

卵巢癌组织中 DR-NM23 的表达及对细胞增殖和转移的影响

周红, 周江洪 (中南大学湘雅医学院附属株洲医院妇科, 湖南株洲 412000)

摘要: 目的 探究 DR-NM23 在卵巢癌组织中的表达及对细胞增殖和转移的影响。方法 收集卵巢癌肿瘤组织和癌旁组织各 68 例, 通过免疫组化染色检测 DR-NM23 表达水平, 分析绝经、肿瘤大小、分化程度、局部浸润、淋巴转移和远端转移与 DR-NM23 表达水平的相关性。在 SKOV3 细胞系中过表达、沉默 DR-NM23, 分别得到 DR-NM23 组和 SiDR-NM23 组, 与对照组 (NC 组) 相比, 评估各组增殖、迁移和侵袭能力, 以评估 DR-NM23 在卵巢癌组织中的作用机制。**结果** 卵巢癌组织中 DR-NM23 平均染色强度为 2.68 ± 0.75 , 低于癌旁组织 7.05 ± 2.05 , 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。卵巢癌组织中 DR-NM23 表达水平与是否绝经、肿瘤大小以及局部浸润无相关性, 差异均无统计学意义 ($\chi^2 = 0.418, 0.864, 2.915$, 均 $P > 0.05$)。低分化、出现淋巴转移和远端转移的组织中 DR-NM23 表达水平相对较低, 差异均具有统计学意义 ($\chi^2 = 6.678, 6.845, 8.215$, 均 $P < 0.05$)。SiDR-NM23 组细胞的 CCK-8 吸光度 (1.16 ± 0.18)、迁移距离百分比 ($88.58\% \pm 5.48\%$) 和侵袭细胞数 (207.26 ± 13.52 个) 高于 NC 组 ($0.68 \pm 0.11, 62.34\% \pm 2.15\%, 125.54 \pm 8.15$ 个), 而 DR-NM23 组 ($0.47 \pm 0.07, 45.12\% \pm 3.76\%, 59.57 \pm 5.02$ 个) 均低于 NC 组, 差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。**结论** DR-NM23 在卵巢癌组织中低表达, 可能具有抑制肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭的作用。

关键词: 卵巢癌; DR-NM23; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号: R737.31; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 01-114-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.01.023

Expression of DR-NM23 in Ovarian Cancer Tissue and Its Effect on Cell Proliferation and Metastasis

ZHOU Hong, ZHOU Jiang-hong (Department of Gynaecology, Zhuzhou Hospital Affiliated to Xiangya Medical College of Central South University, Hunan Zhuzhou 412000, China)

Abstract: Objective To explore the expression of DR-NM23 in ovarian cancer and its effect on cell proliferation and metastasis. **Methods** 68 cases of ovarian cancer tissues and adjacent tissues were collected clinically, and the DR-NM23 expression level was detected by immunohistochemistry, and the correlation of DR-NM23 expression level with menopause, tumor size, differentiation, local invasion, lymph node metastasis and distal metastasis was analyzed. Overexpression and silencing of DR-NM23 in SKOV3 cell line were used to obtain DR-NM23 group and Si-NM23 group, respectively. Compared with the control group (NC group), the proliferation, migration and invasion ability of each group were evaluated for the mechanism of DR-NM23 in ovarian cancer tissue. **Results** The average staining intensity of DR-NM23 in ovarian cancer tissue was (2.68 ± 0.75), which was lower than that in adjacent tissues (7.05 ± 2.05) with stastically significant difference ($P < 0.05$). Whether there was no correlation in menopause, tumor size and local invasion with the expression level of DR-NM23 in ovarian cancer tissue, the differences not were statistically significant ($\chi^2 = 0.418, 0.864, 2.915$, all $P > 0.05$). The expression level of DR-NM23 was lower in tissues with poor differentiation, lymph node metastasis and distant metastasis, the differences were statistically significant ($\chi^2 = 6.678, 6.845, 8.215$, all $P < 0.05$). The CCK-8 absorbance (1.16 ± 0.18), migration distance percentage ($88.58\% \pm 5.48\%$) and invasive cells (207.26 ± 13.52) of siDR-NM23 group was higher than that of NC group ($0.68 \pm 0.11, 62.34\% \pm 2.15\%, 125.54 \pm 8.15$), while DR-NM23 group ($0.47 \pm 0.07, 45.12\% \pm 3.76\%, 59.57 \pm 5.02$) was lower than that of NC group, the differences were stastically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** DR-NM23 was lowly expressed in ovarian cancer tissue, might has the effect of inhibiting the proliferation, migration and invasion of tumor cells.

Keywords: ovarian cancer; DR-NM23; proliferation; migration; invasion

卵巢癌是最致命的妇科恶性肿瘤, 由于早期症状缺乏特异性, 卵巢癌患者大多在疾病进展到晚期时才被诊断出, 这时卵巢癌已经累及腹腔腔或转移至其他器官^[1,2], 寻找有效的诊断和治疗卵巢癌的生物标志物具有重要意义。NM23 基因是一种与肿

瘤密切相关的基因, 目前研究主要集中在 NM23-H1 中, 有细胞实验和体外实验结果显示 NM23-H1 具有抑制卵巢癌转移的作用^[3]。DR-NM23 是 NM23 家族中的一员, 又被称为 NM23-H3 或 NME3, 是一种与肿瘤发生相关的蛋白^[4], 临床研究发现 DR-

NM23 的低表达与乳腺癌预后不良有关,提示 DR-NM23 的抑癌作用^[5]。一项荟萃分析提示 DR-NM23 与卵巢癌的分化程度和淋巴转移有关,但是 DR-NM23 与卵巢癌病理特点的关系和调控机制尚不清楚^[3]。

为探究 DR-NM23 在卵巢癌组织中的表达水平及对细胞增殖和转移的影响,本研究通过对比卵巢癌旁组织、肿瘤组织 DR-NM23 表达水平,并通过在卵巢癌细胞系中过表达、沉默 DR-NM23,研究 DR-NM23 在卵巢癌细胞中的生物学行为。

1 材料与方法

1.1 研究对象 随机选择 2018 年 6 月~2019 年 6 月间中南大学湘雅医学院附属株洲医院收治的卵巢癌患者 68 例,年龄 35~74 岁,中位年龄 51 岁,FIGO 分期 I, II, III, IV 分别为 10, 23, 24 和 11 例。收集肿瘤组织和癌旁组织标本保存于液氮中。纳入标准:①年龄 20~75 岁;②经过病理学活检或手术确诊为卵巢癌;③首次确诊。排除标准:①并发其他恶性肿瘤;②接受过放疗、化疗治疗。本次研究获得本院伦理委员会审批,所有患者和家属知情同意。

1.2 仪器与试剂 兔抗人 DR-NM23 (博奥森生物公司,中国),人卵巢癌细胞系 SKOV3 (ATCC 公司,美国),DMEM 培养基 (Invitrogen 公司,美国),DR-NM23 过表达和 DR-NM23 沉默质粒 (Thermo Fisher 公司,美国),Lipofectamine 2000 (Invitrogen 公司),细胞计数试剂盒-8 试剂盒 (Beyotime 生物技术有限公司,中国),Transwell 小室 (Becton Dickinson 公司,美国),逆转录和 SYBR Green PCR Master Mix qPCR 试剂盒 (Roche 公司,瑞士),Anti-DR-NM23 抗体 (Abcam, 美国),PVDF 膜 (Bio-Rad 公司,美国),倒置显微镜 (Olympus 公司,日本)。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化染色检测 DR-NM23 的表达:将样本组织脱水、透明后包埋至蜡块中,冷冻 20 min,切成 4 μ m 切片并在 65 $^{\circ}$ C 下烘烤 30 min。将切片经脱蜡、水化和抗原修复处理后加入 10% (m/v) 的 H₂O₂ 溶液,洗涤后加入兔抗人 DR-NM23 在 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min, PBS 缓冲液冲洗 3 次,每次 3 min。加入 100 μ l 增强酶标山羊抗兔 IgG 聚合物覆盖组织,室温孵育 60 min。滴加 DAB 显色 5~6 min 复染后使用苏木紫染色 20 min,然后脱水透明,封片后使用显微镜观察染色结果。通过半定量法分析染色强度和染色范围,二者相乘得到染色结果,总分为 0~12,先根据染色范围即阳性细胞所占百分比打分:<5% 为 0 分,5%~25% 为 1 分,25%~50% 为 2 分,

50%~75% 为 3 分,>75% 为 4 分;再根据染色强度打分:无色 0 分,浅黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分;9~12 分为强阳性(++),5~8 分为弱阳性(+),0~4 分为阴性(-),染色强度与染色范围的乘积为染色强度得分。

1.3.2 细胞分组和转染:培养的 SKOV3 细胞稀释后按 1×10^5 个/孔的密度接种于 12 孔板,将 SKOV3 细胞分为 NC 组、DR-NM23 组和 siDR-NM23 组,其中 DR-NM23 和 siDR-NM23 组利用 Lipofectamine 2000 按照说明书分别转染 DR-NM23 和 siDR-NM23 质粒,NC 组转染空载质粒作为阴性对照,转染 24 h 后收集细胞通过检测 DR-NM23 的 mRNA 和蛋白表达水平评估转染结果。

1.3.3 qPCR:SKOV3 细胞转染成功后收集细胞 RNA 样品,裂解后提取细胞总 RNA,使用 cDNA 逆转录试剂盒将 1 μ g RNA 合成 cDNA。然后使用 qPCR 试剂盒对合成的 cDNA 进行 qPCR 实验。以 GAPDH 作为内参,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析 DR-NM23 的 mRNA 表达水平。DR-NM23: F:5'-AAGCAGCTGGAAGGAACCAT-3', R:5'-GGTCGGGGATGGTAACACTG-3'; GAPDH: F:5'-GGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3', R:5'-CAAAGTTGTCATGGA-3'。

1.3.4 Western blot:SKOV3 细胞转染成功后收集细胞蛋白样品,组织样品经过充分研磨后通过 RIPA 收集总蛋白,取 50 μ g 蛋白经 SDS-PAGE 分离,转膜后用脱脂奶粉在室温下封闭 3h,加入 1:500 稀释的 anti-DR-NM23 在 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,用 TBST 清洗 5 次,每次 5 min,然后加入 1:5000 稀释的二抗, TBST 清洗 5 次,每次 5 min,通过 ECL 试剂盒进行蛋白曝光,GAPDH 为内参,使用 ImagePD 对蛋白条带的灰度进行定量分析。

1.3.5 CCK-8:培养的 SKOV3 细胞稀释后按 3×10^5 个/孔的密度接种于 96 孔板,利用 Lipofectamine 2000 按照说明书将质粒成功转染 48 h 后,用 PBS 清洗细胞 2 次,每孔细胞中加入 CCK-8 孵育 4h 显色,通过酶标仪检测 450 nm 处的吸光度 (A) 值。

1.3.6 细胞划痕实验检测细胞迁移:培养的 SKOV3 细胞消化后将 1×10^6 个/孔在 6 孔板中培养,细胞贴壁后且 90% 左右细胞汇合为单层细胞时,利用 200 μ l 移液枪头做垂直划痕,将划掉的细胞洗去。然后在相同条件下继续培养 48 h。在倒置显微镜下观察细胞划痕边缘移动距离的百分比,重复实验 3 次。

1.3.7 Transwell 检测细胞侵袭:在 Transwell 小室的上室加入基质胶,干燥后将培养的 SKOV3 细胞制成细胞悬液并取 100 μ l 加入 Transwell 上室,底

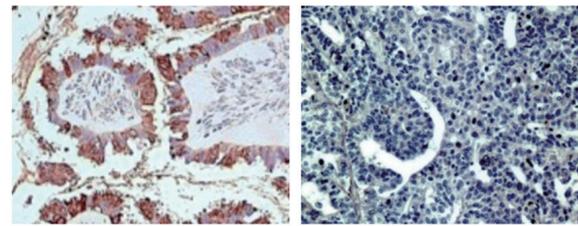
室加入完全培养基,常规条件下培养48 h使细胞侵入底室,取出小室用PBS清洗细胞2次,将侵入的细胞用4% (m/v)多聚甲醛固定,后用0.2% (m/v)结晶紫染色15 min,随机选取细胞视野利用显微镜观察并计数,分析细胞的侵袭情况。

1.4 统计学分析 SPSS 19.0 软件被应用于数据处理,计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料采用 % 表示,组间比较采用 χ^2 检验。多组间比较使用方差分析,事后检验采用 LSD- t 检验,不符合正态分布的则采用 Mann-Whitney U 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DR-NM23 在卵巢癌组织中的表达 见图 1。在 68 例癌旁组织中,DR-NM23 的平均染色强度为 7.05 ± 2.05 。卵巢癌组织中 DR-NM23 的平均染色强度为 2.68 ± 0.75 ,低于癌旁组织,差异具有统计

学意义 ($P < 0.05$)。



癌旁组织

卵巢癌组织

图 1 免疫组化染色检测 DR-NM23 蛋白

2.2 DR-NM23 表达率与一般资料和病理特点的相关性 见表 1。根据 DR-NM23 表达率将患者分为 DR-NM23 低表达组和 DR-NM23 高表达组,结果显示卵巢癌组织中 DR-NM23 表达率与是否绝经、肿瘤大小以及局部浸润无相关性 (均 $P > 0.05$),低分化、出现淋巴转移和远端转移的组织中 DR-NM23 表达水平相对较低,差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

表 1 DR-NM23 表达率与一般资料和病理特点间的相关性 [n(%)]

类别	n	低表达 (n=32)	高表达 (n=36)	χ^2	P
绝经	否	14(50.00)	14(45.00)	0.418	0.556
	是	18(45.00)	22(55.00)		
肿瘤大小	<4 cm	15(42.86)	20(57.14)	0.864	0.257
	≥ 4 cm	17(51.52)	16(48.48)		
分化程度	高分化	13(38.24)	21(61.76)	6.678	0.014
	低分化	19(55.88)	15(44.12)		
局部浸润	无	14(42.42)	19(57.58)	2.915	0.069
	有	18(51.43)	17(48.57)		
淋巴转移	无	11(36.67)	19(63.33)	6.845	0.011
	有	21(55.26)	17(44.74)		
远端转移	无	5(26.32)	14(73.68)	8.215	0.000
	有	27(55.10)	22(44.90)		

2.3 建立过表达、沉默 DR-NM23 细胞系 见表 2 和图 2。为分析 DR-NM23 对卵巢癌细胞生物学行为的影响,利用 SKOV3 细胞通过质粒转染分别构建了 DR-NM23 沉默和过表达的模型,以 GAPDH 表达水平为内对照,结果显示 DR-NM23 组的 mRNA 和蛋白表达水平高于 NC 组,而 siDR-NM23 组低于 NC 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),提示 DR-NM23 过表达、沉默细胞系建模成功。

表 2 各组 DR-NM23 mRNA, 蛋白相对表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	DR-NM23 mRNA	DR-NM23 蛋白
NC 组	1.05 ± 0.74	0.36 ± 0.51
DR-NM23 组	2.12 ± 0.83	0.83 ± 0.79
siDR-NM23 组	0.34 ± 0.26	0.24 ± 0.61

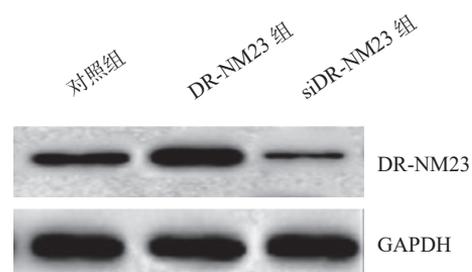


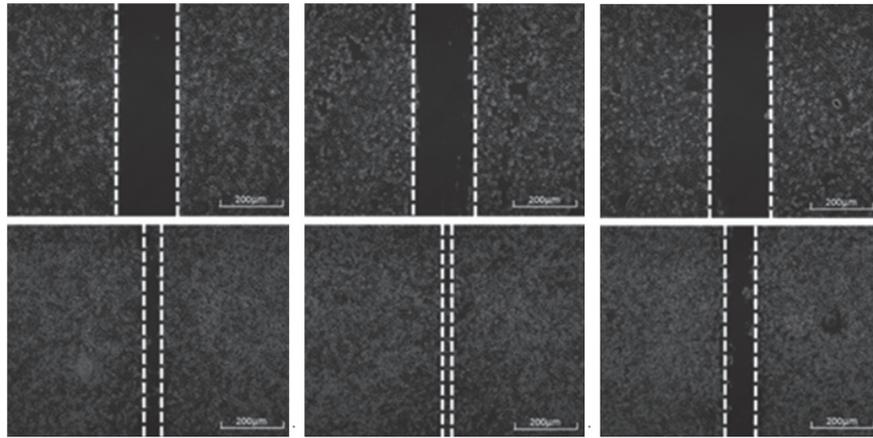
图 2 各组 DR-NM23 蛋白表达水平 (Western blot)

2.4 DR-NM23 对肿瘤细胞增殖能力的影响 通过 CCK-8 检测各组细胞的增殖能力,结果显示与 NC 组 (0.68 ± 0.11) 比较,siDR-NM23 组的吸光度 (1.16 ± 0.18) 相对较高,而 DR-NM23 组的吸光度 (0.47 ± 0.07) 相对较低,差异具有统计学意义

($P < 0.05$)。

2.5 DR-NM23 对肿瘤细胞迁移能力的影响 见图3。通过细胞划痕实验检测迁移,结果显示与NC组($62.34\% \pm 2.15\%$)比较,siDR-NM23组划痕

边缘移动距离的百分比($88.58\% \pm 5.48\%$)相对较高,而DR-NM23组的划痕边缘移动距离的百分比($45.12\% \pm 3.76\%$)相对较低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

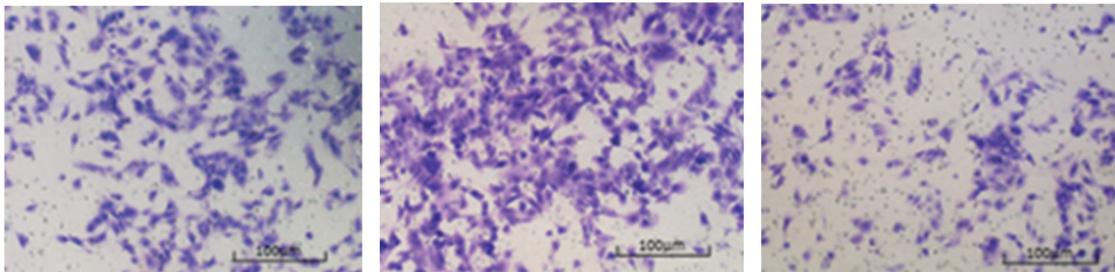


NC组 siDR-NM23组 DR-NM23组

图3 DR-NM23对肿瘤细胞迁移的影响

2.6 DR-NM23 对肿瘤细胞侵袭能力的影响 见图4。通过Transwell实验检测DR-NM23对迁移的影响,结果显示与NC组(125.54 ± 8.15 个)比较,siDR-NM23组的侵袭细胞数目(207.26 ± 13.52

个)相对较高,而DR-NM23组的侵袭细胞数目(59.57 ± 5.02 个)相对较低,差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。



NC组 DR-NM23组 siDR-NM23组

图4 DR-NM23对肿瘤细胞侵袭能力的影响

3 讨论

激素水平、遗传学因素和环境因素是影响卵巢癌患者预后的关键因素,寻找有效的卵巢癌的生物标志物和探究卵巢癌转移的机制具有重要意义^[6-7]。DR-NM23在合成三磷酸核苷中起主要作用,可促进ATP γ 磷酸酯转移到NDP β 磷酸酯上,可以通过抑制粒细胞分化和诱导凋亡,在正常的造血中起作用,在白血病细胞中,DR-NM23可以促进分化,而DR-NM23的降低会与白血病有关^[8-9]。另有研究表明DR-NM23在乳腺癌中具有抑癌作用。

为探究DR-NM23在卵巢癌组织中的表达水平及对肿瘤细胞增殖和转移的影响,本研究通过对比卵巢癌癌旁组织、肿瘤组织DR-NM23表达水平,并通过在卵巢癌细胞系中过表达、沉默DR-NM23,研究DR-NM23在卵巢癌肿瘤细胞的作用

机制。结果表明,DR-NM23在卵巢癌组织中表达水平低于癌旁组织,进一步的分析结果表明低分化、出现淋巴转移和远端转移的组织中DR-NM23表达率相对较低。过往的结果显示DR-NM23在胰腺癌组织中低表达,可能起到抑制胰腺癌的作用^[10]。马俊等^[11]的研究结果也显示前列腺癌患者尿液中的DR-NM23 mRNA水平显著降低,并与前列腺癌细胞低分化有关。这提示DR-NM23可能起到抑癌作用,卵巢癌细胞的分化和转移与DR-NM23水平降低有关。

本研究利用SKOV3细胞通过质粒转染分别构建DR-NM23沉默和过表达细胞系,结果显示DR-NM23蛋白水平下调后,细胞增殖、迁移和侵袭能力显著升高,而过表达DR-NM23蛋白水平得到相反的结果,提示DR-NM23可抑制肿瘤细胞增殖、

迁移和侵袭能力。研究指出, DR-NM23 的下调与结直肠癌的侵袭和转移密切相关, DR-NM23 的表达状态可能是结直肠癌患者的潜在预后因素^[12]。CHEN 等^[4]认为 DR-NM23 与葡萄糖代谢有关, 而葡萄糖代谢异常也是肿瘤细胞的特点之一, 提示 DR-NM23 在肿瘤发生中的关键作用。也有研究显示 DR-NM23 具有促进 TLR5/NF- κ B 通路的作用, 从而促进先天免疫参与介导的促炎并抑制肿瘤的生长^[13]。结合本研究结果, 提示 DR-NM23 可能具有抑制卵巢癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用。

综上所述, DR-NM23 在卵巢癌组织中低表达, 可能具有抑制肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭的作用。

参考文献:

- [1] JIM H L, LIN Huiyi, TYRER J P, et al. Common genetic variation in circadian rhythm genes and risk of epithelial ovarian cancer(EOC)[J]. *Journal of Genetics and Genome Research*, 2016, 2(2): 17-24.
- [2] MOTOHARA T, FUJIMOTO K, TAYAMA S, et al. CD44 variant 6 as a predictive biomarker for distant metastasis in patients with epithelial ovarian cancer[J]. *Obstetrics and Gynecology*, 2016, 127(6): 1003-1011.
- [3] FANG Jie, GUO Xueke, ZHENG Bo, et al. Correlation between NM23 protein overexpression and prognostic value and clinicopathologic features of ovarian cancer: a meta-analysis [J]. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2018, 297(2): 449-458.
- [4] CHEN C W, WANG H L, HUANG C W, et al. Two separate functions of NME3 critical for cell survival underlie a neurodegenerative disorder[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(2): 566-574.
- [5] 袁建良, 蒋晓波, 曹方, 等. DR-NM23 在浸润性乳腺癌中的表达及与临床病理参数的关系 [J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(23):3760-3763.
YUAN Jianliang, JIANG Xiaobo, CAO Fang, et al. Expression of DR-NM23 protein in invasive breast cancer and its relationship with clinicopathology parameters [J]. *Journal of Modern Oncology*, 2018, 26(23): 3760-3763.
- [6] RICCIARDELLI C, LOKMAN N A, PYRAGIUS C E, et al. Keratin 5 overexpression is associated with serous ovarian cancer recurrence and chemotherapy resistance[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(11): 17819-17832.
- [7] SU Li, LIU Mingmei. Correlation analysis on the expression levels of microRNA-23a and microRNA-23b and the incidence and prognosis of ovarian cancer[J]. *Oncology Letters*, 2018, 16(1): 262-266.
- [8] HOFF S, EPTING D, FALK N, et al. The nucleoside-diphosphate kinase NME3 associates with nephrophtosis proteins and is required for ciliary function during renal development[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(39): 15243-15255.
- [9] FARKAS Z, PETRIC M, LIU Xianghua, et al. The nucleoside diphosphate kinase NDK-1/NME1 promotes phagocytosis in concert with DYN-1/Dynammin [J]. *FASEB Journal*, 2019, 33(10): 11606-11614.
- [10] MOHD FAHEM M, RASOOL R U, AHMAD S M, et al. Par-4 mediated Smad4 induction in PDAC cells restores canonical TGF- β / Smad4 axis driving the cells towards lethal EMT[J]. *European Journal of Cell Biology*, 2020, 99(4): 151076.
- [11] 马俊, 蒋晓波, 张曦, 等. 尿 PCA3 在前列腺癌中的临床价值 [J]. *癌症进展*, 2019, 17(1):41-44, 69.
MA Jun, JIANG Xiaobo, ZHANG Xi, et al. The clinical value of urine prostate cancer antigen 3 in prostate cancer [J]. *Oncology Progress*, 2019, 17(1): 41-44, 69.
- [12] QU Lijuan, LIANG Li, SU Juanjuan, et al. Inhibitory effect of upregulated DR-NM23 expression on invasion and metastasis in colorectal cancer [J]. *European Journal of Cancer Prevention*, 2013, 22(6): 512-522.
- [13] FLENTIE K, GONZALEZ C, KOCHER B, et al. Nucleoside diphosphate kinase-3 (NME3) enhances TLR5-Induced NF κ B activation[J]. *Molecular Cancer Research*, 2018, 16(6): 986-999.

收稿日期: 2021-01-23

修回日期: 2021-07-24

(上接第 76 页)

- [17] 王方平, 张平安, 杨晓燕. 高迁移率蛋白 B1 介导 Toll 样受体信号通路的研究进展 [J]. *现代检验医学杂志*, 2017,32(3):162-164.
WANG Fangping, ZHANG Pingan, YANG Xiaoyan. Updates on the pathways of toll-like receptors mediated by HMGB1[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2017,32(3):162-164.
- [18] KROCK E, ROSENZWEIG D H, CURRIE J B, et al. Toll-like receptor activation induces degeneration of human intervertebral discs[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 17184.
- [19] KROCK E, MILLECAMP M, CURRIE J B, et al. Low back pain and disc degeneration are decreased following chronic toll-like receptor 4 inhibition in a mouse model[J]. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2018, 26(9): 1236-1246.
- [20] LIU Guangjie,ZHANG Qingrong,GAO Xuan, et al. MiR-146a ameliorates hemoglobin-induced microglial inflammatory response via TLR4/IRAK1/TRAF6 associated pathways[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2020, 14(1): 311.
- [21] PAPATHANASIOU I, BALIS C, TRACHANA V, et al. The synergistic function of miR-140-5p and miR-146a on TLR4-mediated cytokine secretion in osteoarthritic chondrocytes[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 522(3): 783-791.
- [22] CHEN X, GAO Q, ZHOU L, et al. MiR-146a alleviates inflammation of acute gouty arthritis rats through TLR4/MyD88 signal transduction pathway[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(21): 9230-9237.

收稿日期: 2021-05-08

修回日期: 2021-06-14