

miR-21 对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖与凋亡的影响*

张兵¹ 王孝玉¹ 朱亚辉¹ 张仕慧² 胡凌云¹

(南充市中心医院 1. 骨科; 2. 医学影像科, 四川 南充 637000)

【摘要】 目的 探讨 miR-21 对类风湿关节炎(RA)滑膜成纤维细胞(FLS)增殖与凋亡的影响。方法 Realtime PCR 方法检测正常和 RA-FLS 中 miR-21 表达差异。RA-FLS 分成 Control 组、miR-NC 组(转染 mimics control)、miR-21 组(转染 miR-21 mimics)、miR-21+IGF-1 组(转染 miR-21 mimics, PI3K/Akt 信号通路特异性激活剂 IGF-1 处理), CCK-8 实验分析细胞增殖活性变化, 流式细胞术分析细胞凋亡水平变化, Western blot 方法分析细胞中 C-Caspase-3、Bax、Bcl-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达变化。结果 与正常-FLS 比较, RA-FLS 中 miR-21 表达水平降低($P < 0.05$)。与 Control 组、miR-NC 组比较, miR-21 组 RA-FLS 细胞中 miR-21 表达水平升高, 细胞增殖活性降低, 细胞凋亡率增加, 细胞中 C-Caspase-3、Bax 蛋白表达增多, Bcl-2 蛋白表达减少, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白水平降低($P < 0.05$)。与 miR-21 组比较, miR-21+IGF-1 组 RA-FLS 增殖活性升高, 细胞凋亡率降低, 细胞中 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达增多, C-Caspase-3、Bax 蛋白表达减少, Bcl-2 蛋白表达增多($P < 0.05$)。结论 上调 miR-21 可抑制 RA-FLS 增殖, 诱导细胞凋亡, 机制可能与降低 PI3K/Akt 信号激活水平有关。

【关键词】 miR-21; 类风湿关节炎; 滑膜成纤维细胞; 凋亡; PI3K/Akt 信号

【中图分类号】 R593.22 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2022.11.009

Effects of miR-21 on the proliferation and apoptosis of synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis

ZHANG Bing¹, WANG Xiaoyu¹, ZHU Yahui¹, ZHANG Shihui², HU Lingyun¹

(1. Department of Orthopedics, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China;

2. Department of Medical Imaging, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of miR-21 on the proliferation and apoptosis of rheumatoid arthritis (RA) fibroblast-like synoviocytes (FLS). **Methods** Realtime PCR method was used to detect the difference of miR-21 expression between normal and RA-FLS. RA-FLS were divided into Control, miR-NC (transfection mimics control), miR-21 (transfection miR-21 mimics), miR-21+IGF-1 group (transfection miR-21 mimics, PI3K/Akt signaling pathway specific treatment with PI3K/Akt activator IGF-1), CCK-8 experiment to analyze changes in cell proliferation activity, flow cytometry to analyze changes in cell apoptosis, Western blot analysis of C-Caspase-3, Bax, Bcl-2, PI3K, p-PI3K, Akt and p-Akt proteins. **Results** Compared with normal-FLS, the expression level of miR-21 in RA-FLS decreased ($P < 0.05$). Compared with the Control and miR-NC groups, the miR-21 expression level in the RA-FLS cells of the miR-21 group increased, the cell proliferation activity decreased, the apoptosis rate increased, and the expression of C-Caspase-3 and Bax proteins in the cells increased, the expression of Bcl-2 protein decreased, and the protein levels of p-PI3K/PI3K and p-Akt/Akt decreased ($P < 0.05$). Compared with the miR-21 group, the proliferation activity of RA-FLS in the miR-21+IGF-1 group was increased, the apoptosis rate was decreased, the expression of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt protein in the cells increased, and C-Caspase-3, Bax protein decreased, and the expression of Bcl-2 protein increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Up-regulation of miR-21 can inhibit the proliferation of RA-FLS and induce cell apoptosis, the mechanism is

基金项目:四川省教育厅科研计划项目(17ZB0176)

引用本文:张兵,王孝玉,朱亚辉,等. miR-21 对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖与凋亡的影响[J]. 西部医学, 2022, 34(11): 1607-1612. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2022.11.009

related to the reduction of PI3K/Akt signal activation level.

【Key words】 MiR-21; Rheumatoid arthritis; Fibroblast-like synoviocytes; Apoptosis; PI3K/Akt signal

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)属于全身性免疫性疾病,以关节滑膜炎为主要特征,目前其病因和发病机制尚不清楚^[1-2]。正常的滑膜组织是由结缔组织以及滑膜衬里层组成,衬里层包括滑膜成纤维细胞(Fibroblast-like synoviocytes, FLS),对维持关节腔具有稳定的作用,参与 RA 病理变化^[3-4]。研究显示,RA 与基因表达有关,基因调控 FLS 细胞的增殖和凋亡,分子靶向治疗可能是 RA 潜在的治疗方式^[5]。miRNA 没有编码蛋白质的能力,其长度一般在 20 nt 左右,miRNA 与细胞生长、细胞凋亡、能量代谢、氧化应激等有关^[6-8]。miRNA 还与人类疾病如肿瘤、糖尿病等疾病的进展有关,对分子靶向治疗的具有重要作用^[9-10]。研究显示 miR-21 具有调控胚胎发育、器官形成、肿瘤、哮喘、成骨分化等的进展有关^[11-13]。有研究显示,上调 miR-21 表达减轻 RA 大鼠模型关节炎指数,改善 RA 症状^[14]。RA 患者中 miR-21 表达量降低,抑制 miR-21 能够促进 RA-FLS 释放炎症因子,以及改善 RA 患者 Th17/Treg 细胞失衡^[15-16]。这些研究均证明了 miR-21 参与 RA 进展。目前尚不明确 miR-21 在 RA-FLS 增殖和凋亡中的作用。本次实验体外分离培养 RA-FLS,探讨 miR-21 对 RA-FLS 增殖、凋亡的影响和可能机制,为基因靶向治疗 RA 提供可能思路。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 RA 患者以及健康对照(关节外伤)滑膜组织均采集自 2018 年 7 月~2020 年 2 月南充市中心医院;蛋白激酶 B(Protein kinase B, Akt)抗体购自美国 Invitrogen 公司;miR-X miRNA First-Strand Synthesis kit 购自丹麦 Exiqon 公司;B 细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)抗体购自上海恒科生物科技有限公司;p-PI3K 抗体购自上海鑫乐生物科技有限公司;RNAiso for Small RNA 购自宝生物工程(大连)有限公司;Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 Associated X Protein, Bax)抗体、p-Akt 抗体购自美国 santacruz 公司;mimics control、miR-21 mimics 由 Thermo Fisher Scientific 公司构建;C-Caspase-3 抗体购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司;磷脂酰肌醇-3 激酶(Phosphoinositide 3-kinase, PI3K)抗体购自美国 Abcam 公司。本研究获医院医学伦理委员会审核通过。

1.2 方法

1.2.1 FLS 分离培养^[17] RA 滑膜组织和健康滑膜

组织均浸泡在含有 10% 双抗的 PBS 溶液内,将表面的脂肪等组织去除,再次用 PBS 洗涤 2 次。用剪刀和镊子把组织剪碎,大小约为 1 mm³,置于培养瓶内,添加适量的 0.4% 的 I 型胶原酶消化,期间每间隔 30 min 将细胞瓶翻转,2 h 后,将细胞培养瓶从培养箱中取出,以吸管将细胞沉淀混匀,1000 g 离心 10 min。添加含有 EDTA-0.25% 胰蛋白酶的消化液孵育 30 min,期间每隔 10 min 摇晃 1 次。添加 DMEM,过滤(200 目),1000 g 离心 10 min,弃掉上清溶液,添加培养液(10% 胎牛血清、1% 双抗的 DMEM)悬浮,转移到培养皿内常规培养。48 h 后,更换新鲜的细胞培养液,将悬浮的细胞弃掉,继续培养,期间每隔 2 d 换液 1 次,培养至第 3 代,经细胞免疫化学法鉴定为 FLS(Vimentin 表达阳性,CD68 表达阴性)。

1.2.2 Realtime PCR 方法检测 miR-21 表达 取第 4 代 RA-FLS 和正常-FLS,添加 RNAiso for Small RNA 试剂,常规方法提取 miRNA,将 miRNA 溶解在 DEPC 水中,放在-80℃ 保存。利用 miR-X miRNA First-Strand Synthesis kit 进行逆转录反应,取 0.5 μg 的 miRNA 样品,添加 5 μL 的 mRQ Buffer、1.25 μL 的 mRQ Enzyme,充分混合后,放在 37℃ 孵育 1 h,然后放在 85℃ 孵育 5 min,合成的 cDNA 放在-20℃ 保存。PCR 扩增反应如下:2 μL 的 cDNA、0.5 μL 的 mRQ 3' primer、0.5 μL 的 miRNA-specific primer、0.5 μL 的 ROX Dye、12.5 μL 的 SYBR advantage premix,最后添加 ddH₂O 至 25 μL,设置反应条件如下:95℃ 10 s,95℃ 5 s,60℃ 20 s,72℃ 30 s。U6 作为内参,按照 2^{-ΔΔCt} 法计算 miR-21 的表达变化。

1.2.3 细胞转染和分组 RA-FLS 接种到 6 孔板内,分别把 mimics control、miR-21 mimics 转染到细胞内,转染步骤按照转染试剂 Lipofectamine 2000 说明书进行。将转染 mimics control、miR-21 mimics 以后的 RA-FLS 设置为 miR-NC 组、miR-21 组,Control 组为没有转染的 RA-FLS。Control 组、miR-NC 组、miR-21 组细胞培养 48 h 以后,按照 1.2.2 中方法检测 miR-21 的表达差异。

1.2.4 CCK-8 实验测定细胞增殖活性变化 RA-FLS 配制成 5×10⁴ 个细胞/mL,分别吸取 100 μL 的细胞悬浮液添加到 96 孔板内,在 37℃ 过夜,按照 Control 组、miR-NC 组、miR-21 组方法分组处理,细胞培养 48 h 后,分别在细胞中添加 10 μL 的 CCK-8 溶液,继续放在 37℃ 孵育 1 h,检测 450 nm 的 A 值。A 值

表示细胞增殖活性大小。

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡变化 Control 组、miR-NC 组、miR-21 组细胞培养 48 h 后,收集细胞,分别用 PBS 将细胞洗涤 3 次,最后将细胞悬浮在 400 μ L 的结合缓冲液中,添加 5 μ L 的 Annexin V-FITC 溶液,放在室温孵育 20 min,继续添加 5 μ L 的 PI 溶液,放在室温孵育 20 min,立即用流式细胞仪检测细胞凋亡变化。

1.2.6 Western blot 方法检测细胞中 C-Caspase-3、Bax、Bcl-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达变化

Control 组、miR-NC 组、miR-21 组细胞培养 48 h 后,分别在细胞中添加细胞裂解溶液(PMSF:RIPA=1:100),放在冰上孵育 30 min,以细胞刮刀将细胞收集,转移到干净的 EP 管内,4 $^{\circ}$ C,12000 g 离心 10 min,上清吸取到新的 EP 管内,放在 -80 $^{\circ}$ C 保存。利用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒测定蛋白浓度。配制 10% 的分离胶和 5% 的浓缩胶。将蛋白样品和等体积的 Loading Buffer 混合后,在 100 $^{\circ}$ C 煮沸 5 min。把蛋白添加到上样孔内,每个孔中加 40 μ g 的蛋白。首先按照 60 V 的电压电泳,等到染料电泳至浓缩胶和分离胶的分层处时,更换成 90 V 的电压继续电泳,观察染料到达底部边缘之后,停止电泳。NC 膜根据凝胶的大小裁剪,然后浸泡在甲醇中湿润 15 s,浸泡至转膜缓冲液中孵育 5 min。以常规方法在 4 $^{\circ}$ C 进行转膜,转膜电流为 300 mA,转膜 2 h 后,取出 NC 膜。将 NC 膜浸泡在 5% 牛血清白蛋白中,在室温中孵育 1 h。然后将 NC 膜放在一抗溶液中(C-Caspase-3 抗体按照 1:800 稀释,Akt、PI3K、Bax、Bcl-2 抗体按照 1:1000 稀释,p-PI3K、p-Akt 抗体按照 1:600 稀释),在 4 $^{\circ}$ C 结合过夜。NC 膜放在二抗溶液中,在室温中结合 2 h。以 ECL 方法显色。分析条带的灰度值,根据灰度值,以 GAPDH 作为参照,分析蛋白水平。

1.2.7 PI3K/Akt 信号激活剂对 miR-21 影响 FLS 细胞增殖和凋亡的作用测定 取转染了 miR-21 mimics 后的 RA-FLS,以含有 100 ng/mL 的 PI3K/Akt 信号通路特异性激活剂胰岛素生长因子-1(Insulin-like growth factor-1, IGF-1)处理,记为 miR-21 + IGF-1 组,以 miR-21 组为参照,检测细胞增殖(步骤参照 1.2.4 中 CCK-8)、凋亡(步骤参照 1.2.5 中流式细胞术)和细胞中 C-Caspase-3、Bax、Bcl-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达(步骤参照 1.2.6 中 Western blot)。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 21.0 软件分析数据,数据按照均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组差异比较用单因素方差, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RA-FLS 中 miR-21 表达水平降低 与正常-FLS 比较,RA-FLS 中 miR-21 表达水平降低($P < 0.05$)。提示 RA-FLS 中 miR-21 低表达。见表 1。

表 1 正常-FLS 和 RA-FLS 中 miR-21 的表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the expression level of miR-21 in normal-FLS and RA-FLS

组别	miR-21 水平
正常-FLS 组	1.00 \pm 0.11
RA-FLS 组	0.62 \pm 0.05 ^①
<i>t</i>	9.435
<i>P</i>	<0.001

注:与正常-FLS 组比较,① $P < 0.05$

2.2 miR-21 对 RA-FLS 增殖和凋亡影响 与 Control 组、miR-NC 组比较,miR-21 组 RA-FLS 细胞中 miR-21 表达水平升高,细胞增殖活性降低,细胞凋亡率增加,细胞中 C-Caspase-3、Bax 蛋白表达增多,Bcl-2 蛋白表达减少($P < 0.05$)。提示 miR-21 降低 RA-FLS 增殖活性,诱导细胞凋亡。见图 1、表 2。

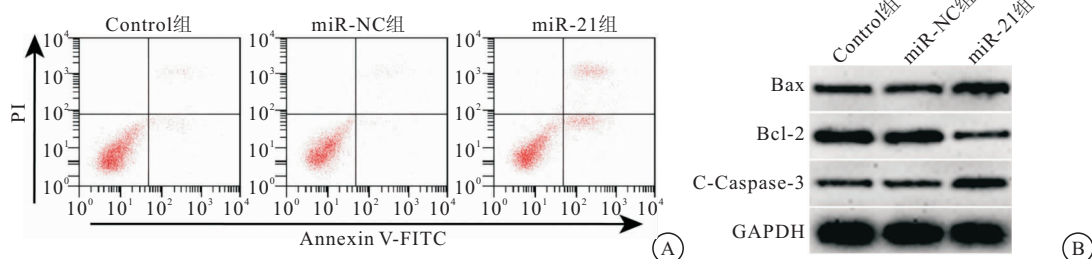


图 1 miR-21 mimics 转染后细胞凋亡和细胞中相关蛋白表达变化

Figure 1 Changes in cell apoptosis and expression of related proteins in cells after miR-21 mimics transfection

注:A.流式细胞术检测 RA-FLS 细胞凋亡;B. Western blot 检测 RA-FLS 细胞中 C-Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白表达

2.3 miR-21 对 RA-FLS 中 PI3K/Akt 信号通路的作用 与 Control 组、miR-NC 组比较,miR-21 组 RA-FLS 细胞中 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白水平均降

低($P < 0.05$)。提示 miR-21 降低 RA-FLS 中 PI3K/Akt 信号通路激活水平。见图 2、表 3。

表 2 miR-21 mimics 转染后细胞增殖活性、凋亡率和细胞中相关蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of cell proliferation activity, apoptosis rate and related protein level in cells transfected with miR-21 mimics

组别	miR-21 水平	增殖活性(%)	凋亡率(%)	C-Caspase-3	Bax	Bcl-2
Control 组	1.00 ± 0.13	97.22 ± 5.48	5.32 ± 0.26	0.23 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.53 ± 0.05
miR-NC 组	0.98 ± 0.10	97.14 ± 6.24	5.41 ± 0.52	0.21 ± 0.04	0.31 ± 0.04	0.52 ± 0.08
miR-21 组	2.85 ± 0.26 ^{①②}	41.75 ± 4.22 ^{①②}	21.36 ± 1.45 ^{①②}	0.43 ± 0.05 ^{①②}	0.48 ± 0.05 ^{①②}	0.20 ± 0.04 ^{①②}
F	329.514	318.633	943.501	79.920	49.140	90.600
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Control 组比较,①P<0.05;与 miR-NC 组比较,②P<0.05

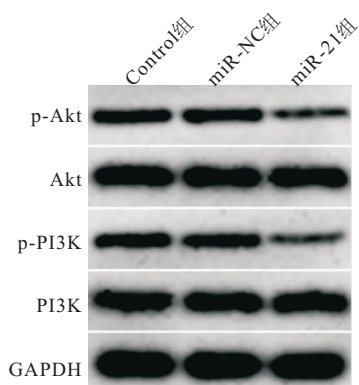


图 2 上调 miR-21 对 RA-FLS 细胞中 PI3K/Akt 信号相关蛋白表达影响
Figure 2 The effect of up-regulation of miR-21 on the expression of PI3K/Akt signal-related proteins in RA-FLS cells

2.4 PI3K/Akt 信号通路激活剂对 miR-21 影响 RA-FLS 增殖、凋亡的作用 与 miR-21 组比较,miR-21+

表 3 上调 miR-21 后 RA-FLS 细胞中 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt protein levels in RA-FLS cells after miR-21 was upregulated

组别	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt
Control 组	0.54 ± 0.05	0.49 ± 0.05
miR-NC 组	0.56 ± 0.06	0.47 ± 0.04
miR-21 组	0.23 ± 0.04 ^{①②}	0.26 ± 0.05 ^{①②}
F	120.039	66.409
P	<0.001	<0.001

注:与 Control 组比较,①P<0.05;与 miR-NC 组比较,②P<0.05

IGF-1 组 RA-FLS 增殖活性升高,细胞凋亡率降低,细胞中 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达增多,C-Caspase-3、Bax 蛋白表达减少,Bcl-2 蛋白表达增多(P<0.05)。提示激活 PI3K/Akt 信号逆转 miR-21 对 RA-FLS 增殖、凋亡作用。见图 3、表 4。

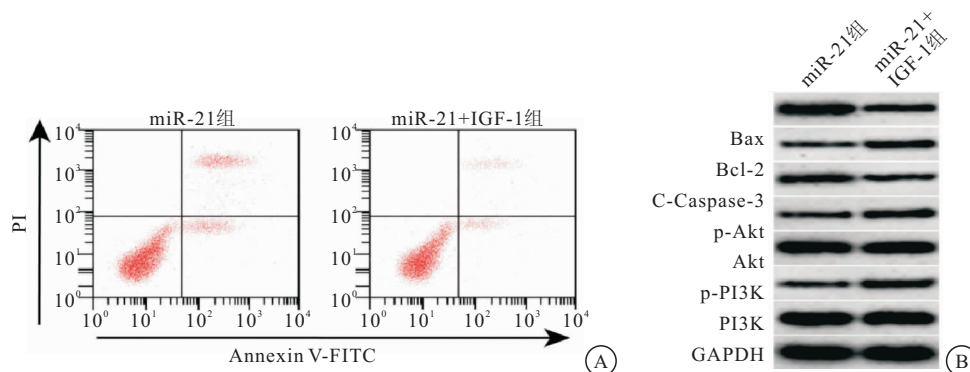


图 3 IGF-1 对上调 miR-21 的 RA-FLS 细胞凋亡和细胞中相关蛋白表达影响

Figure 3 Effect of IGF-1 on apoptosis and expression of related proteins in RA-FLS cells upregulated by miR-21

注:A. 流式细胞术检测 RA-FLS 细胞凋亡;B. Western blot 检测 RA-FLS 细胞中 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、C-Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白表达

表 4 表 4 IGF-1 上调 miR-21 后 RA-FLS 细胞增殖活性、凋亡率和细胞中相关蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of proliferative activity, apoptosis rate and related protein levels in RA-FLS cells after IGF-1 up regulating miR-21

组别	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	增殖活性(%)	凋亡率(%)	C-Caspase-3	Bax	Bcl-2
miR-21 组	0.25 ± 0.03	0.24 ± 0.04	43.72 ± 3.58	21.05 ± 1.13	0.44 ± 0.04	0.53 ± 0.07	0.21 ± 0.03
miR-21+IGF-1 组	0.52 ± 0.04 ^①	0.58 ± 0.06 ^①	60.25 ± 4.67 ^①	9.94 ± 0.85 ^①	0.29 ± 0.02 ^①	0.38 ± 0.03 ^①	0.45 ± 0.05 ^①
t	16.200	14.145	8.427	23.571	10.062	5.909	12.348
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 miR-21 组比较,①P<0.05

3 讨论

RA 发病率较高,患者的关节内发生炎症后,能诱

导软骨、骨组织损伤,最终诱导关节功能障碍,影响 RA 患者正常行动能力和劳动能力^[17-19]。滑膜组织增

生是 RA 发生的典型特征,虽然炎症在滑膜衬里层中长期存在,但 RA-FLS 过度增殖是诱导滑膜增生的关键因素^[20-21]。既往研究显示,miRNA 参与 RA 发生,能够影响 RA-FLS 生物学行为^[22]。Liu 等^[14]研究显示,miR-21 与 RA 有关,过表达 miR-21 减轻 RA 大鼠模型关节炎症。Hu 等^[15]研究结果显示,miR-21 对 RA-FLS 释放炎症因子的有抑制作用。本次实验结果显示,RA-FLS 中 miR-21 表达水平降低,上调 miR-21 可降低 RA-FLS 细胞增殖活性,提示上调 miR-21 抑制 RA-FLS 增殖,这与以上的研究结果相符合,表明 miR-21 在 RA 进展中可能扮演抑制因子的作用。

RA 患者中 FLS 过度增殖的同时细胞凋亡减少。细胞凋亡是一个复杂过程,与细胞凋亡有关调控因子很多,Caspase-3 是 Caspase 蛋白家族中的凋亡执行因子,Caspase-3 活化后形成 C-Caspase-3 被认为是细胞凋亡不可逆的标志^[23]。Bcl-2 蛋白家族包括促凋亡蛋白和抑凋亡蛋白,Bax 属于 Bcl-2 蛋白家族中的促凋亡蛋白,Bcl-2 属于 Bcl-2 蛋白家族中的抑凋亡蛋白,二者表达改变与细胞凋亡进程有关^[24-25]。本研究发现,上调 miR-21 后的 RA-FLS 中 C-Caspase-3、Bax 蛋白表达水平均升高,而 Bcl-2 蛋白水平降低,上调 miR-21 诱导 RA-FLS 凋亡,这与细胞凋亡检测结果相一致,miR-21 具有诱导 RA-FLS 凋亡的作用。

信号通路在 RA 发生中作用广泛,PI3K/Akt 是在 RA 中过度激活的信号转导通路,降低 PI3K/Akt 信号激活水平抑制 RA-FLS 细胞增殖^[26]。miRNA 不具备编码蛋白质的作用,其可以通过调控下游信号通路发挥生物学作用,并且在不同的病理或生理过程中 miRNA 的调控机制有差异^[27]。本研究结果显示,上调 miR-21 后的 RA-FLS 中 PI3K/Akt 信号激活水平降低,且 PI3K/Akt 信号激活剂可以逆转上调 miR-21 抗 RA-FLS 增殖和诱导细胞凋亡的作用,这进一步说明了 miR-21 通过 PI3K/Akt 信号发挥作用。

miR-21 在 RA-FLS 中可能发挥保护作用,miR-21 通过降低 PI3K/Akt 信号激活水平抑制 RA-FLS 增殖,诱导细胞凋亡,为分子靶向治疗 RA 提供了参考思路。本研究不足之处在于,miR-21 通过 PI3K/Akt 信号对 RA 具体作用机制还不明确,需要在后续的实验中进行进一步探讨。

4 结论

上调 miR-21 可抑制 RA-FLS 增殖,诱导细胞凋亡,机制可能与降低 PI3K/Akt 信号激活水平有关。

【参考文献】

[1] WU Z M, LUO J, SHI X D, *et al.* Icarin alleviates rheumatoid

arthritis via regulating miR-223-3p/NLRP3 signalling axis[J]. *Autoimmunity*, 2020, 53(8): 450-458.

- [2] AURÉAL M, MACHUCA-GAYET I, COURRY F. Rheumatoid arthritis in the view of osteoimmunology [J]. *Biomolecules*, 2020, 11(1): 48.
- [3] DE OLIVEIRA P G, FARINON M, SANCHEZ-LOPEZ E, *et al.* Fibroblast-like synoviocytes glucose metabolism as a therapeutic target in rheumatoid arthritis[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1743.
- [4] NAJM A, MASSON F M, PREUSS P, *et al.* MicroRNA-17-5p Reduces Inflammation and Bone Erosions in Mice With Collagen-Induced Arthritis and Directly Targets the JAK/STAT Pathway in Rheumatoid Arthritis Fibroblast-like Synoviocytes[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2020, 72(12): 2030-2039.
- [5] AL-AZAB M, QAED E, OUYANG X, *et al.* TL1A/TNFR2-mediated mitochondrial dysfunction of fibroblast-like synoviocytes increases inflammatory response in patients with rheumatoid arthritis via reactive oxygen species generation[J]. *FEBS J*, 2020, 287(14): 3088-3104.
- [6] JIN W, WANG J, LIU C P, *et al.* Structural Basis for pri-miRNA Recognition by Drosha [J]. *Mol Cell*, 2020, 78 (3): 423-433.
- [7] CHEN L, HEIKKINEN L, WANG C, *et al.* Trends in the development of miRNA bioinformatics tools[J]. *Brief Bioinform*, 2019, 20(5): 1836-1852.
- [8] VISHNOI A, RANI S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases: An overview [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1509: 1-10.
- [9] XIE Y, HANG Y, WANG Y, *et al.* Stromal Modulation and Treatment of Metastatic Pancreatic Cancer with Local Intraperitoneal Triple miRNA/siRNA Nanotherapy [J]. *ACS Nano*, 2020, 14(1): 255-271.
- [10] PRATTICHIZZO F, DE NIGRIS V, SABBATINELLI J, *et al.* CD31+ Extracellular Vesicles From Patients With Type 2 Diabetes Shuttle a miRNA Signature Associated With Cardiovascular Complications[J]. *Diabetes*, 2021, 70(1): 240-254.
- [11] 王中正,杜金红,杨林. miR-21 与晚期胃癌患者化疗效果关系的多因素研究[J]. *中国现代普通外科进展*, 2020, 23(12): 986-988.
- [12] 钱丽花,李廷俊,张晓英. miR-21 在过敏性哮喘患儿外周血中的表达及与 Th17/Treg 平衡的关系[J]. *西部医学*, 2020, 32(12): 1845-1849.
- [13] 马灵芝,施娇壮,戈文斌,等. miR-21 对牙周膜干细胞增殖及成骨分化的影响[J]. *口腔疾病防治*, 2020, 28(9): 569-574.
- [14] LIU X G, ZHANG Y, JU W F, *et al.* MiR-21 relieves rheumatoid arthritis in rats via targeting Wnt signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(3 suppl): 96-103.
- [15] HU S L, CHANG A C, HUANG C C, *et al.* Myostatin Promotes Interleukin-1 β Expression in Rheumatoid Arthritis Synovial Fibroblasts through Inhibition of miR-21-5p[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1747.
- [16] 董利阳. MicroRNA-21 参与类风湿性关节炎患者 Th17/Treg 细胞失衡的作用与机制[D]. 镇江:江苏大学,2015.
- [17] PETRASCA A, PHELAN J J, ANSBORO S, *et al.* Targeting

- bioenergetics prevents CD4 T cell-mediated activation of synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2020, 59(10): 2816-2828.
- [18] LORTHOLARY O, FERNANDEZ-RUIZ M, BADDLEY J W, *et al.* Infectious complications of rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis during targeted and biological therapies: a viewpoint in 2020[J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(12): 1532-1543.
- [19] CHEN S, BLIJRDORP I C, VAN MENS L J J, *et al.* Interleukin 17A and IL-17F Expression and Functional Responses in Rheumatoid Arthritis and Peripheral Spondyloarthritis[J]. *J Rheumatol*, 2020, 47(11): 1606-1613.
- [20] SONG B, LI X, XU Q, *et al.* Inhibition of BMP3 increases the inflammatory response of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(12): 12305-12323.
- [21] FANG L, XU X F, LU Y, *et al.* MicroRNA-495 attenuates proliferation and inflammatory response in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes through attenuating β -catenin pathway[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2020, 34(3): 837-844.
- [22] TANG J, YI S, LIU Y. Long non-coding RNA PVT1 can regulate the proliferation and inflammatory responses of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by targeting microRNA-145-5p[J]. *Hum Cell*, 2020, 33(4): 1081-1090.
- [23] ZHAO M, WANG Y, ZHAO Y, *et al.* Caspase-3 knockout attenuates radiation-induced tumor repopulation via impairing the ATM/p53/Cox-2/PGE2 pathway in non-small cell lung cancer [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(21): 21758-21776.
- [24] SMITH V M, DIETZ A, HENZ K, *et al.* Specific interactions of BCL-2 family proteins mediate sensitivity to BH3-mimetics in diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Haematologica*, 2020, 105(8): 2150-2163.
- [25] KVANSAKUL M, CARIA S, HINDS M G. The Bcl-2 family in host-virus interactions[J]. *Viruses*, 2017, 9(10): 290.
- [26] QU Y, ZHANG Y P, WU J, *et al.* Downregulated microRNA-135a ameliorates rheumatoid arthritis by inactivation of the phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling pathway via phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit 2[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 17663-17676.
- [27] 杨永杰,王宇蝶,符庆臻,等. 与神经系统疾病相关的 miRNA 研究进展[J]. *智慧健康*, 2020, 6(33): 31-32.
- (收稿日期:2021-10-27;修回日期:2022-08-05;编辑:刘灵敏)

(上接第 1606 页)

- [10] DAYDE D, TANAKA I, JAIN R, *et al.* Predictive and Prognostic Molecular Biomarkers for Response to Neoadjuvant Chemoradiation in Rectal Cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 573.
- [11] 王雯智,郑蕾,李虹. LncRNA PVT1 miR-30d 表达与上皮性卵巢癌患者化疗敏感性及其预后的关系[J]. *西部医学*, 2020, 32(5): 687-691.
- [12] XU Y D, SHANG J, LI M, *et al.* LncRNA DANCR accelerates the development of multidrug resistance of gastric cancer [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(7): 2794-2802.
- [13] LIU Y, CHEN L, YUAN H, *et al.* LncRNA DANCR Promotes Sorafenib Resistance via Activation of IL-6/STAT3 Signaling in Hepatocellular Carcinoma Cells[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13:1145-1157.
- [14] SHEN X, XUE Y, CONG H, *et al.* Circulating lncRNA DANCR as a potential auxiliary biomarker for the diagnosis and prognostic prediction of colorectal cancer[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(3): BSR20191481.
- [15] ASSANI G, ZHOU Y. Effect of modulation of epithelial-mesenchymal transition regulators Snail1 and Snail2 on cancer cell radiosensitivity by targeting of the cell cycle, cell apoptosis and cell migration/invasion[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(1): 23-30.
- [16] 郭亚,朱小东,曲颂,等. 鼻咽癌放射抗拒相关的信号通路[J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2011, 31(2): 167-171.
- [17] DOZIER C, MAZZOLINI L, CÉNAC C, *et al.* CyclinD-CDK4/6 complexes phosphorylate CDC25A and regulate its stability [J]. *Oncogene*, 2017, 36(26): 3781-3788.
- [18] GUO X, TIAN S, CAO P, *et al.* High Expression of PIGC Predicts Unfavorable Survival in Hepatocellular Carcinoma[J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2021, 8: 211-222.
- [19] BEROSKE L, VAN DEN WYNGAERT T, STROOBANTS S, *et al.* Molecular Imaging of Apoptosis: The Case of Caspase-3 Radiotracers[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(8): 3948.
- [20] 张子曦,王永顺,向洪聪,等. 丙泊酚激活线粒体凋亡通路诱导乳头状甲状腺癌 TPC-1 细胞凋亡和生长阻滞[J]. *西部医学*, 2021, 33(7): 976-981.
- (收稿日期:2021-11-21;修回日期:2022-08-24;编辑:刘灵敏)