

miR-200c-3p 通过靶向 Zeb1 调控骨关节炎小鼠模型中软骨细胞凋亡和炎症反应

韩楠¹ 乔晓峰¹ 朱晓文² 倪健²

(佳木斯大学附属第一医院 1. 骨一科; 2. 普外科, 黑龙江 佳木斯 154000)

【摘要】 目的 研究 miR-200c-3p 在骨关节炎(OA)中的作用及其下游的分子机制。方法 通过破坏内侧半月板的稳定性构建骨关节炎小鼠模型,采用脂多糖(LPS)处理小鼠原代软骨细胞构建骨关节炎细胞模型。采用 RT-qPCR 检测骨关节炎小鼠模型样本以及对对照组小鼠样本中 miR-200c-3p 的表达水平。采用 RT-qPCR 检测 LPS 处理前后小鼠原代软骨细胞中 miR-200c-3p 和 Zeb1 的表达水平变化。CCK-8 实验检测 miR-200c-3p 过表达对骨关节炎细胞模型增殖能力的影响;流式细胞术检测 miR-200c-3p 过表达对骨关节炎细胞模型凋亡水平的影响;酶联免疫吸附试验检测 miR-200c-3p 过表达对骨关节炎细胞模型中炎症因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)含量的影响。生物信息学分析 RNA pull down 实验和荧光素酶报告实验验证 miR-200c-3p 和下游靶基因相互作用。功能拯救实验验证 Zeb1 对 miR-200c-3p 作用的影响。**结果** miR-200c-3p 在 OA 小鼠关节软骨组织和 LPS 处理的软骨细胞中显著下调。Zeb1 在 LPS 处理的软骨细胞中显著上调。miR-200c-3p 上调显著抑制了脂多糖诱导的软骨细胞凋亡和炎症损伤。Zeb1 是 miR-200c-3p 的下游靶基因。Zeb1 过表达逆转 miR-200c-3p 过表达对骨关节炎小鼠模型中软骨细胞凋亡和炎症反应的影响。**结论** miR-200c-3p 通过靶向 Zeb1 抑制骨关节炎小鼠模型中软骨细胞凋亡并且缓解炎症反应,有助于发现骨关节炎治疗的有效靶点。

【关键词】 骨关节炎;miR-200c-3p;Zeb1;炎症反应

【中图分类号】 R329.2⁺5 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2022.12.008

MiR-200c-3p regulates chondrocyte apoptosis and inflammation in a mouse model of osteoarthritis by targeting Zeb1

HAN Nan¹, QIAO Xiaofeng¹, ZHU Xiaowen², NI Jian²

(1. Department of Osteology, The First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154000, Heilongjiang, China;
2. Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154000, Heilongjiang, China)

【Abstract】 Objective To investigate the role of miR-200c-3p in osteoarthritis (OA) and explore its downstream molecular mechanism. **Methods** OA animal model was established through destabilizing the medial meniscus. OA cell model was established through treating primary mouse chondrocytes with LPS. RT-qPCR was used to measure the expression level of miR-200c-3p in OA animal model and control animal model. The expression levels of miR-200c-3p and Zeb1 in primary mouse chondrocytes treated with or without LPS were detected by RT-qPCR. CCK-8 assay was applied to measure the proliferation of OA cells with miR-200c-3p overexpression. Flow cytometry was performed to analyze the apoptotic rate of OA cells after miR-200c-3p was overexpressed. ELISA assay was conducted to examine the concentration of inflammatory factors (IL-1 β , IL-6, TNF- α) in OA cells with miR-200c-3p overexpression. Bioinformatics analysis, RNA pull down and luciferase reporter assay were conducted to demonstrate the interaction between miR-200c-3p and its downstream target. Functional rescue assays were used to verify the effect of Zeb1 on the functional role of miR-200c-3p. **Results** MiR-200c-3p was significantly down-regulated in OA mice articular cartilage tissues and lipopolysaccharide (LPS)-treated primary mouse chondrocytes. Zeb1 was up-regulated in LPS-treated primary mouse chondrocytes. Upregulation of miR-200c-3p significantly inhibited lipopolysaccharide induced chondrocyte apoptosis and inflammatory injury.

通信作者: 乔晓峰, E-mail: baqiao9328510832@163.com

引用本文: 韩楠, 乔晓峰, 朱晓文, 等. miR-200c-3p 通过靶向 Zeb1 调控骨关节炎小鼠模型中软骨细胞凋亡和炎症反应[J]. 西部医学, 2022, 34

(12):1760-1765. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2022.12.008

Zeb1 is the downstream target of miR-200c-3p. Zeb1 overexpression reversed the effect of miR-200c-3p overexpression on chondrocyte apoptosis and inflammation in an OA mouse model. **Conclusion** MiR-200c-3p suppresses chondrocyte apoptosis and attenuates inflammation in OA mouse model by targeting Zeb1, which contributes to finds effective therapeutic target for OA.

【Key words】 Osteoarthritis; miR-200c-3p; Zeb1; Inflammatory response

骨关节炎(Osteoarthritis, OA)是最常见的一种关节炎,据估计全球约有 2.4 亿人受到骨关节炎的影响^[1]。老年人通常开始出现骨性关节炎症状,并伴随这种慢性残疾生活,严重影响生活质量。由于医疗保健和社会支出,骨关节炎的财政支出也给患者个人和保险公司带来了沉重负担^[2]。因此,全面阐明骨关节炎疾病进程的分子机制对寻找新的治疗方法具有重要意义。各种病理改变可导致骨关节炎症状,如关节软骨和韧带的退化、滑膜炎、骨赘形成或关节囊肥大。软骨细胞是关节软骨的主要常驻细胞,负责产生和维持软骨基质,其失调是骨关节炎发病机制中最常见的相关因素之一^[3]。细胞凋亡增加、细胞增殖能力减弱、软骨细胞数量和活力降低以及软骨细胞炎症通常参与了骨关节炎的进展^[4]。因此,充分了解软骨细胞与细胞凋亡和炎症相关的调控机制有助于寻求更有效的骨关节炎治疗策略。microRNAs (miRNAs) 是内源性 (21~23 个核苷酸) 的非编码 RNA,能够通过其 mRNA 序列的 3' UTR 区域互补配对控制靶 mRNA 的翻译从而负向调控靶 mRNA 的表达^[5]。miRNA 的异常调控参与了多种疾病的发病机制,包括肿瘤发生、神经系统疾病和骨关节炎^[6]。miR-200c-3p 已被证明在骨关节炎样本中低表达^[7],但其在骨关节炎中的具体功能和调控机制仍有待发掘。本研究旨在评估 miR-200c-3p 在骨关节炎进展中对软骨细胞凋亡和炎症反应的调节作用及其下游调控机制。

1 材料与方法

1.1 实验试剂与仪器 胶原酶 D(罗氏),1%青霉素/链霉素(武汉益普生物科技有限公司),Lipofectamine™ 3000(美国英杰公司),miR-200c-3p 模拟物(上海吉玛制药技术有限公司),脂多糖(上海西格玛奥德里奇贸易有限公司),CO₂ 恒温细胞培养箱(上海朗喜工业科技有限公司),miRNeasy Mini 试剂盒(德国 QIAGEN 公司),miScript 逆转录试剂盒(德国 QIAGEN 公司),C1 磁珠(美国赛默飞世尔生物技术有限公司),pmirGLO 双荧光素酶报告载体(上海吉凯基因医学科技股份有限公司),双荧光素酶报告检测系统(北京普洛麦格生物技术有限公司),ELISA 试剂盒(美国赛默飞世尔生物技术有限公司),Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司),流式细

胞仪(美国贝克曼库尔特有限公司),酶标仪(美谷分子仪器上海有限公司)。

1.2 实验动物及 OA 模型的建立 从中国科学院上海实验动物中心获得 30 只雄性小鼠 C57BL/6 (8 周,体重 20~25 g),在一个特定的实验动物设施的无病原体的微隔离笼子里饲养,温度为 22~24℃,可自由获得食物和水。小鼠随机分为对照、Sham、OA 组,每组 10 只。如前所述,通过破坏内侧半月板的稳定性构建小鼠 OA 模型^[8]。实验所涉及的所有程序均经佳木斯大学附属第一医院批准。

1.3 小鼠软骨细胞培养 小鼠原代关节软骨细胞从膝关节组织中分离^[9]。用颈椎脱位法对 8 周大的雄性小鼠实施处死,并小心地从胫骨平台、股骨头和股骨髁中取出关节软骨组织,然后用磷酸盐缓冲液冲洗。切断关节软骨,用胶原酶 D (3 mg/mL) 室温下过夜不旋转。过滤消化液,将细胞悬浮于 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 培养基中,加入 10% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素。将细胞放置于培养箱中培养(条件设置为 5% CO₂, 37℃)。细胞传代 2~3 周,培养至 70~80% 合流。

1.4 细胞转染 将软骨细胞用 100 ng/mL 脂多糖(LPS)处理细胞 6 h,诱导炎症反应。将 miR-200c-3p 模拟物(miR-200c-3p mimics)和阴性对照(NC mimics),以及 pcDNA3.1/Zeb1 和 pcDNA3.1 空载(对照组)分别添加到培养基中,使用 Lipofectamine™ 3000 转染培养的软骨细胞。48 h 后,收获细胞,用于后续实验。

1.5 检测方法

1.5.1 实时定量 PCR 法检测基因表达 使用 RNeasy 和 miRNeasy Mini 试剂盒分离总 RNA。用 miScript 逆转录试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA。使用 SYBR Green qPCR 检测试剂盒(Applied Biosystems)进行 qPCR。将 GAPDH 和 U6 分别作为 miR-200c-3p 和 Zeb1 的内参基因。采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 RNA 的相对表达水平。

1.5.2 CCK-8 将细胞悬液(1×10⁵/孔)置于 96 孔板中,每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶剂。将培养板在培养箱中孵育 3 h,采用分光光度计计算 450 nm 处的吸光度以检测细胞增殖能力。

1.5.3 流式细胞术分析 转染后的细胞经收集用于流式细胞术。根据制造商说明书, Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒双染色后, 使用流式细胞仪检测细胞凋亡。所有实验均为 3 个重复。

1.5.4 酶联免疫吸附试验(ELISA) 培养上清液和滑膜液中的蛋白质水平通过 ELISA 试剂盒按照制造商的协议进行测定。

1.5.5 RNA pull down 实验 用生物素标记 miR-200c-3p 野生型和突变型探针, 并与 C-1 磁珠在 25℃ 孵育 2 h 形成探针吸附的磁珠。将细胞裂解液与探针 4℃ 下孵育过夜。洗脱后, 将磁珠吸附的 RNA 混合物洗脱, 采用 RNeasy Mini 试剂盒提取 RNA 后进行 RT-qPCR 分析, 计算 RNA 丰度。

1.5.6 双荧光素酶报告基因实验 扩增 Zeb1 的 3' UTR 片段, 该片段包含预测的 miR-200c-3p 结合位点, 并克隆到双荧光素酶报告载体 pmirGLO 中。同时构建了 Zeb1 3' UTR 突变体荧光素酶报告基因。使用 Lipofectamine™ 3000 试剂将这三个载体与 miR-200c-3p 模拟物或阴性对照模拟物共转染到细胞中。转染 48 h 后收集细胞。使用双荧光素酶报告系统检测荧光素酶活性。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 21.0 软件包进行分析, 计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 以 *t* 检验比较两组间数据的差异, 方差分析检验多组间数据差异。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-200c-3p 在 OA 小鼠模型中低表达 RT-qPCR 结果表明, 与对照组和 Sham 组小鼠相比, OA 小鼠关节软骨中 miR-200c-3p 的表达明显下调 ($P < 0.05$), 见图 1。

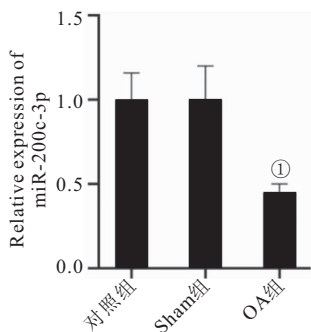


图 1 miR-200c-3p 在 OA 小鼠模型中低表达

Figure 1 miR-200c-3p in the low expression of OA in mice model

注: 与对照组、Sham 组比较, ① $P < 0.05$

2.2 过表达 miR-200c-3p 保护小鼠软骨细胞免受脂多糖诱导的损伤 我们在体外构建骨关节炎细胞模

型。RT-qPCR 检测发现 LPS 处理后的软骨细胞中 miR-200c-3p 的表达显著下调(图 2A)。为了进一步验证 miR-200c-3p 对骨关节炎细胞生物学行为的影响, 我们在 LPS 诱导的细胞中转染 miR-200c-3p mimics 增加 miR-200c-3p 在 LPS 处理后的软骨细胞中的表达(图 2B)。CCK-8 实验结果表明, LPS 诱导软骨细胞活性降低, 而 miR-200c-3p mimics 逆转了 LPS 处理导致的软骨细胞活力的下降(图 2C)。此外, LPS 处理后, 软骨细胞的凋亡显著增多, 而过表达 miR-200c-3p 显著抑制脂多糖诱导的细胞凋亡(图 2D)。随后, 我们采用 ELISA 试剂盒检测发现 LPS 诱导软骨细胞中促炎细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量增加, 而过表达 miR-200c-3p 显著降低了 LPS 处理所导致的促炎细胞因子的产生(图 2E)。

2.3 Zeb1 是 miR-200c-3p 的靶基因 为了进一步研究 miR-200c-3p 下游潜在的分子机制, 我们使用包括 microT 和 RNA22 在内的在线生物信息学分析工具确定了 6 个 miR-200c-3p 的潜在的靶 mRNA (图 3A)。RT-qPCR 分析结果显示, miR-200c-3p 过表达后, 只有 Zeb1 的表达水平显著降低(图 3B)。此外, 我们发现 OA 小鼠关节软骨中以及 LPS 处理后的软骨细胞中 Zeb1 的表达明显上升(图 3C)。为了进一步探究 miR-200c-3p 和 Zeb1 之间的关系, 我们进行了 RNA pull down 实验。结果显示, Zeb1 在野生型的 miR-200c-3p 探针下拉的 RNA 复合物中显著富集, 而在突变型的 miR-200c-3p 探针下拉的复合物中无显著富集(图 3D)。另外, 我们在 Zeb1 的 3' UTR 区域预测了 miR-200c-3p 的结合位点(图 3E)。为了验证这一作用位点, 我们将野生型或突变型的 Zeb1 3' UTR 片段克隆到荧光素酶报告基因载体中, 然后将载体与 miR-200c-3p mimics 或 NC mimics 共转染到细胞中。过表达 miR-200c-3p 显著降低了野生型的荧光素酶活性, 但对突变型的活性无显著影响, 表明 miR-200c-3p 靶向 Zeb1 3' UTR(图 3F)。

2.4 miR-200c-3p 通过调控 Zeb1 保护小鼠软骨细胞免受脂多糖诱导的损伤 我们在 LPS 处理的软骨细胞中过表达 Zeb1, RT-qPCR 结果表明转染了 pcDNA3.1/Zeb1 的细胞中 Zeb1 表达显著高于转染 pcDNA3.1 空载的细胞(图 4A)。随后进行拯救实验验证 miR-200c-3p/Zeb1 轴对骨关节炎软骨细胞功能的影响。CCK-8 实验结果表明, 在 LPS 处理的软骨细胞中, miR-200c-3p 过表达导致的细胞活力的减少以及细胞凋亡的增加在共转染 pcDNA3.1/Zeb1 后回升至初始水平(图 4B~D)。此外, Zeb1 上调可以逆转 miR-200c-3p 过表达抑制的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的产生(图 4E)。

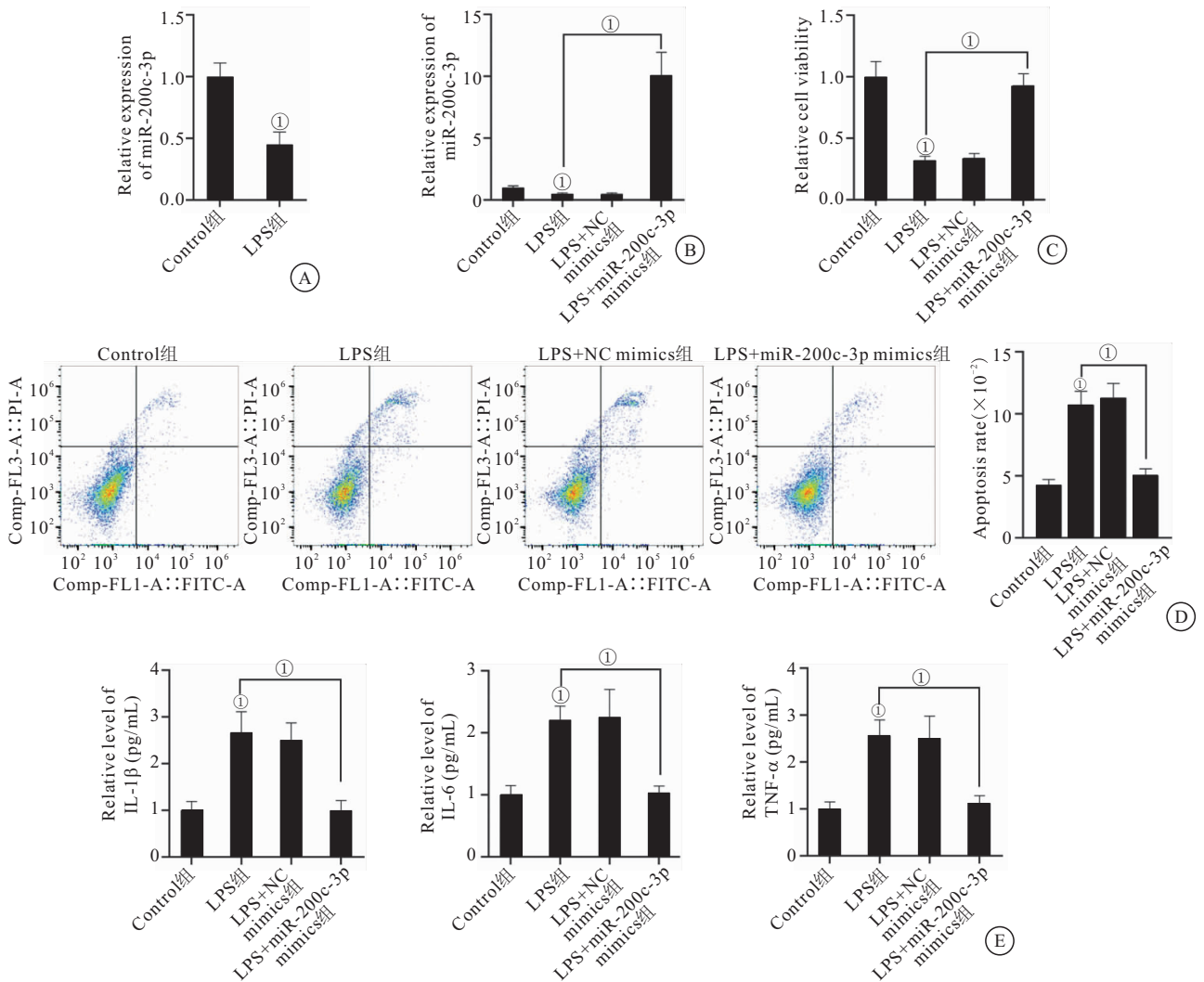


图 2 过表达 miR-200c-3p 保护小鼠软骨细胞免受脂多糖诱导的损伤

Figure 2 Overexpression of miR-200c-3p to protect cartilage cells from damage induced by lipopolysaccharide in mice

注: A. RT-qPCR 检测 LPS 处理和 Control 组软骨细胞中 miR-200c-3p 的水平; B. RT-qPCR 检测 Control、LPS、LPS+NC mimics 和 LPS+miR-200c-3p mimics 组小鼠关节软骨细胞中 miR-200c-3p 的水平; C. CCK-8 法检测 LPS 处理后, miR-200c-3p 过表达导致的软骨细胞增殖能力的变化; D. 流式细胞术检测 LPS 处理后, miR-200c-3p 过表达导致的软骨细胞凋亡的变化; E. ELISA 检测小鼠原代软骨细胞上清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 在 Control、LPS、LPS+NC mimics 和 LPS+miR-200c-3p mimics 组水平。Ⓛ $P < 0.05$

3 讨论

越来越多的证据表明, miRNAs 是人类疾病进展过程的重要参与者^[10-15]。在骨关节炎中, miRNA-335-5p 被报道能够通过激活骨关节炎中的自噬来缓解软骨细胞炎症^[16]。miR-29b-3p 通过靶向 PGRN 促进软骨细胞凋亡, 促进骨关节炎的发生发展^[17]。mi-croRNA-455-3p 通过直接靶向 PAK2 促进 TGF- β 信号转导并抑制骨关节炎的发展^[18]。据报道, miR-200c-3p 的异常表达存在于不同类型的疾病中, 并调控炎症、血管生成和肿瘤发生等许多重要的生物学过程^[19-23]。有研究报道 miR-200c-3p 在骨关节炎患者样本中低表达^[7]。然而, miR-200c-3p 在骨关节炎细胞模型中的作用和潜在机制仍然有待研究。本研究证

明了 miR-200c-3p 在骨关节炎小鼠软骨中表达下调, 并且发现其在 LPS 诱导的骨关节炎细胞模型中也呈现显著下调。我们将 miR-200c-3p 模拟物转染进骨关节炎细胞模型中, 发现过表达 miR-200c-3p 可以保护软骨细胞免受 LPS 诱导的细胞凋亡和炎症损伤。

Zeb1 是已知的诱导上皮间质转化的转录调控因子, 在正常的生理和病理过程中都起着重要的作用^[24]。已有报道显示内皮细胞 Zeb1 促进血管生成依赖的骨形成并逆转骨质疏松症^[25]。Zeb1 可作为 mi-croRNA-708 靶基因共同参与调控乙醇诱导的肝脂质积累和炎症反应^[26]。然而, Zeb1 与 miR-200c-3p 之间的关系仍有待进一步研究。本研究首先通过生物信息学分析工具筛选发现 Zeb1 是 miR-200c-3p 潜在的

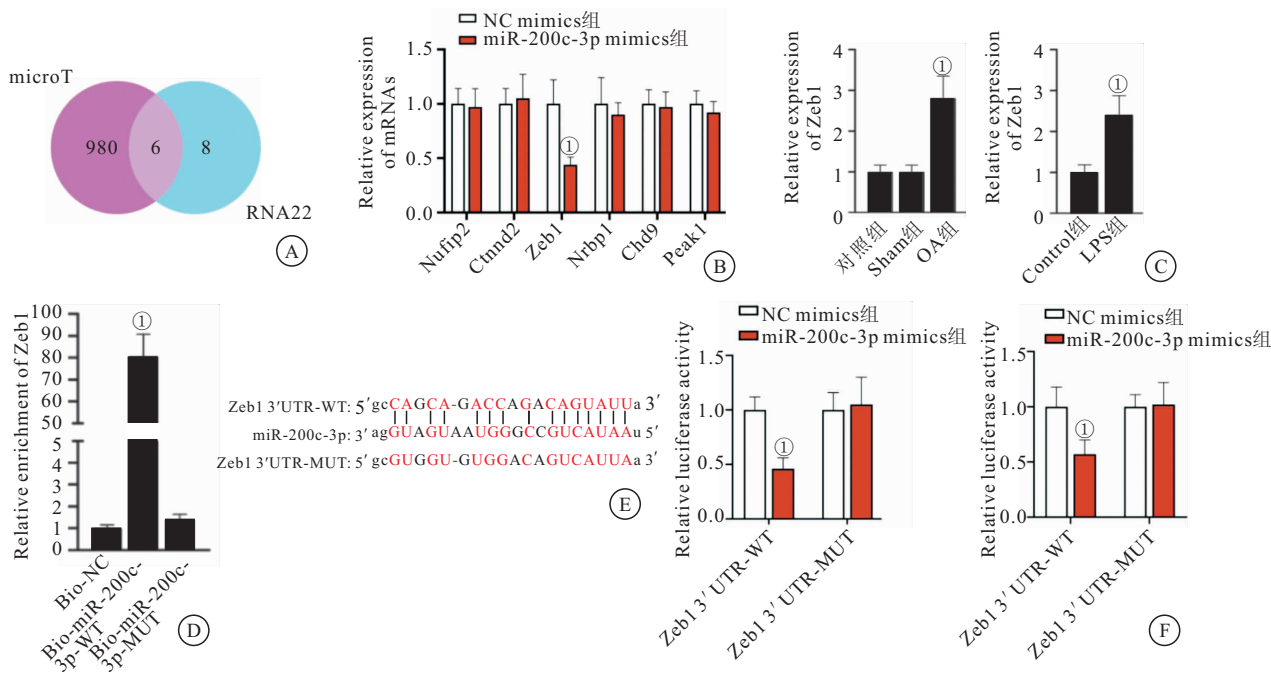


图 3 Zeb1 是 miR-200c-3p 的靶基因

Figure 3 Zeb1 is miR-200c-3p target genes

注: A. microT 和 RNA22 在内的在线工具进行生物信息学预测 6 个 miR-200c-3p 的潜在的 mRNAs; B. RT-qPCR 检测 miR-200c-3p 过表达对 6 个 mRNAs 表达的影响; C. RT-qPCR 检测 OA 小鼠、假手术小鼠和对照小鼠关节软骨组织中 Zeb1 的水平以及 LPS 处理和 Control 组软骨细胞 Zeb1 的水平; D. RNA pull down 实验验证 Zeb1 和 miR-200c-3p 结合; E. Zeb1 3' UTR 和 miR-200c-3p 的结合位点; F. 荧光素酶报告基因实验验证 Zeb1 3' UTR 和 miR-200c-3p 的结合。① $P < 0.05$

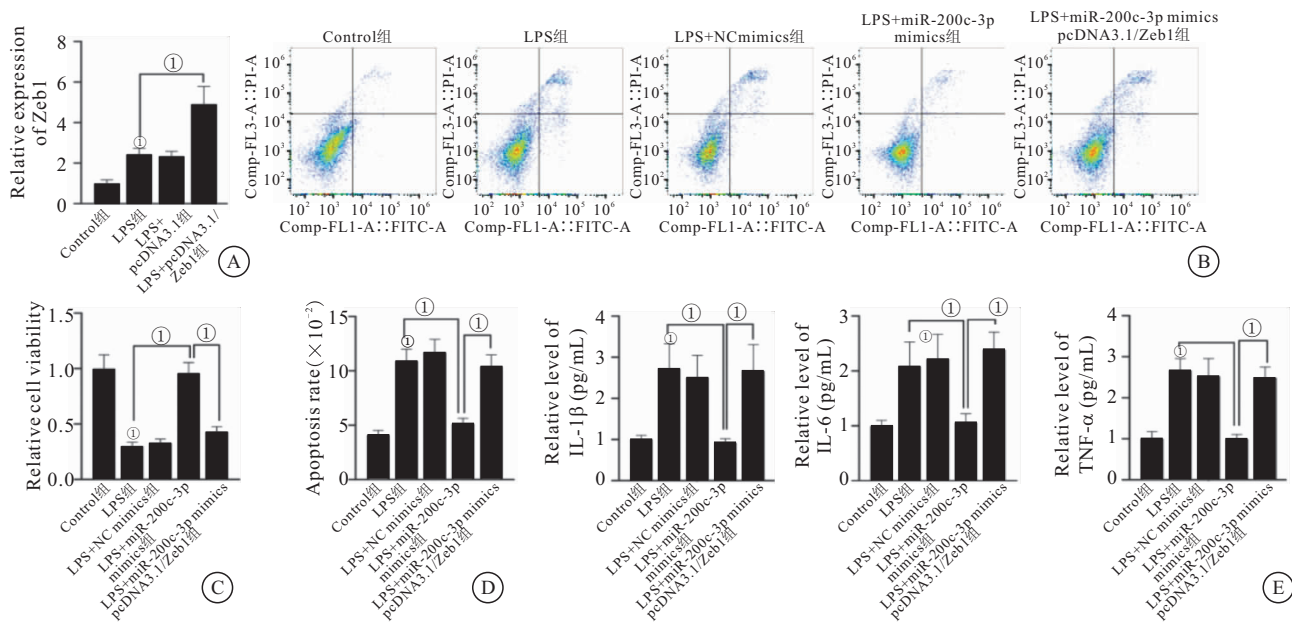


图 4 miR-200c-3p 通过调控 Zeb1 保护小鼠软骨细胞免受脂多糖诱导的损伤

Figure 4 miR-200c-3p through regulating Zeb1 protect cartilage cells from damage induced by lipopolysaccharide in mice

注: A. RT-qPCR 检测 Control 组、LPS、LPS+pcDNA3.1 和 LPS+pcDNA3.1/Zeb1 组小鼠关节软骨组织中 Zeb1 的水平; B. CCK-8 法检测 LPS 处理后, 不同分组的软骨细胞增殖; C. LPS 处理后, 不同分组的软骨细胞活性; D. 流式细胞分析检测 LPS 处理后, 不同分组的软骨细胞凋亡; E. ELISA 检测不同分组小鼠原代软骨细胞上清中 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的水平。① $P < 0.05$

靶基因。此外, 我们确认 Zeb1 在骨关节炎软骨和 LPS 诱导的软骨细胞中显著上调。通过 RNA pull

down 实验和荧光素酶报告实验, 我们验证了 miR-200c-3p 能够靶向 Zeb1 的 3' UTR。最后通过功能拯

救实验,我们发现 Zeb1 能够参与 miR-200c-3p 调控的骨关节炎软骨细胞增殖、凋亡和炎症反应。这揭示了 miR-200c-3p 能够靶向 Zeb1 调节炎症信号来保护软骨细胞。

4 结论

本研究表明 miR-200c-3p 直接靶向 Zeb1 的 3' UTR 结合,保护软骨细胞免受脂多糖诱导的炎症损伤,为发掘骨关节炎新的治疗靶点提供了有价值的见解。

【参考文献】

[1] 邱贵兴. 骨关节炎流行病学和病因学新进展[J]. 继续医学教育, 2005,19(7):68-69.

[2] 徐卫东,吴岳嵩,张春才. 骨关节炎的诊断与治疗[M]. 上海:上海第二军医大学出版社,2004.

[3] 李荣亨. 骨关节炎发病机制研究进展[C]//. 全国中西医结合风湿病研究进展学习班.

[4] 袁普卫,杨威,康武林,等. 骨性关节炎发病机制研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(7):5.

[5] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell,2004,23,116(2):281-297.

[6] 林子洪. 骨关节炎微小 RNA 的研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2009, 26(6): 811-812.

[7] LAI Z, CAO Y. Plasma miR-200c-3p, miR-100-5p, and miR-1826 serve as potential diagnostic biomarkers for knee osteoarthritis: Randomized controlled trials[J]. Medicine (Baltimore), 2019,98(51):e18110.

[8] GLASSON S S, BLANCHET T J, MORRIS E A. The surgical destabilization of the medial meniscus (DMM) model of osteoarthritis in the 129/SvEv mouse [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2007,15(9):1061-1069.

[9] GOSSET M, BERENBAUM F, THIRION S, et al. Primary culture and phenotyping of murine chondrocytes[J]. Nat Protoc,2008,3(8):1253-1260.

[10] 陈民彪,蔡仁中,黄明芳,等. miR-16-5p 靶向 PTEN/PI3K/AKT 信号通路对非小细胞肺癌细胞活性和迁移能力的影响[J]. 西部医学, 2022,34(1): 16-20.

[11] 蒲举. miR-20a-5p 通过下调 BMP2 促进人脑微血管内皮细胞增殖和抑制凋亡[J]. 西部医学, 2021,33(12): 1747-1752.

[12] 谷丽娜,桑梅香,刘思桦,等. miRNA-26b-3p 通过靶向 STAT3 调控食管鳞状细胞癌细胞的增殖和迁移[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2021,28(12): 1151-1159.

[13] 杨瑞,宁婧,景丽娟,等. miRNA-495 靶向 STYX 调节 MLL-

AF9 的急性髓系白血病细胞的增殖和凋亡[J]. 第三军医大学学报, 2021, 43(22): 2407-2413.

[14] 齐亚莉,吴嘉慧;李忠起,等. miRNA-210 通过 HIF-1/Notch1 信号通路调控乏氧乳腺癌干细胞辐射抗拒的作用[J]. 国际老年医学杂志, 2021, 42(6): 325-330.

[15] 刘博强,张伟宁,忽海洋. miRNA-26a-5p 靶向调控蛋白酪氨酸磷酸酶基因对冠心病模型大鼠主动脉内皮细胞炎症损伤的影响[J]. 陕西医学杂志, 2021, 50(11): 1349-1353.

[16] ZHONG G, LONG H, MA S, et al. miRNA-335-5p relieves chondrocyte inflammation by activating autophagy in osteoarthritis[J]. Life Sci, 2019,226:164-172.

[17] CHEN L, LI Q, WANG J, et al. MiR-29b-3p promotes chondrocyte apoptosis and facilitates the occurrence and development of osteoarthritis by targeting PGRN[J]. J Cell Mol Med,2017, 21(12):3347-3359.

[18] HU S, ZHAO X, MAO G, et al. MicroRNA-455-3p promotes TGF- β signaling and inhibits osteoarthritis development by directly targeting PAK2[J]. Exp Mol Med,2019,51(10):1-13.

[19] DU Y, CHI X, AN W. Downregulation of microRNA-200c-3p reduces damage of hippocampal neurons in epileptic rats by up-regulating expression of RECK and inactivating the AKT signaling pathway[J]. Chem Biol Interact, 2019,307:223-233.

[20] 刘莹,刘海娟,黄志娟. miR-200a-3p 靶向转甲状腺素蛋白对妊娠高血压疾病滋养细胞生物学行为的影响[J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(1): 1-8.

[21] 厉广洲,徐继蕊,张丽丽. miR-200c-3p 靶向 XIAP 调控缺氧复氧诱导的心肌细胞凋亡[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(7): 572-577.

[22] 王成. miR-200a-3p 通过靶向调节 CBL1 蛋白表达参与肾细胞癌发生发展的分子机制研究[C]. 2017 年第五次世界中西医结合大会. 广州,2017.

[23] 曹娟,孙丽萍,安建红,等. miR-200c-3p 靶向 CCNE2 抑制肾母细胞瘤细胞增殖[J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(9): 1246-1252.

[24] ZHANG P, SUN Y, MA L. ZEB1: at the crossroads of epithelial-mesenchymal transition, metastasis and therapy resistance [J]. Cell Cycle,2015,14(4):481-487.

[25] FU R, LV W C, XU Y, et al. Endothelial ZEB1 promotes angiogenesis-dependent bone formation and reverses osteoporosis [J]. Nat Commun, 2020,11(1):460. doi: 10.1038/s41467-019-14076-3.

[26] HU S, LIU YM, CHEN C, et al. MicroRNA-708 prevents ethanol-induced hepatic lipid accumulation and inflammatory reaction via direct targeting ZEB1[J]. Life Sci, 2020,258:118147. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118147.

(收稿日期:2022-02-16;修回日期:2022-03-28;编辑:黎仕娟)