

lncRNA TUG1 靶向 miR-326 对哮喘患儿气道平滑肌细胞凋亡和炎症因子的影响

李青华 宋靖荣 董焱 吕白于 吕伟

(上海交通大学医学院附属第九人民医院儿科, 上海 201900)

【摘要】 目的 探讨 lncRNA TUG1 对哮喘患儿气道平滑肌细胞凋亡和炎症因子的影响及其分子机制。方法 收集 2017 年 1 月~2020 年 6 月我院收治的支气管哮喘患儿和非哮喘患儿气道平滑肌组织; 分离培养气道平滑肌细胞 (ASMCs), 将其分为 si-NC 组、si-TUG1 组、miR-mimics-NC 组、miR-326-mimics 组、si-NC + miR-inhibitor-NC 组、si-TUG1 + miR-inhibitor-NC 组及 si-TUG1 + miR-326 inhibitor 组。实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测 TUG1 和 miR-326 表达水平; 流式细胞术检测细胞凋亡; 蛋白质印迹 (Western blot) 法检测蛋白表达; 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测 IL-4、IL-5、IL-13 水平; 双荧光素酶报告实验验证 TUG1 和 miR-326 的靶向关系。结果 哮喘患儿气道平滑肌组织中 TUG1 表达水平升高, miR-326 表达水平降低 ($P < 0.05$)。沉默 lncRNA TUG1 或过表达 miR-326 后, ASMCs 中细胞凋亡率升高, Bcl-2 表达水平降低, Bax 表达水平升高, IL-4、IL-5、IL-13 水平降低 (均 $P < 0.05$)。TUG1 靶向负调控 miR-326, 干扰 miR-326 能逆转沉默 TUG1 对气道平滑肌细胞凋亡及炎症因子的影响。结论 沉默 lncRNA TUG1 可通过靶向调控 miR-326 促进哮喘患儿气道平滑肌细胞凋亡, 抑制炎症因子的释放。

【关键词】 lncRNA TUG1; miR-326; 哮喘患儿; 气道平滑肌细胞; 凋亡; 炎症因子

【中图分类号】 R725.6 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2021.08.006

Effect of lncRNA TUG1 targeting miR-326 on airway smooth muscle cell apoptosis and inflammatory factors in children with asthma

LI Qinghua, SONG Jingrong, DONG Yan, LYU Baiyu, LYU Wei

(Department of Pediatrics, The Ninth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201900, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the effect of lncRNA TUG1 on airway smooth muscle cell apoptosis and inflammatory factors in children with asthma and its molecular mechanism. **Methods** The airway smooth muscle tissues of children with bronchial asthma and non-asthma patients who were admitted to our hospital from January 2017 to June 2020 were collected; airway smooth muscle cells (ASMCs) were isolated and cultured; and divided into si-NC group, si-TUG1 group, miR-mimics-NC group, miR-326-mimics group, si-NC + miR-inhibitor-NC group, si-TUG1 + miR-inhibitor-NC group, si-TUG1 + miR-326 inhibitor group. Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) to detect the expression levels of TUG1 and miR-326; flow cytometry to detect cell apoptosis. Western blot to detect protein expression. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect IL-4, IL-5, IL-13 levels. The dual luciferase report experiments verify the targeting relationship between TUG1 and miR-326. **Results** The expression of TUG1 in airway smooth muscle tissue of asthmatic patients was increased, and the expression of miR-326 was decreased ($P < 0.05$). After silencing lncRNA TUG1 or overexpressing miR-326, the apoptosis rate in ASMCs was increased, the expression of Bcl-2 was decreased, the expression of Bax was increased, and the levels of IL-4, IL-5 and IL-13 were decreased ($P < 0.05$). TUG1 targets and negatively regulates miR-326; interference with miR-326 can reverse the effect of silencing TUG1 on airway smooth muscle cell apoptosis and inflammatory factors. **Conclusion** Silencing lncRNA TUG1 can promote the apoptosis of airway smooth muscle cells in children with asthma and inhibit the release of inflammatory factors by targeted regulation of miR-326.

【Key words】 lncRNA TUG1; miR-326; Childhood asthma; Airway smooth muscle cells; Apoptosis; Inflammatory factors

哮喘是小儿常见的慢性呼吸系统疾病,近年来发病率呈上升趋势。哮喘病情易反复发作,难以治愈,给患者后期生活、学习带来极大影响^[1-2]。哮喘主要病理特征是持续的气道炎症,气道高反应性和气道重塑等,气道平滑肌细胞参与气道炎症反应,且平滑肌细胞的增殖是哮喘气道重塑的特征性改变,其在哮喘的发生、发展过程中具有重要作用^[3-5]。故促进气道平滑肌细胞的凋亡及减轻其引起的炎症反应对哮喘的治疗具有重要意义。研究表明,lncRNA 可以调控哮喘气道炎症和气道重塑,有望成为诊断和治疗哮喘的新型靶点^[6]。长非编码 RNA 牛磺酸上调基因 1(lncRNA TUG1)在哮喘大鼠模型中表达水平升高;lncRNA TUG1 促进了气道平滑肌细胞(ASMC)的增殖和迁移,并减少了细胞凋亡^[7]。抑制 lncRNA TUG1 可通过 miR-34c/BRD4 轴减轻香烟烟雾提取物在慢性阻塞性肺疾病中引起的炎症损伤^[8]。lncRNA TUG1 高表达通过调节 miR-21 / PTEN 轴促进血管平滑肌细胞的增殖和动脉粥样硬化^[9]。干扰 lncRNA TUG1 可缓解脂多糖诱导的炎症反应^[10-11]。然而 lncRNA TUG1 对 ASMC 中炎症因子的影响及其机制尚不清楚。miR-326 可抑制 TGF- β 1 处理的 ASMC 的基质蛋白沉积和细胞增殖^[12]。抑制 circHIPK3 可通过 miR-326 / STIM1 轴抑制 ASMC 的增殖,迁移并上调细胞凋亡^[13]。miR-326 在体内可减轻 CCl₄ 诱导的小鼠的肝纤维化和炎症^[14]。本实验通过在线软件预测显示,lncRNA TUG1 与 miR-326 有互补的核苷酸结合位点。因此,本实验旨在探讨 lncRNA TUG1 是否通过调控 miR-326 影响 ASMC 的凋亡和炎症反应。

1 材料与方法

1.1 材料 收集 2017 年 1 月~2020 年 6 月我院收治的支气管哮喘患儿和非哮喘患儿各 9 例,年龄 5~15 岁,平均 8 岁;从接受了肺切除手术的患儿中获得气管段,分离出气道平滑肌束;以非哮喘患儿组织为对照组,所有患儿及家属均知情同意。

1.2 细胞与主要试剂 DMEM 培养基(货号:120026,北京凯瑞基生物科技有限公司);Trizol 试剂(货号:5301100,杭州新景生物试剂开发有限公司);荧光定量试剂盒(货号:QPG-052,上海吉玛制药技术有限公司);凋亡检测试剂盒(货号:QN1317-CAT,北京百奥莱博科技有限公司);RIPA 蛋白裂解液(货号:QCB-3201-1,上海钦诚生物科技有限公司);IL-4、IL-5、IL-13 酶联免疫吸附试剂盒(货号:E-EL-H0101c、E-EL-H0191c、E-EL-H0104c,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司);双荧光素酶报告基因检测试剂盒(货

号:GM-040502A,上海泽叶生物科技有限公司)。

1.3 气道平滑肌细胞(ASMCs)分离培养 无菌条件下将支气管哮喘患儿的气道平滑肌束,剪成 1 mm³ 的组织块,均匀铺在培养瓶的底部,加入含血清的 DMEM 培养基,培养 4~5 d 后可见从组织块边缘爬出少量细胞,随后开始贴壁生长,待细胞长满瓶底 80% 左右时,倒置显微镜下观察细胞,细胞呈长梭形,成峰谷生长状;然后用 0.25% 的胰蛋白酶消化传代,取稳定传代 4~6 代的细胞用于实验。

1.4 细胞转染与分组 取对数生长期 ASMCs,将 TUG1 干扰载体及其阴性对照质粒、miR-326 模拟物及其阴性对照转染至 ASMCs 中,记为 si-NC 组、si-TUG1 组、miR-mimics-NC 组、miR-326-mimics 组;将 TUG1 干扰载体阴性对照质粒与 miR-326 抑制剂阴性对照质粒共转染,TUG1 干扰载体分别与 miR-326 抑制剂及其阴性对照分别共转染至 ASMCs 中,分别记为 si-NC + miR-inhibitor-NC 组、si-TUG1 + miR-inhibitor-NC 组及 si-TUG1 + miR-326 inhibitor 组。

1.5 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 TUG1 和 miR-326 表达水平 提取气道平滑肌组织及细胞的总 RNA,反转录成 cDNA 后按照荧光定量试剂盒说明进行 PCR,其中 TUG1 和 miR-326 分别以 GAPDH 和 U6 为内参,PCR 反应体系:2 μ L 反转录产物、10 μ L SYBR Green Mix、上下游引物各 0.5 μ L,7 μ L 无菌水;循环条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min,95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,60 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,共 40 个循环;融解曲线:95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 15 s,95 $^{\circ}$ C 15 s。最后相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡 细胞培养 48 h,用预冷的 PBS 漂洗,用结合缓冲液重悬,加入 10 μ L 的 Annexin V-FITC,再加入 5 μ L 的 PI,混匀避光孵育 10 min;用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.7 蛋白质印迹(Western blot)法检测 Bcl-2、Bax 蛋白表达 提取各组细胞总蛋白,将蛋白样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至聚偏二氟乙烯膜上,用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,加入一抗(1:800)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;加入二抗(1:1000)室温孵育 2 h;显影、定影、成像,用 Quantity One 凝胶分析软件检测蛋白条带的灰度值,以 β -actin 为内参计算蛋白相对表达水平。

1.8 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 IL-4、IL-5、IL-13 水平 各组细胞培养 48 h 后取上清,具体按照试剂盒操作进行检测。

1.9 双荧光素酶报告实验 构建 TUG1 野生型和突变型荧光素酶报告载体 WT-TUG1 和 MUT-TUG1,将其分别与 miR-NC 和 miR-326 共转染至 ASMCs

中;按照说明书检测荧光素酶活性。

1.10 统计学分析 数据采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,符合正态分布的计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较行 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TUG1 和 miR-326 在气道平滑肌组织的表达水平 与非哮喘患儿比较,哮喘患儿的气道平滑肌组织中 TUG1 表达水平升高,miR-326 表达水平降低($P < 0.05$),见表 1。

2.2 利用 RNA 干扰技术沉默 TUG1 后对气道平滑肌细胞的凋亡及炎症因子的影响 与 si-NC 组比较,

表 1 TUG1 和 miR-326 在气道平滑肌组织的表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The expression levels of TUG1 and miR-326 in airway smooth muscle tissue

组别	n	TUG1	miR-326
非哮喘患儿组	9	1.04 ± 0.02	1.02 ± 0.02
哮喘患儿组	9	2.43 ± 0.02 ^①	0.44 ± 0.02 ^①
<i>t</i>		43.190	23.390
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与非哮喘患儿组比较,① $P < 0.05$

si-TUG1 组 TUG1 表达水平降低,细胞凋亡率升高, Bcl-2 表达水平降低, Bax 表达水平升高, IL-4、IL-5、IL-13 水平降低(均 $P < 0.05$),见表 2,图 1。

表 2 沉默 TUG1 对气道平滑肌细胞的凋亡及炎症因子的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The effect of silencing TUG1 on the apoptosis and inflammatory factors of airway smooth muscle cells

组别	n	TUG1	凋亡率($\times 10^{-2}$)	Bcl-2	Bax	IL-4(pg/mL)	IL-5(pg/mL)	IL-13(pg/mL)
si-NC 组	9	1.10 ± 0.02	11.12 ± 0.26	1.01 ± 0.02	0.98 ± 0.02	51.44 ± 2.00	32.00 ± 1.97	37.56 ± 2.15
si-TUG1 组	9	0.45 ± 0.02 ^①	20.03 ± 0.32 ^①	0.57 ± 0.03 ^①	1.76 ± 0.03 ^①	26.78 ± 1.84 ^①	17.89 ± 1.18 ^①	20.22 ± 1.55 ^①
<i>t</i>		22.110	21.750	13.560	21.400	9.059	6.135	6.540
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 si-NC 组比较,① $P < 0.05$

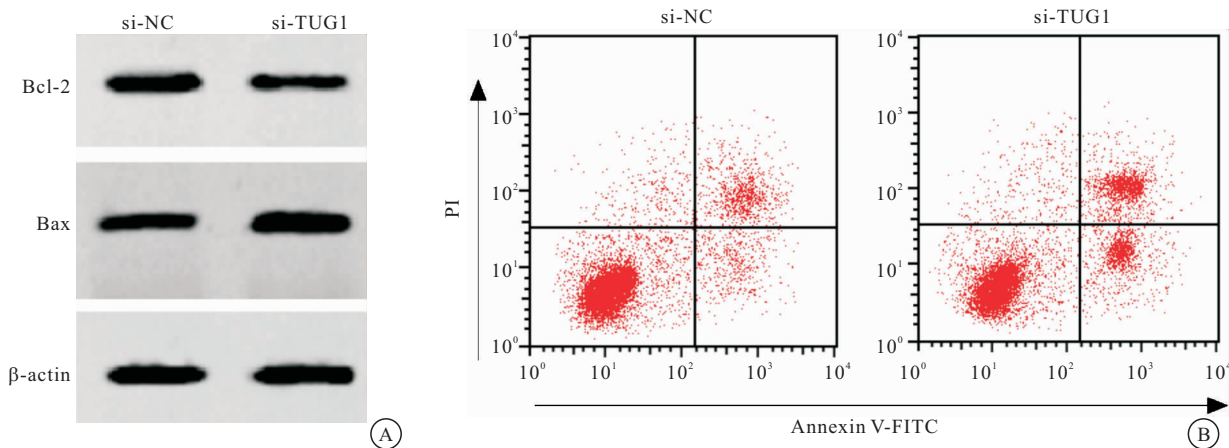


图 1 沉默 TUG1 对气道平滑肌细胞的凋亡及炎症因子的影响

Figure 1 The effect of silencing TUG1 on the apoptosis and inflammatory factors of airway smooth muscle cells

注:A. 凋亡相关蛋白表达;B. 流式细胞术检测凋亡率

2.3 双荧光素酶实验 TUG1 的核酸序列中存在与 miR-326 互补的序列,见图 2。WT-TUG1 与 miR-326 共转染后的细胞荧光素酶活性降低, MUT-TUG1 与 miR-326 共转染后的细胞荧光素酶活性无显著变化,

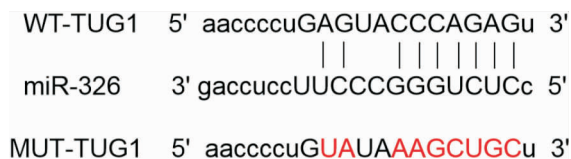


图 2 TUG1 的核酸序列中存在与 miR-326 互补的序列

Figure 2 The nucleic acid sequence of TUG1 has a complementary sequence to miR-326

表 3 TUG1 和 miR-326 的双荧光素酶实验($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Dual luciferase experiment of TUG1 and miR-326

组别	n	WT-TUG1	MUT-TUG1
miR-NC 组	9	1.02 ± 0.02	1.07 ± 0.02
miR-326 组	9	0.42 ± 0.02 ^①	1.03 ± 0.02
<i>t</i>		19.060	1.396
<i>P</i>		<0.001	0.182

注:与 miR-NC 比较,① $P < 0.05$

见表 3。与 si-NC 组比较, si-TUG1 组 TUG1 表达水平降低, miR-326 表达水平升高($P < 0.05$),见表 4。

表 4 TUG1 靶向负相关 miR-326($\bar{x}\pm s$)

Table 4 TUG1 targeting negatively correlated miR-326

组别	n	TUG1	miR-326
si-NC 组	9	1.05±0.01	0.98±0.02
si-TUG1 组	9	0.44±0.03 ^①	2.33±0.03 ^①
t		20.590	36.140
P		<0.001	<0.001

注:与 si-NC 组比较,①P<0.05

2.4 过表达 miR-326 对气道平滑肌细胞的凋亡及炎症因子的影响 与 miR-mimics-NC 组比较,miR-326-mimics 组 miR-326 表达水平升高,细胞凋亡率升高,Bcl-2 表达水平降低,Bax 表达水平升高,IL-4、IL-5、IL-13 水平降低(P<0.05),见表 5,图 3。

表 5 过表达 miR-326 对气道平滑肌细胞的凋亡及炎症因子的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 5 The effect of overexpression of miR-326 on the apoptosis and inflammatory factors of airway smooth muscle cells

组别	n	miR-326	凋亡率($\times 10^{-2}$)	Bcl-2	Bax	IL-4(pg/mL)	IL-5(pg/mL)	IL-13(pg/mL)
miR-mimics-NC 组	9	1.12±0.02	9.61±0.35	0.94±0.02	1.06±0.02	54.11±2.11	30.78±1.30	34.78±1.99
miR-326-mimics 组	9	2.49±0.03 ^③	21.38±0.31 ^③	0.43±0.02 ^③	1.87±0.03 ^③	33.00±1.80 ^③	18.22±1.21 ^③	19.56±1.64 ^③
t		40.540	25.270	15.240	21.770	7.618	7.069	5.897
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 miR-mimics-NC 组比较,③P<0.05

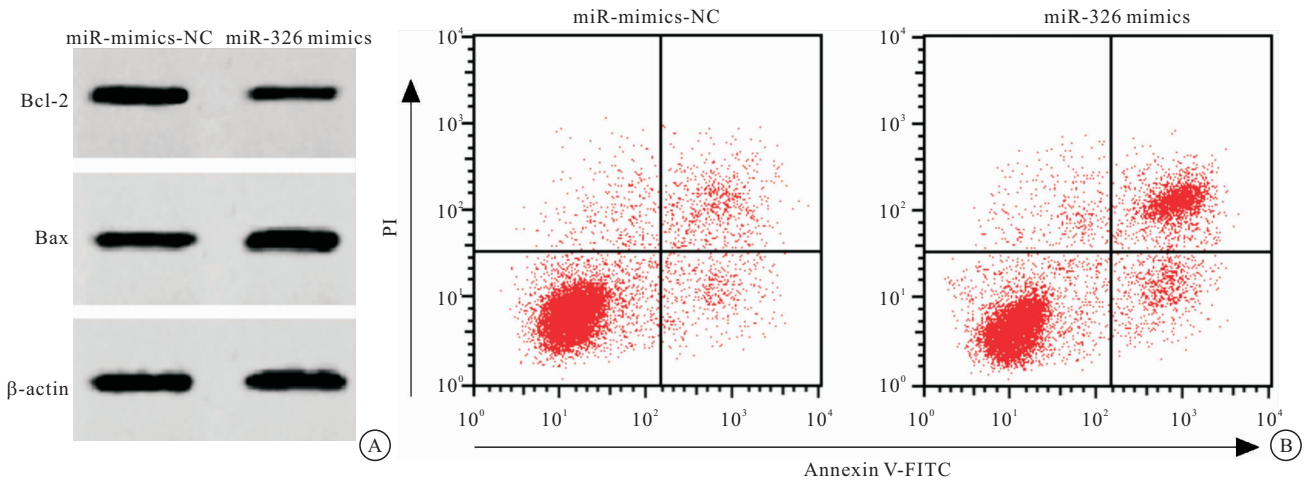


图 3 过表达 miR-326 对气道平滑肌细胞的凋亡及炎症因子的影响

Figure 3 The effect of overexpression of miR-326 on airway epithelial smooth muscle cell apoptosis and inflammatory factors

注:A. 凋亡相关蛋白表达;B. 流式细胞术检测凋亡率

2.5 干扰 miR-326 能逆转沉默 TUG1 对气道平滑肌细胞的凋亡及炎症因子的影响 与 si-NC+miR-inhibitor-NC 组比较,si-TUG1+miR-inhibitor-NC 组 miR-326 表达水平升高,细胞凋亡率升高,Bcl-2 表达水平降低,Bax 表达水平升高,IL-4、IL-5、IL-13 水平

降低(均 P<0.05);与 si-TUG1+miR-inhibitor-NC 组比较,si-TUG1+miR-326 inhibitor 组 miR-326 表达水平降低,细胞凋亡率降低,Bcl-2 表达水平升高,Bax 表达水平降低,IL-4、IL-5、IL-13 水平升高(均 P<0.05),见表 6,图 4。

表 6 干扰 miR-326 能逆转沉默 TUG1 对气道平滑肌细胞的凋亡及炎症因子的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 6 Interference with miR-326 can reverse the effect of silencing TUG1 on the apoptosis and inflammatory factors of airway smooth muscle cells

组别	n	miR-326	凋亡率($\times 10^{-2}$)	Bcl-2	Bax	IL-4(pg/mL)	IL-5(pg/mL)	IL-13(pg/mL)
si-NC+miR-inhibitor-NC 组	9	1.09±0.02	10.14±0.26	1.06±0.02	1.12±0.03	43.89±2.69	27.00±1.48	28.22±2.29
si-TUG1+miR-inhibitor-NC 组	9	2.44±0.04 ^①	17.42±0.38 ^①	0.51±0.01 ^①	2.08±0.03 ^①	22.22±1.65 ^①	13.22±1.09 ^①	14.44±1.26 ^①
si-TUG1+miR-326 inhibitor 组	9	1.01±0.02 ^②	9.47±0.23 ^②	0.98±0.02 ^②	1.05±0.02 ^②	47.6±2.18 ^②	31.89±1.73 ^②	26.44±2.15 ^②
F		771.400	207.700	156.400	454.200	36.540	20.190	17.180
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 si-NC+miR-inhibitor-NC 组比较,①P<0.05;与 si-TUG1+miR-inhibitor-NC 组比较,②P<0.05

3 讨论

支气管哮喘是儿童时期最常见的疾病之一,研究发现一些 lncRNA 与炎症反应以及气道平滑肌细胞

有着密切的联系,推断 lncRNA 可能参与调控哮喘的发生、发展^[15-16]。已有研究报道 lncRNA TUG1 影响 ASMC 的增殖、迁移和凋亡^[7],且 lncRNA TUG1 还

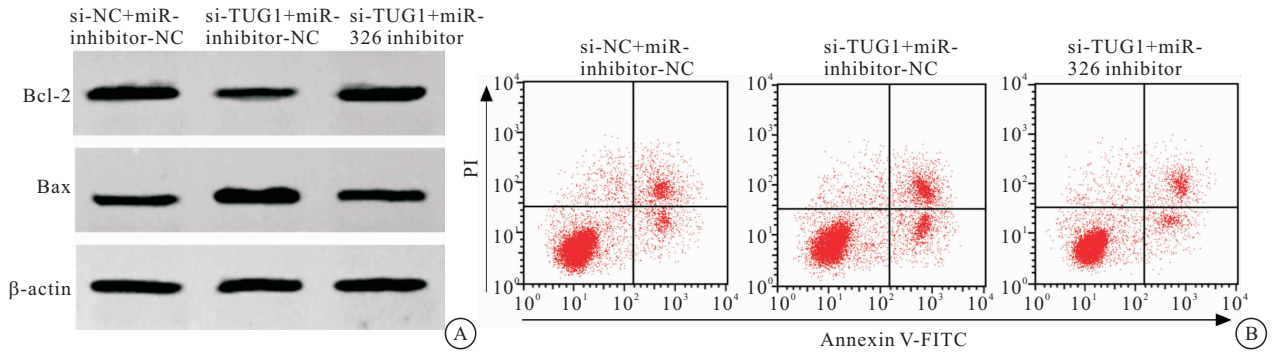


图4 干扰 miR-326 能逆转沉默 TUG1 对气道平滑肌细胞的凋亡及炎症因子的影响

Figure 4 Interference with miR-326 can reverse the effect of silencing TUG1 on the apoptosis and inflammatory factors of airway smooth muscle cells

注:A. 凋亡相关蛋白表达;B. 流式细胞术检测凋亡率

可促进高血压状态下血管平滑肌细胞的增殖和迁移^[17]。沉默 lncRNA TUG1 抑制了 ox-LDL 处理的血管平滑肌细胞的增殖并促进细胞凋亡^[18]。此外, lncRNA TUG1 还参与炎症反应过程, 如抑制 lncRNA TUG1 可抑制 TLR4 信号通路介导的大鼠脊髓缺血再灌注的炎症损伤^[19]。lncRNA TUG1 的下调通过使 miR-449b-5p 海绵化, 从而减轻了缺血再灌注诱导的肾小管上皮细胞的炎症^[20]。TUG1 通过靶向结合 miR-29b-1-5p 调节 MTDH/NF- κ B/IL-1 β 通路减轻脊髓缺血再灌注损伤炎症损伤^[21]。本实验检测了哮喘患儿气道平滑肌组织中 TUG1 的表达水平, 结果显示 TUG1 高表达, 与以往研究结果相符^[7]。进一步沉默 lncRNA TUG1 的表达, 结果显示, ASMCs 中细胞凋亡率升高, Bcl-2 表达水平降低, Bax 表达水平升高, IL-4、IL-5、IL-13 水平降低。IL-4、IL-5、IL-13 均是炎症反应启动和传递的必要的因子, 通过增加气道炎症可加重哮喘^[22]。因此, 本实验结果表明沉默 lncRNA TUG1 不仅可以促进 ASMC 凋亡, 还可抑制炎症反应。

已有研究报道, miR-326 影响 ASMC 的增殖^[12]。本实验结果显示, 哮喘患儿气道平滑肌组织中 miR-326 表达水平降低; 而过表达 miR-326 后, ASMCs 中细胞凋亡率升高, Bcl-2 表达水平降低, Bax 表达水平升高, 说明过表达 miR-326 可促进 ASMCs 凋亡。此外, miR-326 还参与细胞炎症反应有关; 如 miR-326 通过分别靶向 TNFSF14 和 PTBP1 来减轻二氧化硅诱导的肺纤维化, 从而抑制炎症并促进自噬活性^[23]。miR-326 通过下调 TLR4 抑制巨噬细胞中脂多糖诱导的炎症和氧化应激^[24]。本实验结果显示, 过表达 miR-326 后 ASMC 中 IL-4、IL-5、IL-13 水平降低; 表明过表达 miR-326 抑制了 ASMC 的炎症反应。

为研究 lncRNA TUG1 与 miR-326 的关系, 本实验首先通过在线软件预测, 发现 lncRNA TUG1 的核

酸序列中存在与 miR-326 互补的序列, 说明 TUG1 可结合 miR-326; 本研究进一步构建了含 miR-326 结合位点的 TUG1 野生型和突变型荧光素酶报告载体, 将其分别与 miR-NC 和 miR-326 共转染至 ASMCs 中检测细胞荧光素酶活性, 结果显示 WT-TUG1 与 miR-326 共转染后的细胞荧光素酶活性降低, MUT-TUG1 与 miR-326 共转染后的细胞荧光素酶活性无显著变化; 且抑制 TUG1 表达后 miR-326 表达水平升高; 表明 TUG1 可靶向负调控 miR-326 的表达。为研究 miR-326 对 TUG1 的影响, 本实验在干扰 miR-326 的同时沉默 TUG1, 结果显示, ASMC 的凋亡率降低, Bcl-2 表达水平升高, Bax 表达水平降低, IL-4、IL-5、IL-13 水平升高; 表明而干扰 miR-326 逆转了沉默 TUG1 对气道平滑肌细胞凋亡及炎症因子的影响。这表明 TUG1 可与 miR-326 相互作用影响气道平滑肌细胞凋亡及炎症。

4 结论与启示

沉默 lncRNA TUG1 可通过靶向调控 miR-326 促进哮喘患儿气道平滑肌细胞凋亡, 抑制炎症因子的释放。本实验目前仅在体外进行细胞实验, 还有待于进一步进行体内实验予以证实。

【参考文献】

- [1] 伊占玉. 小儿哮喘综合防治研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(47):68-69.
- [2] 郭一唯. 中医药治疗小儿哮喘缓解期的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(5):34-35.
- [3] 钱艳, 张倩. 气道平滑肌细胞在支气管哮喘气道炎症中的作用研究进展[J]. 常州实用医学, 2017, 33(1):60-65.
- [4] 阳志华, 莫碧文. 气道平滑肌细胞在哮喘中的作用研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(6):70-80.
- [5] 史丽, 强丽霞, 金寿德. 气道平滑肌在气道重塑中作用的研究进展[J]. 医学研究杂志, 2018, 47(11):202-204, 208.
- [6] 曹鼎, 莫碧文. 长链非编码 RNA 在哮喘中的作用研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘(电子版), 2020, 20(10):27-28.

- [7] LIN J, FENG X, ZHANG J, *et al.* Long noncoding RNA TUG1 promotes airway smooth muscle cells proliferation and migration via sponging miR-590-5p/FGF1 in asthma[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(5):3159-3166.
- [8] SONG B, WU S, YE L, *et al.* LncRNA TUG1 knockdown mitigates inflammatory injury induced by cigarette smoke extract in chronic obstructive pulmonary disease via miR-34c/BRD4 axis[J]. *Biosci Rep*, 2020, 19:BSR20193896.
- [9] LI FP, LIN DQ, GAO LY. LncRNA TUG1 promotes proliferation of vascular smooth muscle cell and atherosclerosis through regulating miRNA-21/PTEN axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(21):7439-7447.
- [10] 李彦, 叶璐. 干扰长链非编码 RNA TUG1 上调 miR-26a 缓解 LPS 诱导的脓毒症大鼠线粒体损伤和免疫紊乱[J]. *免疫学杂志*, 2020, 36(2):125-131.
- [11] 谢月群, 单国勇, 许智利, 等. 长链非编码 RNA 牛磺酸上调基因 1 调节脓毒症患者炎症反应的分子机制研究[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2020, 30(2):101-104, 112.
- [12] ZHANG H, YAN HL, LI XY, *et al.* TNFSF14, a novel target of miR-326, facilitates airway remodeling in airway smooth muscle cells via inducing extracellular matrix protein deposition and proliferation[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2020, 36(7):508-514.
- [13] LIN J, FENG X, ZHANG J. Circular RNA circHIPK3 modulates the proliferation of airway smooth muscle cells by miR-326/STIM1 axis[J]. *Life Sci*, 2020, 255:117835.
- [14] LIAO X, ZHAN W, TIAN T, *et al.* MicroRNA-326 attenuates hepatic stellate cell activation and liver fibrosis by inhibiting TLR4 signaling[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 121(8-9):3794-3803.
- [15] 王倩. 长链非编码 RNA 与支气管哮喘的相关性研究进展[J]. *国际儿科学杂志*, 2017, 44(3):161-164.
- [16] 代冰. 长链非编码 RNA 的免疫调节机制及其在支气管哮喘中的研究进展[J]. *国际儿科学杂志*, 2018, 45(12):911.
- [17] SHI L, TIAN C, SUN L, *et al.* The lncRNA TUG1/miR-145-5p/FGF10 regulates proliferation and migration in VSMCs of hypertension[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501(3):688-695.
- [18] WU X, ZHENG X, CHENG J, *et al.* LncRNA TUG1 regulates proliferation and apoptosis by regulating miR-148b/IGF2 axis in ox-LDL-stimulated VSMC and HUVEC[J]. *Life Sci*, 2020, 243:117287.
- [19] JIA H, MA H, LI Z, *et al.* Downregulation of lncRNA TUG1 inhibited TLR4 signaling pathway-mediated inflammatory damage after spinal cord ischemia reperfusion in rats via suppressing TRIL expression[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2019, 78(3):268-282.
- [20] XU Y, NIU Y, LI H, *et al.* Downregulation of lncRNA TUG1 attenuates inflammation and apoptosis of renal tubular epithelial cell induced by ischemia-reperfusion by sponging miR-449b-5p via targeting HMGB1 and MMP2[J]. *Inflammation*, 2020, 43(4):1362-1374.
- [21] 贾慧. TUG1 调控 MTDH 影响大鼠脊髓缺血再灌注损伤炎症机制的研究[D]. 辽宁:中国医科大学, 2019.
- [22] 冯海燕, 谭建新. IL-4、IL-5 和 IL-13 与哮喘发生发展的关系[J]. *心理医生*, 2017, 23(3):119-120.
- [23] XU T, YAN W, WU Q, *et al.* MiR-326 inhibits inflammation and promotes autophagy in silica-induced pulmonary fibrosis through targeting TNFSF14 and PTBP1[J]. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32(11):2192-2203.
- [24] WANG Z, YAN J, YANG F, *et al.* MicroRNA-326 prevents sepsis-induced acute lung injury via targeting TLR4[J]. *Free Radic Res*, 2020, 54(6):408-418.

(收稿日期:2020-10-26;修回日期:2021-04-27;编辑:郭翠)

(上接第 1114 页)

- [20] WEIDEMANN A, JOHNSON RS. Biology of HIF-1 α [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(4):621-627.
- [21] WU D, KLAU MC, CONNORS T, *et al.* Combining constitutively active Rheb expression and chondroitinase promotes functional axonal regeneration after cervical spinal cord injury[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(12):2715-2726.
- [22] SIDDIQ A, AMINOVA LR, TROY CM, *et al.* Selective inhibition of hypoxia-inducible factor (HIF) prolyl-hydroxylase 1 mediates neuroprotection against normoxic oxidative death via HIF- and CREB-independent pathways[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(27):8828-8838.
- [23] SONG Z, YE Y, ZHANG Z, *et al.* Noninvasive, targeted gene therapy for acute spinal cord injury using LIFU-mediated BDNF-loaded cationic nanobubble destruction[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(3):911-920.
- [24] EHRENREICH H, AUST C, KRAMPE H, *et al.* Erythropoietin: novel approaches to neuroprotection in human brain disease[J]. *Metab Brain Dis*, 2004, 19(3-4):195-206.
- [25] HERRERA JJ, SUNDBERG LM, ZENTILIN L, *et al.* Sustained expression of vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 improves blood-spinal cord barrier integrity and functional recovery after spinal cord injury[J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(11):2067-2076.
- [26] YANG ML, TAO T, XU J, *et al.* Antiapoptotic effect of gene therapy with recombinant adenovirus vector containing hypoxia-inducible factor-1 α after cerebral ischemia and reperfusion in rats[J]. *Chin Med J*, 2017, 130(14):1700-1706.
- [27] LI G, CHE MT, ZENG X, *et al.* Neurotrophin-3 released from implant of tissue-engineered fibroin scaffolds inhibits inflammation, enhances nerve fiber regeneration, and improves motor function in canine spinal cord injury[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2018, 106(8):2158-2170.

(收稿日期:2020-07-08;修回日期:2020-09-24;编辑:郭翠)