134.6 \pm 16.7 ^{ab}	104.7 \pm 16.5 ^{ab}	4.1 \pm 1.0 ^{ab}	582.8 \pm 109.3 ^{ab}	20.1 \pm 2.3 ^{ab}

注:与 Control 组比较,^a $P < 0.05$;与 PDGF-BB 组比较,^b $P < 0.05$

4. MALAT1 与 miR-874 的调控关系:在线数据库 Starbase 预测结果显示,MALAT1 和 miR-874 之间存在潜在结合位点。见图 1。双荧光素酶基因报告实验结果表明,与 miR-NC + MALAT1-WT 组细胞(1.03 \pm 0.09)比较,miR-874 mimics + MALAT1-WT 组细胞(0.31 \pm 0.08)荧光素酶活性显著降低($P < 0.05$),但 miR-NC + MALAT1-MUT 组(1.07 \pm 0.06)和 miR-874 mimics + MALAT1-WT 组(0.97 \pm 0.04)细胞荧光素酶活性改变无统计学意义($P > 0.05$)。与 Control 组(1.02 \pm 0.10)比较,转染 sh-MALAT1 后细胞 miR-874 表达水平(3.62 \pm 0.26)明显升高($P < 0.01$),转染 sh-NC 后细胞 miR-874 表达水平(0.93 \pm 0.11)比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

5. MALAT1/miR-874 轴对 ASMCs 增殖与迁移能力的影响:与 sh-NC + miR-NC 组比较,PDGF-BB + sh-NC + miR-NC 组、PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-NC 组



和 PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-874 inhibitor 组细胞增殖能力与迁移能力均明显升高;与 PDGF-BB + sh-NC + miR-NC 组比较,PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-874 inhibitor 组细胞上述能力均明显降低($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 各组 ASMCs 增殖能力和迁移能力比较($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	增殖能力 (%)	迁移能力 (个)
sh-NC + miR-NC 组	100.00 \pm 0.00	30.78 \pm 6.25
PDGF-BB + sh-NC + miR-NC 组	181.42 \pm 17.65 ^a	121.43 \pm 11.70 ^a
PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-NC 组	129.71 \pm 12.01 ^a	57.29 \pm 10.38 ^a
PDGF-BB + sh-MALAT1 + miR-874 inhibitor 组	148.63 \pm 15.28 ^{ab}	91.04 \pm 12.19 ^{ab}

注:与 sh-NC + miR-NC 组比较,^a $P < 0.05$;与 PDGF-BB + sh-NC + miR-NC 组比较,^b $P < 0.05$

讨 论

ASMCs 的异常增殖和迁移在哮喘的发病机制中具有重要作用^[8]。PDGF-BB 能诱导 ASMCs 增殖和迁移,常用 PDGF-BB 诱导 ASMCs 增殖和迁移作为体外研究哮喘中 ASMCs 功能障碍的细胞模型^[4]。MALAT1 是一种进化上高度保守且广泛表达的 lncRNA,可参与调控多种生理病理过程^[9]。在脂多糖诱导的急性肺损伤模型中,MALAT1 可通过靶向调控 miR-149 的表达,上调肺上皮细胞中细胞核因子- κ B (NF- κ B) 途径的活化水平,从而促进髓样分化因子 88 的表达和炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的分泌^[10]。在慢性阻塞性肺疾病中,MALAT1 在患者肺组织中的表达异常升高,抑制 MALAT1 可促进肺成纤维细胞的增殖并降低促纤维化细胞因子如纤维连接蛋白和 α -平滑肌肌动蛋白的表达^[11]。而在哮喘的发病过程中,MALAT1 的具体作用尚处在探究中。Huang 等^[12]在哮喘患者血清样本中发现 MALAT1 上调,miR-216a 下调,抑制 MALAT1 可增加 miR-216a 的表达,并削弱 ASMCs 的增殖与迁移能力。本研究结果显示,PDGF-BB 可促进 ASMCs 中 MALAT1 表达上调,而 miR-874 表达被抑制,进一步的实验结果显示,下调 MALAT1 或过表达 miR-874 均能抑制 PDGF-BB 作用下 ASMCs 增殖和迁移能力的升高,并降低细胞对炎症因子 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 的释放。这与既往研究结果一致,均表明下调 MALAT1 的表达水平可抑制 ASMCs 增殖、迁移和炎症反应。

在哮喘中,TNF- α 可显著下调胎儿气道平滑肌细



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2023.10.015

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.10.015

· 论著摘要 ·

痛风急性发作期高尿酸血症与尿酸水平正常的临床特点对比研究

王辉 曾昊 吴奇平 张志宏 王万明 孙效棠

[关键词] 高尿酸血症; 痛风; 急性发作; 骨科; 围手术期

[中图分类号] R659;R589.7

[文献标识码] A

痛风是因体内嘌呤代谢紊乱,尿酸生成增多或排出减少,引起单钠尿酸盐在关节腔、筋膜、肾脏等组织器官沉积并诱发组织炎症反应的一类疾病^[1],临床分期可分为无症状高尿酸血症期、痛风性关节炎期、痛风发作间歇期、慢性痛风性关节炎期和肾脏病变期^[2]。文献报道在创伤、手术、心理等应激因素作用下,可诱发痛风急性发作^[3],而急性发作诊断主要依据典型

临床表现及血液学检测尿酸水平高于正常,但仍有 11%~49% 患者在痛风急性发作期血尿酸水平保持正常^[4]。本研究旨在对比研究痛风急性发作期高尿酸血症与尿酸水平正常患者的临床特点,以指导疾病的预防、诊断及治疗。

对象与方法

1. 对象:选取 2018 年 1 月~2020 年 12 月在我院骨科住院期间出现痛风急性发作患者 64 例,其中男 55 例、女 9 例,年龄 16~75 岁,平均年龄(53.73±14.55)岁。纳入标准:(1)均符合 2015 年美国风湿学会/欧洲抗风湿联盟痛风分类标准^[5],发作部位均行肌骨超声证实滑膜或软骨至少存在下列任一阳性征象:①可见尿酸盐结晶,存在痛风石、双轨征;②相比对侧滑膜明显增厚;③软骨表面存在凹陷缺损侵袭表现;(2)诱发因素为

基金项目:福建医科大学启航基金(2019QH1288)

作者单位:350025 福州,联勤保障部队第九〇〇医院骨二科(王辉、张志宏、王万明、孙效棠);福建医科大学福总临床医学院(王辉、曾昊、吴奇平)

通讯作者:孙效棠, E-mail: sunxiaotang900@163.com

胞中 miR-874 的表达,并抑制细胞增殖、迁移和平滑肌细胞的重塑。这提示 miR-874 参与哮喘发病过程,并能对 ASMCs 功能发挥保护作用。本研究结果也表明过表达 miR-874 可抑制 ASMCs 增殖、迁移和炎症反应。同时,本研究采用生物学信息预测发现, MALAT1 与 miR-874 存在靶向关系,双荧光素酶基因报告实验结果与 RT-PCR 检测结果也证实了两者的调控关系。此外,在 ASMCs 的生物学行为中也表明,抑制 miR-874 表达部分抵消了下调 MALAT1 对 PDGF-BB 诱导的 ASMCs 功能的保护作用。这表明 MALAT1 与 miR-874 的相互作用影响哮喘发病中 ASMCs 的功能改变。

综上所述,本研究结果表明抑制 MALAT1/miR-874 轴表达可通过降低细胞增殖、迁移和炎症因子分泌在 PDGF-BB 诱导的 ASMCs 中发挥保护作用。

参 考 文 献

- [1] 申海霁,张杰,陈艳艳,等. 支气管哮喘合并阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者的临床特点分析[J]. 临床内科杂志, 2021, 38(1):44-46.
- [2] 许欣婷,张瑶,李娜,等. 支气管哮喘患者外周肝肝 X 受体、Periostin 及蛋白磷酸酶 1A 表达与气道重塑的关系[J]. 临床内科杂志, 2021, 38(2):113-116.
- [3] Agache I, Eguiluz-Gracia I, Cojanu C, et al. Advances and highlights in

asthma in 2021[J]. Allergy, 2021, 76(11):3390-3407.

- [4] Malakoti F, Targhazeh N, Karimzadeh H, et al. Multiple function of lncRNA MALAT1 in cancer occurrence and progression[J]. Chem Biol Drug Des, 2023, 101(5):1113-1137.
- [5] Lu TX, Rothenberg ME. MicroRNA[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141(4):1202-1207.
- [6] Suojalehto H, Lindström I, Majuriml, et al. Altered microRNA expression of nasal mucosa in long-term asthma and allergic rhinitis[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2014, 163(3):168-178.
- [7] Naveed SU, Clements D, Jackson DJ, et al. Matrix metalloproteinase-1 activation contributes to airway smooth muscle growth and asthma severity[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 195(8):1000-1009.
- [8] Camoretti-Mercado B, Lockey RF. Airway smooth muscle pathophysiology in asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2021, 147(6):1983-1995.
- [9] Lei L, Chen J, Huang J, et al. Functions and regulatory mechanisms of metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1[J]. J Cell Physiol, 2018, 234(1):134-151.
- [10] Liang WJ, Zeng XY, Jiang SL, et al. Long non-coding RNA MALAT1 sponges miR-149 to promote inflammatory responses of LPS-induced acute lung injury by targeting MyD88[J]. Cell Biol Int, 2020, 44(1):317-326.
- [11] Hu TJ, Huang HB, Shen HB, et al. Role of long non-coding RNA MALAT1 in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Exp Ther Med, 2020, 20(3):2691-2697.
- [12] Huang J, Wang FH, Wang L, et al. LncRNA MALAT1 promotes proliferation and migration of airway smooth muscle cells in asthma by downregulating microRNA-216a[J]. Saudi J Biol Sci, 2021, 28(8):4124-4131.

(收稿日期:2023-03-01)

(本文编辑:余晓曼)