

引用本文:曾胜,陈佳汝,张荣,等.微小RNA-216b-5p对骨肉瘤MG63细胞功能的影响及其与高迁移率族蛋白B1的靶向关系[J].安徽医药,2021,25(8):1605-1609.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.08.031.

◇临床医学◇



微小RNA-216b-5p对骨肉瘤MG63细胞功能的影响及其与高迁移率族蛋白B1的靶向关系

曾胜,陈佳汝,张荣,路鹏飞

作者单位:重庆市长寿区人民医院骨一科,重庆401220

摘要: **目的** 探讨微小RNA-216b-5p(miR-216b-5p)对骨肉瘤MG63细胞增殖、侵袭和凋亡的影响及其与高迁移率族蛋白B1(HMGB1)的靶向关系。**方法** 将体外培养的MG63细胞分为mimics-NC组、miR-216b-5p mimics组、inhibitor-NC组和miR-216b-5p inhibitor组,采用实时荧光定量PCR检测miR-216b-5p的表达,MTT法、Transwell小室和流式细胞仪分别检测细胞增殖、侵袭和凋亡能力。采用双荧光素酶报告基因实验检测miR-216b-5p和HMGB1的靶向关系,蛋白质印迹法(Western blotting)检测HMGB1蛋白的表达。**结果** 与mimics-NC组相比,miR-216b-5p mimics组细胞中miR-216b-5p的表达水平 $[(5.36 \pm 0.54) \text{比} (1.00 \pm 0.11)]$ 和细胞凋亡率 $[(20.36 \pm 3.15)\% \text{比} (8.58 \pm 1.22)\%]$ 明显升高,而细胞增殖活力、侵袭能力和细胞中HMGB1蛋白的表达水平均明显降低($P < 0.05$);miR-216b-5p inhibitor组细胞中miR-216b-5p的表达水平 $[(0.24 \pm 0.03) \text{比} (0.96 \pm 0.08)]$ 和细胞凋亡率 $[(2.05 \pm 0.38) \text{比} (9.27 \pm 1.16)]$ 较inhibitor-NC组明显降低,而细胞增殖活力、侵袭能力和HMGB1蛋白的表达水平较inhibitor-NC组均明显升高($P < 0.05$)。双荧光素酶报告基因实验证实HMGB1是miR-216b-5p的靶基因。**结论** miR-216b-5p可能通过靶向调控HMGB1表达,抑制骨肉瘤MG63细胞增殖、侵袭并诱导细胞凋亡。

关键词: 骨肉瘤; 微小RNA-216b-5p; 细胞增殖; 细胞侵袭; 细胞凋亡; 高迁移率族蛋白B1

Effect of miR-216b-5p on the function of osteosarcoma MG63 cells and its targeting relationship with HMGB1

ZENG Sheng, CHEN Jiaru, ZHANG Rong, LU Pengfei

Author Affiliation: Bone First Section, Chongqing Changshou District People's Hospital. Chongqing 401220, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of miR-216b-5p on proliferation, invasion and apoptosis of osteosarcoma MG63 cells and its targeting relationship with HMGB1. **Methods** The MG63 cells cultured in vitro were divided into mimics-NC group, miR-216b-5p mimics group, inhibitor-NC group and miR-216b-5p inhibitor group. The expression of miR-216b-5p was detected by real-time fluorescent quantitative PCR. The cell proliferation activity, cell invasion ability and apoptosis ability were measured by MTT, Transwell chamber and flow cytometry separately. The targeting relationship between miR-216b-5p and HMGB1 was detected by the dual luciferase reporter gene assay, and the expression of HMGB1 protein was detected by Western blot. **Results** Compared with the mimics-NC group, the expression level $[(5.36 \pm 0.54) \text{ vs. } (1.00 \pm 0.11)]$ of miR-216b-5p and apoptotic rate $[(20.36 \pm 3.15)\% \text{ vs. } (8.58 \pm 1.22)\%]$ were significantly increased in the miR-216b-5p mimics group, while the cell proliferation activity, invasion ability and expression level of HMGB1 protein in the cells were significantly decreased ($P < 0.05$); the expression level $[(0.24 \pm 0.03) \text{ vs. } (0.96 \pm 0.08)]$ of miR-216b-5p and apoptotic rate $[(2.05 \pm 0.38) \text{ vs. } (9.27 \pm 1.16)]$ in miR-216b-5p inhibitor group were significantly lower than that in inhibitor-NC group, and the cell proliferation activity, invasion ability and expression level of HMGB1 protein were significantly higher than that of inhibitor-NC group ($P < 0.05$). The dual luciferase reporter gene assay confirmed that HMGB1 was the target gene of miR-216b-5p. **Conclusion** miR-216b-5p can inhibit the proliferation and invasion of osteosarcoma MG63 cells, and its mechanism may be related to the targeted regulation of HMGB1 expression.

Key words: Osteosarcoma; miR-216b-5p; Cell proliferation; Invasion; Apoptosis; HMGB1

骨肉瘤是一种多发于儿童或青少年的恶性肿瘤,目前其预后效果并不理想,而快速的肺部转移是导致骨肉瘤高死亡的重要原因^[1-2];因此,深入探讨骨肉瘤发生发展的分子机制对更精准更好的治疗骨肉瘤具有重要意义。微小RNA(microRNA,

miRNA)是一类短小的非编码RNA,可在转录后水平调控基因的表达,通过调节癌细胞的生物学行为(增殖、凋亡、侵袭等),参与多种肿瘤的病理进程,包括骨肉瘤^[3-5]。MiR-216b-5p是miR-216家族成员,在胰腺癌、肾癌和宫颈癌等呈现较低水平,显示出

抗癌活性^[6-8]。然而,miR-216b-5p在骨肉瘤中的详细功能及机制尚未完全阐明。因此,本研究自2019年1-7月观察miR-216b-5p在骨肉瘤MG63细胞增殖、侵袭和凋亡中的作用与机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 Transwell小室购于美国Corning公司,1640培养基、胎牛血清、胰蛋白酶、Lipofectamine 3000和Trizol试剂购于美国Life technology公司,二甲基亚砷和MTT试剂购于美国Sigma公司,Matrigel基质胶购于美国BD公司,miR-216b-5p mimics、miR-216b-5p inhibitor及其相应阴性对照mimics-NC、inhibitor-NC购于上海GenePharma公司。双荧光素酶报告基因系统检测试剂盒购于美国Invitrogen公司,细胞凋亡检测试剂盒、逆转录试剂盒和BCA蛋白检测试剂盒购于上海碧云天公司。兔抗人高迁移率族蛋白B1(HMGB1)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体购于美国Santa Cruz公司。二氧化碳细胞培养箱和NanoDrop2000c紫外分光光度计购于美国Thermo Scientific公司,DM4000B正立显微镜购于德国Leica公司,CFX96实时荧光定量PCR仪购于美国Bio-Rad公司,DTX880酶标仪购于美国Beckman Coulter公司,Tanon-6600凝胶成像仪购于上海天能公司。

1.2 细胞培养、分组与转染 人骨肉瘤细胞系MG63购于中科院上海细胞库,培养箱条件为饱和湿度、37℃、5%二氧化碳,培养基为RPMI-1640培养基(含100 U/mL青-链霉素双抗和10%胎牛血清)。实验分组为mimics-NC组(转染mimics-NC)、miR-216b-5p mimics组(转染miR-216b-5p mimics)、inhibitor-NC组(转染inhibitor-NC)和miR-216b-5p inhibitor组(转染miR-216b-5p inhibitor)。在6孔细胞板上接种MG63细胞(对数生长期),待其融合至70%以上时,遵循Lipofectamine 3000操作说明进行各实验分组的转染。等待5 h后更换新鲜培养液,继续保持48 h。收集MG63细胞进行后续测定。

1.3 实时荧光定量PCR检测miR-216b-5p的表达 MG63细胞的总RNA以Trizol法提取,浓度与纯度采用紫外分光光度计测量。参照逆转录试剂盒说明书将RNA进行逆转录。以逆转录产物cDNA(1 μL)为模板,加入5 μL 2×SYBR Green PCR Master Mix、各1 μL正反引物,补加去离子水制成10 μL PCR反应体系。PCR反应条件如下:(1)预变性阶段:95℃ 6 min;(2)循环阶段:95℃ 30 s、55℃ 30 s、72℃ 30 s,共40个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法检测MG63细胞中miR-216b-5p相对于内参U6的表达水平。

1.4 MTT法检测细胞增殖 96孔细胞板上接种

MG63细胞(对数生长期), 10^4 个/孔,待其汇合度达70%时,按照1.2中进行分组处理,每组设置6个复孔。分别在转染第1、2和3天以20 μL MTT试剂(5 g/L)孵育4 h,150 μL二甲基亚砷溶解结晶,10 min后在酶标仪测量450 nm波长处MG63细胞的吸光度值。

1.5 Transwell小室检测细胞侵袭 24孔细胞板上接种MG63细胞(对数生长期), 10^6 个/孔,待其汇合度达70%时,按照1.2中进行分组并转染。48 h后,用无血清培养基将各组细胞浓度稀释为 10^4 个/毫升。将100 μL无血清培养基稀释的Matrigel基质胶室温下对Transwell小室(置于24孔板内)聚碳酸酯膜进行包被。次日,将小室上室内加入200 μL细胞液,并在小室下室内加入600 μL含血清RPMI-1640培养基。常规培养24 h后,棉签擦除上室内残留的MG63细胞,下室细胞分别采用4%多聚甲醛进行固定和0.1%结晶紫进行染色。清洗晾干后,显微镜下统计每组穿膜MG63细胞数,以3个随机选取视野细胞数的均值表示细胞的侵袭能力。

1.6 流式细胞仪检测细胞凋亡 收集转染48 h后的mimics-NC组、miR-216b-5p mimics组、inhibitor-NC组和miR-216b-5p inhibitor组细胞,经磷酸缓冲液漂洗后,加入600 μL结合缓冲液调整细胞浓度。取细胞悬液100 μL(含 10^5 个细胞),加入5 μL Annexin-V-FITC和5 μL PI,混匀后避光反应15 min。补加上样缓冲液200 μL后,1 h内流式细胞仪检测。

1.7 双荧光素酶报告基因实验检测miR-216b-5p和HMGB1的靶向关系 将含miR-216b-5p互补位点的野生型(WT)HMGB1 3'UTR片段克隆到psiCHECK-2荧光素酶载体上,构建HMGB1-WT,另外将miR-216b-5p与HMGB1 3'UTR结合的位点进行定点突变,将其克隆到psiCHECK-2荧光素酶载体上,构建突变型(MUT)报告基因质粒HMGB1-MUT。将构建HMGB1-WT、HMGB1-MUT质粒参照Lipofectamine 3000说明书分别同mimics-NC、miR-216b-5p mimics、inhibitor-NC和miR-216b-5p inhibitor共转染至MG63细胞中。待转染48 h后,胰酶消化收集各组MG63细胞,通过双荧光素酶报告基因系统检测试剂盒检测荧光素酶活性。

1.8 蛋白质印迹法(Western blotting)检测HMGB1蛋白的表达 胰酶消化收集转染48 h后的mimics-NC组、miR-216b-5p mimics组、inhibitor-NC组和miR-216b-5p inhibitor组细胞,加入细胞裂解液提取MG63细胞总蛋白后,通过BCA法测量蛋白的浓度。将热变性后的蛋白样品(80 μg)行SDS-PAEG和转PVDF膜。将5%脱脂奶粉中封闭1 h后

的PVDF膜于4℃下与HMGB1、GAPDH一抗(均为1:1 000稀释)工作液孵育,12 h后于室温与二抗(辣根过氧化物酶标记的IgG;1:2 000)工作液孵育,1 h后经化学发光剂显影,在凝胶成像系统中扫描,分析HMGB1蛋白相对于GAPDH的表达。

1.9 统计学方法 每个实验均重复3次,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS22.0进行统计学分析,多组间比较使用单因素方差分析,组间多重比较采用SNK-*q*, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-216b-5p在各组骨肉瘤MG63细胞中的表达 转染miR-216b-5p mimics后MG63细胞中miR-216b-5p的表达水平较mimics-NC组明显升高[(5.36±0.54)比(1.00±0.11), $F = 633.585$, $P < 0.05$];而转染miR-216b-5p inhibitor后miR-216b-5p的表达水平较inhibitor-NC组明显降低[(0.24±0.03)比(0.96±0.08), $P < 0.05$]。

2.2 miR-216b-5p对骨肉瘤MG63细胞增殖的影响 从1 d开始miR-216b-5p mimics组细胞的增殖活力明显低于mimics-NC组($P < 0.05$),而miR-216b-5p inhibitor组细胞的增殖活力明显高于inhibitor-NC组($P < 0.05$)。见表1。

表1 miR-216b-5p对骨肉瘤MG63细胞吸光度值比较 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	1 d	2 d	3 d
mimics-NC	3	0.52±0.03	0.92±0.06	1.42±0.23
miR-216b-5p mimics	3	0.37±0.02 ^①	0.68±0.04 ^①	0.98±0.06 ^①
inhibitor-NC	3	0.50±0.03	0.89±0.05	1.45±0.25
miR-216b-5p inhibitor	3	0.76±0.05 ^②	1.25±0.11 ^②	1.86±0.32 ^②
<i>F</i> 值		202.404	100.909	21.023
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:①与mimics-NC组相比, $P < 0.05$;②与inhibitor-NC组相比, $P < 0.05$ 。

2.3 miR-216b-5p对骨肉瘤MG63细胞侵袭的影响 miR-216b-5p mimics组细胞的侵袭能力较mimics-NC组明显降低($P < 0.05$);而miR-216b-5p inhibitor组细胞的侵袭能力较inhibitor-NC组明显升高($P < 0.05$)。见表2。

2.4 miR-216b-5p对骨肉瘤MG63细胞凋亡的影响 miR-216b-5p mimics组细胞凋亡率比mimics-NC组明显升高($P < 0.05$);而miR-216b-5p inhibitor组细胞凋亡率较inhibitor-NC组明显降低($P < 0.05$)。见表2。

2.5 miR-216b-5p和HMGB1靶向关系的验证 HMGB1 3' UTR与miR-216b-5p的结合位点采用Targetscan软件预测,见表3。与相应对照相比,

表2 miR-216b-5p对骨肉瘤MG63细胞侵袭和凋亡能力的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	侵袭细胞数	凋亡率/%
mimics-NC	3	118.52±11.28	8.58±1.22
miR-216b-5p mimics	3	65.85±4.50 ^①	20.36±3.15 ^①
inhibitor-NC	3	106.76±13.45	9.27±1.16
miR-216b-5p inhibitor	3	179.48±15.26 ^②	2.05±0.38 ^②
<i>F</i> 值		141.658	160.979
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注:①与mimics-NC组相比, $P < 0.05$;②与inhibitor-NC组相比, $P < 0.05$ 。

miR-216b-5p mimics可使转染HMGB1-WT质粒的MG63细胞的荧光素酶活性降低,且miR-216b-5p inhibitor可使转染HMGB1-WT质粒的MG63细胞的荧光素酶活性升高($P < 0.05$);但miR-216b-5p对转染HMGB1-MUT质粒的MG63细胞的荧光素酶活性无显著影响($P > 0.05$)。见表4。

表3 高迁移率族蛋白B1(HMGB1) 3' UTR与miR-216b-5p互补结合位点

基因	互补核苷酸序列	组合位置
HMGB1	5'...ACUUAUUUUGA-CAUGAGAGAUUA...3'	4026-4033 of HMGB1 3' UTR
miR-216b-5p	3'...AGUGUAAACGGAC-GUCUCUAAA...5'	

表4 各组可使转染HMGB1-WT质粒的MG63细胞荧光素酶活性 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	HMGB1-WT	HMGB1-MUT
mimics-NC	3	1.00±0.11	1.00±0.06
miR-216b-5p mimics	3	0.33±0.02 ^①	1.02±0.07
inhibitor-NC	3	1.05±0.09	0.94±0.07
miR-216b-5p inhibitor	3	3.64±0.36 ^②	0.95±0.08
<i>F</i> 值		511.390	2.712
<i>P</i> 值		0.000	0.061

注:①与mimics-NC组相比, $P < 0.05$;②与inhibitor-NC组相比, $P < 0.05$ 。

2.6 miR-216b-5p对骨肉瘤MG63细胞中HMGB1蛋白的表达 与mimics-NC组相比,miR-216b-5p mimics组细胞中HMGB1蛋白的表达水平明显降低[(0.31±0.03)比(0.56±0.04), $P < 0.05$];而miR-216b-5p inhibitor组细胞中HMGB1蛋白的表达水平比inhibitor-NC组明显升高[(0.89±0.07)比(0.58±0.05), $F = 205.212$, $P < 0.05$]。

3 讨论

miRNAs与骨肉瘤的发生发展有着千丝万缕的

联系,miRNAs 充当促癌或抑癌基因在骨肉瘤发病进程中扮演重要角色^[9-11]。抑癌基因 miR-216b-5p 与肿瘤有关,如:Yu 等^[6]观察到 miR-216b-5p 水平在胰腺癌组织中异常降低,而 miR-216b-5p 过表达可通过靶向调控 TPT1 抑制胰腺癌细胞增殖,诱导细胞周期停滞和细胞凋亡。董道全^[7]在 41 对肾癌组织中发现 miR-216b-5p 的表达水平低于正常组织的 7.066 倍,而上调 miR-216b-5p 可明显抑制肾癌细胞增殖与迁移,并促进细胞凋亡。此外,He 等^[12]研究发现 miR-216b-5p 低表达还是 Linc00518 高表达促进前列腺癌紫杉醇抗药性的重要机制。为了探讨 miR-216b-5p 在骨肉瘤中的作用,本研究通过通过转染 miR-216b-5p mimics 和 miR-216b-5p inhibitor 上调和下调 miR-216b-5p 表达,通过常规生物学手段检测 miR-216b-5p 对骨肉瘤 MG63 细胞增殖、侵袭和凋亡的影响。结果上调 miR-216b-5p 表达可抑制 MG63 细胞增殖、侵袭。该结果与 Xie 等^[13]研究发现的 miR-216b-5p 的表达升高是长链非编码 RNA TTTY15 低表达抑制骨肉瘤 MG63 细胞活力和侵袭的重要机制相吻合。此外,上调 miR-216b-5p 表达还可诱导 MG63 细胞凋亡,而下调 miR-216b-5p 表达时结果相反。这提示 miR-216b-5p 是骨肉瘤的抑癌基因。

HMGB1 是一种细胞内典型的非组蛋白,可通过调控 DNA 修复、基因转录和细胞外信号转导等在肝癌、乳腺癌和结肠癌等多种肿瘤细胞生长和转移过程中发挥着重要作用^[14-16]。Lv 等^[17]研究指出, HMGB1 在骨肉瘤组织和细胞中高表达,且发挥着促进肿瘤细胞增殖和迁移的作用。Meng 等^[18]和 Liu 等^[19]还指出,骨肉瘤中高表达的 HMGB1 还可促进癌细胞侵袭并抑制细胞凋亡。为了探讨 miR-216b-5p 抑制骨肉瘤进展的分子机制,本研究将 HMGB1 作为研究对象。HMGB1 3'UTR 与 miR-216b-5p 存在互补的结合位点,同时 miR-216b-5p mimics 可与 HMGB1 3'UTR 靶向结合降低细胞的荧光素酶活性,并下调 HMGB1 蛋白的表达,而 miR-216b-5p inhibitor 则可呈现出相反结果。结果表明, HMGB1 是 miR-216b-5p 的靶基因。该结果与 Chen 等^[20]在结直肠癌证实的 HMGB1 是 miR-216b-5p 的靶基因结果相吻合。提示靶向调控 HMGB1 表达可能是 miR-216b-5p 发挥抗骨肉瘤恶性进展的重要机制之一。

综上所述,miR-216b-5p 在骨肉瘤 MG63 细胞中发挥抗增殖、抗侵袭和促凋亡的作用,这可能与靶向 HMGB1 有关。本研究仅从单种骨肉瘤细胞上阐述了 miR-216b-5p 在骨肉瘤中的作用,miR-216b-5p 在不同骨肉瘤细胞系中的作用可能有所不同,后期

将从多种细胞株以及裸鼠移植瘤动物实验中加以验证,以期 miR-216b-5p 有望成为骨肉瘤的候选靶基因提供新的参考依据。

参考文献

- [1] LINDSEY B A, MARKEL J E, KLEINERMAN E S. Osteosarcoma overview [J]. *Rheumatology and Therapy*, 2017, 4 (1): 25-43.
- [2] 余凤强,王生淋,林建华.微小 RNA 在骨肉瘤基础研究的进展[J]. *中华实验外科杂志*, 2018, 35(5):992-996.
- [3] JI Q, XU X, LI L, et al. miR-216a inhibits osteosarcoma cell proliferation, invasion and metastasis by targeting CDK14 [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3103. DOI: 10.1038/cddis.2017.499.
- [4] SUN Z, LIU Q, HONG H, et al. miR-19 promotes osteosarcoma progression by targeting SOCS6 [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 495(1): 1363-1369.
- [5] YANG X, WANG L, WANG Q, et al. MiR-183 inhibits osteosarcoma cell growth and invasion by regulating LRP6-Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(4): 1197-1203.
- [6] YOU Y, TAN J, GONG Y, et al. MicroRNA-216b-5p functions as a tumor-suppressive RNA by targeting TPT1 in pancreatic cancer cells [J]. *J Cancer*, 2017, 8(14): 2854-2865.
- [7] 董道全. miR-216b-5p 在肾癌中的表达及其功能研究 [D]. 合肥:安徽医科大学, 2017.
- [8] ZHENG JJ, DU XJ, WANG HP, et al. Long non-coding RNA 00152 promotes cell proliferation in cervical cancer via regulating miR-216b-5p/HOXA1 axis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(9): 3654-3663.
- [9] GEORGES S, CALLEJA LR, JACQUES C, et al. Loss of miR-198 and -206 during primary tumor progression enables metastatic dissemination in human osteosarcoma [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(87): 35726-35741.
- [10] HE F, FANG L, YIN Q. miR-363 acts as a tumor suppressor in osteosarcoma cells by inhibiting PDZD2 [J]. *Oncology Reports*, 2019, 41(5): 2729-2738.
- [11] SUN Z, LIU Q, HONG H, et al. miR-19 promotes osteosarcoma progression by targeting SOCS6 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(1): 1363-1369.
- [12] HE J, SUN M, GENG H, et al. Long non-coding RNA Linc00518 promotes paclitaxel resistance of the human prostate cancer by sequestering miR-216b-5p [J]. *Biology of the Cell*, 2019, 111(2): 39-50.
- [13] XIE Q, WU K, CHEN Q, et al. Long non-coding RNA TTTY15 expression in osteosarcoma and its effect on viability and invasion ability of osteosarcoma cells [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2018, 34(5): 819-824.
- [14] ALDUAIS S, ALDUAIS Y, WU X, et al. HMGB1 knock-down promoting tumor cells viability and arrest pro-apoptotic proteins via Stat3/NF κ B in HepG2 cells [J]. *Biofactors*, 2018, 44(6): 570-576.
- [15] AI H, ZHOU W, WANG Z, et al. microRNAs-107 inhibited autophagy, proliferation, and migration of breast cancer cells by targeting HMGB1 [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2019, 120

- (5): 8696-8705.
- [16] HUANG C Y, CHIANG S F, CHEN W T L, et al. HMGB1 promotes ERK-mediated mitochondrial Drp1 phosphorylation for chemoresistance through RAGE in colorectal cancer[J]. Cell Death & Disease, 2018, 9(10): 1004.
- [17] LV S, GUAN M. miRNA-1284, a regulator of HMGB1, inhibits cell proliferation and migration in osteosarcoma[J]. Bioscience Reports, 2018, 38(4): BSR20171675. DOI: 10.1042/BSR20171675.
- [18] MENG Q, ZHAO J, LIU H, et al. HMGB1 promotes cellular proliferation and invasion, suppresses cellular apoptosis in osteosarcoma[J]. Tumour Biol, 2014, 35(12): 12265-12274.
- [19] LIU K, HUANG J, NI J, et al. MALAT1 promotes osteosarcoma development by regulation of HMGB1 via miR-142-3p and miR-129-5p[J]. Cell Cycle, 2017, 16(6): 578-587.
- [20] CHEN X, LIU X, HE B, et al. MiR-216b functions as a tumor suppressor by targeting HMGB1-mediated JAK2/STAT3 signaling way in colorectal cancer[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(10): 2051-2069.
- (收稿日期:2019-08-12,修回日期:2019-10-10)

引用本文:贾宗岭,单富强,葛国昌,等.微小RNA361-5p在肺结核病人血清中水平及意义[J].安徽医药,2021,25(8):1609-1612.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.08.032.



◇临床医学◇

微小RNA361-5p在肺结核病人血清中水平及意义

贾宗岭¹,单富强¹,葛国昌¹,赵幸娜²

作者单位:¹开封市结核病防治所(开封市肺科医院)呼吸内科,河南 开封 475000;

²郑州大学,河南 郑州 450007

基金项目:河南省科技攻关项目(182102310153)

摘要: **目的** 探究微小RNA361-5p(miR-361-5p)在肺结核病人血清中水平及意义。**方法** 选取2017年3月至2019年1月开封市结核病防治所诊治的肺结核病人136例为肺结核组;并选择同时间段内同一医院142例健康体检者为健康对照组。比较两组一般临床资料;以实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测两组血清miR-361-5p水平;检测血管内皮生长因子(VEGF)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 γ -干扰素(IFN- γ)水平;分析肺结核病人血清miR-361-5p水平与VEGF、TNF- α 、IFN- γ 的关系;回归分析肺结核发生的影响因素;分析血清miR-361-5p对肺结核的诊断价值。**结果** 肺结核组血清miR-361-5p[(1.58 $\pm$ 0.45)比(1.06 $\pm$ 0.31)]、VEGF[(389.39 $\pm$ 46.85)pg/mL比(327.62 $\pm$ 41.76)pg/mL]、TNF- α [(22.48 $\pm$ 5.06)ng/L比(11.36 $\pm$ 3.17)ng/L]水平均明显高于健康对照组,IFN- γ 水平[(15.58 $\pm$ 3.36)ng/L比(26.72 $\pm$ 4.78)ng/L]明显低于健康对照组(均 P <0.05);肺结核病人血清miR-361-5p与VEGF、TNF- α 水平呈正相关,与IFN- γ 水平呈负相关(均 P <0.05);miR-361-5p、VEGF、TNF- α 是影响肺结核发生的危险因素,IFN- γ 是影响肺结核发生的保护因素(均 P <0.05);血清miR-361-5p水平对肺结核发生诊断的AUC为0.898,截断值为1.44,其灵敏度为83.8%,特异度为88.0%。**结论** 肺结核病人血清miR-361-5p呈高表达,与炎症相关因子密切相关,miR-361-5p可能与炎症相关因子相互作用,进而共同调节肺结核发生、发展。

关键词: 结核,肺; 血清; 微小RNA-361-5p; 临床意义

Detection level and clinical significance of serum miR-361-5p in patients with pulmonary tuberculosis

JIA Zongling¹, SHAN Fuqiang¹, GE Guochang¹, ZHAO Xinna²

Author Affiliations:¹Respiratory Medicine, Kaifeng Tuberculosis Prevention and Treatment Center (Kaifeng Pulmonary Hospital), Kaifeng, Henan 475000, China; ²Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450007, China

Abstract: **Objective** To explore the level and significance of microRNA361-5p (miR-361-5p) in serum of patients with pulmonary tuberculosis. **Methods** 136 cases of pulmonary tuberculosis patients treated in Kaifeng Tuberculosis Prevention and Treatment Center from March 2017 to January 2019 were analyzed and studied, and they were called pulmonary tuberculosis group; in the same period, 142 healthy persons in our hospital were selected as the control group. The general clinical data of the two groups were compared and analyzed; the level of serum miR-361-5p was detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR); the levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interferon- γ (IFN- γ) were measured; the relationships between serum level of miR-361-5p and levels of VEGF, TNF- α and IFN- γ in patients with pulmonary tuberculosis were analyzed; the influencing