

# 强直性脊柱炎模型小鼠踝关节组织和临床患者 PBMC 中 miR-142-5p, SOCS1 mRNA 表达及与免疫功能分析研究

严鸣光, 方 晓, 李汶轩, 王 可, 殷卫兵 (商丘市第一人民医院检验科, 河南商丘 476100)

**摘要:** 目的 探究强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 模型小鼠和临床患者外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 中微小 RNA-142-5p(miR-142-5p), 细胞因子信号转导抑制因子 1 (suppressor of cytokine signaling 1, SOCS1) mRNA 表达及其对免疫功能的影响。方法 通过实时荧光定量 (quantitative real time PCR, qRT-PCR) 检测 2022 年 1 月~2023 年 3 月商丘市第一人民医院收治的 30 例确诊的 AS 患者 (患者组) 和 30 例健康体检者 (健康组) 的 PBMC 中 miR-142-5p 和 SOCS1 mRNA 水平。采用牛蛋白聚糖联合完全弗氏佐剂诱导 AS 小鼠模型, 然后将小鼠分为对照组、模型组、阴性组和拮抗剂组。对照组和模型组小鼠尾静脉注射生理盐水, 阴性组和拮抗剂组小鼠分别尾静脉注射 NC-antagomir 和 miR-142-5p-antagomir。治疗 2 周后, 分别评估各组小鼠的关节炎症评分。通过苏木精伊红 (hematoxylin eosin, HE) 染色评价踝关节形态。采用 ELISA 法检测小鼠血清中 Th1 细胞因子干扰素  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、Th2 细胞因子白细胞介素-4 (IL-4)、Th17 细胞因子白细胞介素-17 (IL-17) 和 Treg 细胞因子叉头盒蛋白 P3 (FOXP3) 的表达水平。通过 qRT-PCR 和 Western blot 检测 PBMC 和踝关节组织中 miR-142-5p, SOCS1, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 和 FOXP3 的 mRNA 和蛋白表达水平。结果 与健康组比较, 患者组 PBMC 中 miR-142-5p 水平升高 ( $3.03 \pm 0.99$  vs  $1.00 \pm 0.21$ ), SOCS1 mRNA 水平降低 ( $0.41 \pm 0.09$  vs  $1.00 \pm 0.18$ ), 差异具有统计学意义 ( $t=10.997, 15.956$ , 均  $P<0.001$ )。与对照组比较, 模型组小鼠踝关节组织中 miR-142-5p 水平 ( $4.00 \pm 0.52$  vs  $1.00 \pm 0.04$ ) 升高, IFN- $\gamma$  和 IL-17 的 mRNA 和蛋白水平均升高, SOCS1, IL-4 和 FOXP3 的 mRNA 和蛋白水平均降低, 差异具有统计学意义 ( $t=23.356, 31.420, 48.056, 47.224, 38.035, 29.007, 54.183, 28.123, 55.155, 26.758, 45.346$ , 均  $P<0.05$ )。关节炎症评分升高 ( $7.83 \pm 0.94$  vs  $0.00 \pm 0.00$ ,  $t=22.212, P<0.05$ ), 踝关节结构破坏明显; 血清中 IFN- $\gamma$ , IL-17 水平以及 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值 ( $0.81 \pm 0.08$  vs  $2.08 \pm 0.33$ ) 和 IL-17/FOXP3 比值 ( $0.41 \pm 0.03$  vs  $1.27 \pm 0.10$ ) 均升高, 差异具有统计学意义 ( $t=15.382, 35.779, 15.412, 35.130$ , 均  $P<0.05$ )。与阴性组比较, 拮抗剂组小鼠踝关节组织中 miR-142-5p 水平 ( $1.47 \pm 0.10$  vs  $3.89 \pm 0.33$ ) 降低, IFN- $\gamma$  和 IL-17 的 mRNA 和蛋白水平均降低, SOCS1, IL-4 和 FOXP3 的 mRNA 和蛋白水平均升高, 差异具有统计学意义 ( $t=18.846, 22.969, 43.454, 32.617, 23.259, 20.881, 41.832, 11.994, 32.977, 15.190, 35.834$ , 均  $P<0.05$ )。关节炎症评分降低 ( $7.42 \pm 1.24$  vs  $2.75 \pm 0.75$ ,  $t=13.233, P<0.05$ ), 踝关节形态明显改善; 血清中 IFN- $\gamma$ , IL-17 水平以及 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值 ( $1.22 \pm 0.11$  vs  $1.91 \pm 0.19$ ) 和 IL-17/FOXP3 比值 ( $0.69 \pm 0.05$  vs  $1.23 \pm 0.12$ ) 均降低, 差异具有统计学意义 ( $t=8.688, 22.972, 8.377, 22.007$ , 均  $P<0.05$ )。结论 miR-142-5p 在 AS 中高表达, 使用拮抗剂下调 miR-142-5p 可能通过上调 SOCS1 进而降低 Th1/Th2 和 Th17/Treg 比值, 从而改善 AS 小鼠的免疫平衡并抑制 AS 的进展。

**关键词:** 强直性脊柱炎; 微小核糖核酸-142-5p; 细胞因子信号转导抑制因子 1; 免疫功能

**中图分类号:** R-332; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2024) 03-029-08

**doi:**10.3969/j.issn.1671-7414.2024.03.005

## Expression of miR-142-5p, SOCS1 mRNA in Ankle Joint Tissue Spondylitis Model Mice and PBMC of Clinical Patients and Their Immune Function Analysis

YAN Mingguang, FANG Xiao, LI Wenxuan, WANG Ke, YIN Weibing (Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Shangqiu, Henan Shangqiu 476100, China)

**Abstract: Objective** To explore the expression of micro RNA (miR)-142-5p and suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) mRNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of mice and clinical patients with ankylosing spondylitis (AS) and their impact on immune function. **Methods** The mRNA levels of miR-142-5p and SOCS1 in PBMC of 30 patients with AS

**基金项目:** 河南省科技攻关项目 (资助单位: 河南省科技厅, 编号: 212102310743); 强直性脊柱炎环状 RNA 表达谱的研究及潜在分子; 河南省医学科技攻关项目 (资助单位: 河南省卫生健康委员会, 编号: 2018020947); HLA-B27 不同检测技术对强直性脊柱炎精准诊断的价值研究。

**作者简介:** 严鸣光 (1981-), 男, 硕士, 副主任技师, 研究方向: 自身免疫疾病, E-mail: ymguang1982@163.com。

**通讯作者:** 殷卫兵 (1966-), 男, 主任技师, 研究方向: 临床免疫检测, E-mail: 475410026@qq.com。

(Patient group) and 30 healthy controls (Health group) treated in the First People's Hospital of Shangqiu from January 2022 to March 2023 were measured by quantitative real time PCR(qRT-PCR). AS mice models were induced by bovine proteoglycan combined with complete Freund's adjuvant, and these mice were divided into control group, model group, NC group and antagomir group. Normal saline was injected into tail vein in control group and model group, and NC-antagomir and miR-142-5p-antagomir were injected into tail vein in NC group and antagomir group, respectively. After 2 weeks of treatment, the arthritis symptom scores of mice in each group were evaluated. The morphology of ankle joint was evaluated by hematoxylin eosin (HE) staining. The levels of Th1 cytokine interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), Th2 cytokine interleukin-4 (IL-4), Th17 cytokine interleukin-17 (IL-17) and Treg cytokine forkhead box protein P3 (FOXP3) in PBMC of mice were detected by ELISA method. The mRNA and protein expression of miR-142-5p, SOCS1, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 and FOXP3 in PBMC and ankle joints were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results** Compared with Health group, the level of miR-142-5p in PBMC of patient group was increased ( $1.00 \pm 0.21$  vs  $3.03 \pm 0.99$ ,  $t=10.997$ ,  $P<0.001$ ), while the level of SOCS1 mRNA was decreased ( $1.00 \pm 0.18$  vs  $0.41 \pm 0.09$ ,  $t=15.956$ ,  $P<0.001$ ). Compared with control group, miR-142-5p level ( $1.00 \pm 0.04$  vs  $4.00 \pm 0.52$ ) and the mRNA and protein levels of IFN- $\gamma$  and IL-17 in ankle joint tissue of model group were increased, while the mRNA and protein levels of SOCS1, IL-4 and FOXP3 were decreased, with significant differences ( $t=23.356$ ,  $31.420$ ,  $48.056$ ,  $47.224$ ,  $38.035$ ,  $29.007$ ,  $54.183$ ,  $28.123$ ,  $55.155$ ,  $26.758$ ,  $45.346$ , all  $P<0.05$ ). The arthritis symptom score was increased ( $7.83 \pm 0.94$  vs  $0.00 \pm 0.00$ ,  $t=22.212$ ,  $P<0.05$ ), and the ankle joint structure was damaged. Serum IFN- $\gamma$ , IL-17 levels, IFN- $\gamma$ /IL-4 ratio ( $0.81 \pm 0.08$  vs  $2.08 \pm 0.33$ ) and IL-17/FOXP3 ratio ( $0.41 \pm 0.03$  vs  $1.27 \pm 0.10$ ) were increased, and the differences were statistically significant ( $t=15.382$ ,  $35.779$ ,  $8.934$ ,  $35.130$ , all  $P<0.05$ ). Compared with NC group, miR-142-5p level ( $3.89 \pm 0.33$  vs  $1.47 \pm 0.10$ ), the mRNA and protein levels of IFN- $\gamma$  and IL-17 in ankle joint tissue of antagomir group were decreased, while the mRNA and protein levels of SOCS1, IL-4 and FOXP3 were increased, and the differences were statistically significant ( $t=18.846$ ,  $22.969$ ,  $43.454$ ,  $32.617$ ,  $23.259$ ,  $20.881$ ,  $41.832$ ,  $11.994$ ,  $32.977$ ,  $15.190$ ,  $35.834$ , all  $P<0.05$ ). The arthritis symptom score was decreased ( $7.42 \pm 1.24$  vs  $2.75 \pm 0.75$ ,  $t=13.233$ ,  $P<0.05$ ), and the shape of the ankle joint of the rats was improved. Serum IFN- $\gamma$ , IL-17 levels, IFN- $\gamma$ /IL-4 ratio ( $1.22 \pm 0.11$  vs  $1.91 \pm 0.19$ ) and IL-17/FOXP3 ratio ( $0.69 \pm 0.05$  vs  $1.23 \pm 0.12$ ) were decreased, and the differences were statistically significant ( $t=8.688$ ,  $22.972$ ,  $3.785$ ,  $22.007$ , all  $P<0.05$ ). **Conclusion** MiR-142-5p was highly expressed in AS. Down-regulation of miR-142-5p using antagonists may reduce Th1/Th2 ratio and Th17/Treg ratio through up-regulation of SOCS1, there by improving the immune balance of AS mice and inhibiting the progression of AS.

**Keywords:** ankylosing spondylitis; miR-142-5p; suppressor of cytokine signaling 1; immune function

强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 是一种慢性炎症性自身免疫性疾病<sup>[1]</sup>, AS 患者中的辅助性 T 细胞 (T helper cells, Th) 1/Th2 和 Th17/调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 比值显著升高, 免疫平衡被打破<sup>[2]</sup>。细胞因子信号转导抑制因子 1 (suppressor of cytokine signaling 1, SOCS1) 在 T 细胞依赖性免疫平衡中发挥关键作用<sup>[3]</sup>。AS 患者的外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) 和 T 细胞中 SOCS1 表达减少, SOCS1 已成为 AS 患者免疫治疗的潜在靶标<sup>[4]</sup>。微小 RNAs (miRNAs) 参与免疫平衡调节, 其失调是 AS 发病机制的关键<sup>[5]</sup>。基于 miRNAs 的疗法在 AS 动物模型中已取得了显著疗效<sup>[6]</sup>, 然而, 目前缺乏有效的 miRNAs 靶标。有研究表明, miR-142-5p 在 AS 患者 PBMC 中的表达水平是健康对照的 3.3 倍<sup>[7]</sup>, 而 SOCS1 是 miR-142-5p 的下游靶基因之一<sup>[8-9]</sup>。对于 miR-142-5p 在 AS 进展中发挥的具体作用目前尚无相关文献报道。因此, 本研究旨在揭示 miR-142-5p 在 AS 中的表达及功能, 从而为

基于 miRNAs 的 AS 治疗策略提供理论参考。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选择 2022 年 1 月 ~ 2023 年 3 月商丘市第一人民医院收治的 30 例确诊的 AS 患者 (患者组) 和 30 例健康体检者 (健康组) 作为研究对象, AS 患者符合 1984 年修订的 AS 纽约诊断标准。排除伴有其他器官和系统原发病、精神障碍、1 个月内有抗炎药、激素、免疫抑制剂等药物使用史的患者。本研究已获得商丘市第一人民医院伦理审查委员会批准, 所有受试者均知情同意。雄性无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 Balb/c 小鼠 (7~8 周龄, 体重 18~22 g) 购自河南省实验动物中心 [SCXK (豫) 2022-0001], 将 Balb/c 小鼠在屏障环境 ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 55% 湿度, 12h 光/暗循环) 中预适应饲养 1 周后进行实验。

1.2 仪器及试剂 人外周血淋巴细胞分离液 (货号: P8610, 北京索莱宝科技有限公司); 牛蛋白聚糖 (货号: P5864), 完全弗氏佐剂 (货号: AR001, 美国 Sigma 公司); NC-antagomir 和 miR-142-5p-

antagomir 由上海吉玛制药技术有限公司合成。干扰素  $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) (货号: SEKM-0031), 白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4) (货号: SEKM-0005) 和白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17) (货号: SEKM-0018) 酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA) 试剂盒以及苏木精伊红 (hematoxylin eosin, HE) (货号: G1120) 染色液, IL-4 一抗 (货号: K004107P), IL-17 一抗 (货号: K008040P) 均购自北京索莱宝科技有限公司; 叉头盒蛋白 P3 (forkhead box P3, FOXP3) (货号: EK-M26098) ELISA 试剂盒 [博辉生物科技 (广州) 有限公司]。RNeasy Mini Kit (货号: 74104) 和 miRNeasy Mini Kit (货号: DXT-217004), 购自德国 Qiagen 公司。miRNA 第一链 cDNA 合成试剂盒 [货号: KR211, 天根生化科技 (北京) 有限公司]; Power SYBR Green PCR Master Mix (货号: 4367659, 美国 ABI 公司); PrimeScript RT Master Mix (货号: RR036A-1, 日本 Takara 公司), SOCS1 一抗 (货号: ab280886), IFN- $\gamma$  一抗 (货号: ab224197), FOXP3 一抗 (货号: ab215206), GAPDH 一抗 (货号: ab9485) 和 HRP 偶联的 IgG 二抗 (货号: ab6721) 均购自英国 Abcam 公司。

### 1.3 方法

1.3.1 血液样本收集: 收集受试者清晨空腹静脉血样本 5ml, 乙二胺四乙酸抗凝, 使用人淋巴细胞分离液分离 PBMC。通过实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 检测 PBMC 中 miR-142-5p 和 SOCS1 的 mRNA 水平。

1.3.2 AS 小鼠模型建立: 参考文献 [10] 采用牛蛋白聚糖联合完全弗氏佐剂诱导 AS 小鼠模型。对小鼠腹腔注射 0.15 ml 乳剂 (包含 75  $\mu$ g 牛蛋白聚糖和 0.15 ml 完全弗氏佐剂), 7 天后再次腹腔注射 0.15 ml 乳剂加强免疫, 造模 21 天后观察小鼠关节肿胀度、充血、关节活动受限和脊柱僵硬等表现判断造模是否成功。

1.3.3 小鼠分组和处理: 将 SD 小鼠分为对照组、模型组、阴性组和拮抗剂组, 每组 12 只小鼠。对照组和模型组小鼠给予尾静脉注射 200  $\mu$ l 生理盐水, 阴性组和拮抗剂组小鼠分别给予尾静脉注射 200  $\mu$ l 浓度为 1 nmol/ $\mu$ l 的 NC-antagomir 和 miR-142-5p-antagomir。每周注射 2 次, 连续注射 2 周。

1.3.4 小鼠关节炎症评分: 治疗 2 周后, 参考文献 [11] 所述评估各组小鼠的关节炎症状并评分。根据小鼠四肢发红和肿胀程度进行评分, 总分为 16 分, 分值越高症状越严重。

1.3.5 小鼠踝关节组织学染色: 处死小鼠, 收集后

肢踝关节, 固定于 4g/dl 多聚甲醛中, 然后脱钙, 石蜡包埋, 制作 4  $\mu$ m 厚切片, 采用 HE 染色评估小鼠踝关节的组织学变化。

1.3.6 ELISA 检测血清中 IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 和 FOXP3 水平: 采用 ELISA 法检测小鼠血清中 Th1 细胞 IFN- $\gamma$ , Th2 细胞因子 IL-4, Th17 细胞因子 IL-17 和 Treg 细胞因子 FOXP3 的表达水平。

1.3.7 qRT-PCR 检测 miR-142-5p, SOCS1, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 和 FOXP3 基因表达水平: 使用 RNeasy Mini Kit 或 miRNeasy Mini Kit 提取 PBMC 或踝关节组织中的总 RNA。使用 NanoDrop 2000 分光光度计检测 RNA 的质量和浓度。使用 PrimeScript RT Master Mix 或 miRNA 第一链 cDNA 合成试剂盒合成 cDNA。使用 Power SYBR Green PCR Master Mix 和 ABI 7500 实时 PCR 检测系统进行 PCR 反应。PCR 条件为: 95  $^{\circ}$ C 5min, 95  $^{\circ}$ C 10s, 60  $^{\circ}$ C 20s, 72  $^{\circ}$ C 15s, 40 个循环。引物序列见表 1。U6 和 GAPDH 作为内参。通过  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算基因相对表达水平。

1.3.8 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测各蛋白表达水平: 使用放射免疫沉淀法裂解缓冲液 (radio immunoprecipitation assay buffer, RIPA) 裂解和提取踝关节组织总蛋白, 然后采用二辛可酸法 (bicinchoninic acid, BCA) 进行定量。使用 10g/dl SDS-PAGE 分离总蛋白并转移到 PVDF 膜上。5 g/dl 脱脂奶粉封闭 2h, 将膜与 1 : 1 000 稀释的 SOCS1, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17, FOXP3 和 GAPDH 一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。然后与 1 : 1 000 稀释的 HRP 偶联的 IgG 二抗 (1:2 000) 室温孵育 1h。电化学发光 (enhanced chemiluminescence, ECL) 显影, Image J 软件进行灰度值分析。

1.4 统计学分析 使用 SPSS25.0 软件进行数据分析, 计量资料符合正态分布, 以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组计量数据的比较采用独立样本  $t$  检验, 多组计量数据的比较首先采用单因素方差分析比较整体差异, 然后采用 LSD 检验进行两两比较。  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 AS 患者和健康体检者 PBMC 中 miR-142-5p 和 SOCS1 水平比较 与健康组比较, 患者组 PBMC 中 miR-142-5p 水平升高 ( $3.03 \pm 0.99$  vs  $1.00 \pm 0.21$ ), 而 SOCS1 mRNA 水平降低 ( $0.41 \pm 0.09$  vs  $1.00 \pm 0.18$ ), 差异具有统计学意义 ( $t=10.997, 15.956$ , 均  $P < 0.001$ )。

2.2 下调 miR-142-5p 对 AS 小鼠踝关节组织中 SOCS1 表达的影响 见表 2。与对照组比较, 模型组小鼠踝关节组织中 miR-142-5p 水平升高,

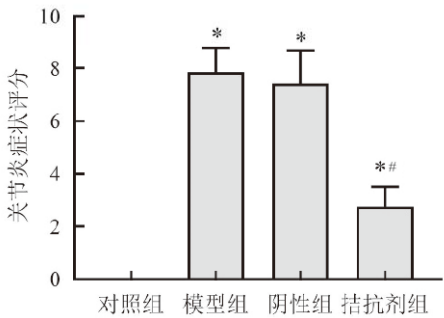
SOCS1 mRNA 和蛋白水平均降低, 差异具有统计学意义 ( $t=23.356, 29.007, 54.183$ , 均  $P<0.05$ )。与阴性组比较, 拮抗剂组小鼠踝关节组织中 miR-142-5p 水平降低, SOCS1 的 mRNA 和蛋白水平均升高, 差异具有统计学意义 ( $t=18.846, 20.881, 41.832$ , 均  $P<0.05$ )。

表 1	引物序列	
基因	引物序列	
hsa-miR-142-5p	RT: 5' - GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGACAGTAGT-3'	
	F: 5'-CCGGTCATAAAGTAGAAAGC-3'	
	R: 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3''	
mmu-miR-142-5p	RT: 5' - GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGACAGTAGT-3'	
	F: 5'-CGCGCGCATAAAGTAGAAACAC-3'	
	R: 5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGTA-3'	
hsa-SOCS1	F: 5'-ACTACCTGAGCTCCTTCCC-3'	
	R: 5'-CAAAATAACACGGCATCCCAG-3'	
mmu-SOCS1	F: 5'-TCTCCAGCCAGAAGTGGGAG-3'	
	R: 5'-CTCCGTGACTACCTGAGTTCC-3''	
hsa-U6	RT: 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCA-3'	
	F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	
	R: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'	
mmu-U6	RT: 5'-ATATGGAACECTTACGAATTTGCGT-3'	
	F: 5'-GCAAGGATGACACECAAAT-3'	
	R: 5'-ATGGAACECTTACGAAT-3'	
mmu-IFN- $\gamma$	F: 5'-GAGACAATGAACGCTACACACT-3'	
	R: 5'-TCTTCCACATCTATGCCACTT-3'	
mmu-IL-4	F: 5'-TCCTGCTCTTCTTTCTCG-3'	
	R: 5'-TTCTCCTGTGACCTCGTT-3'	
mmu-IL-17	F: 5'-TCATCCCTCAAAGCTCAGCG-3'	
	R: 5'-TTCATGCGGTGGAGAGTCC-3'	
mmu-FOXP3	F: 5'-GTGCTTTGTGCGAGTGGA-3'	
	R: 5'-AGGTCAAGGCAGGGATT-3'	
hsa-GAPDH	F: 5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'	
	R: 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'	
mmu-GAPDH	F: 5'-TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3'	
	R: 5'-TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG--3'	

表 2	各组小鼠踝关节组织中 miR-142-5p 和 SOCS1 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )					
项目	对照组	模型组	阴性组	拮抗剂组	F 值	P 值
miR-142-5p	1.00 $\pm$ 0.04	4.00 $\pm$ 0.52	3.89 $\pm$ 0.33	1.47 $\pm$ 0.10	301.527	<0.001
SOCS1 mRNA	1.00 $\pm$ 0.04	0.41 $\pm$ 0.04	0.39 $\pm$ 0.04	0.82 $\pm$ 0.08#	442.876	<0.001
SOCS1 蛋白	1.00 $\pm$ 0.04	0.20 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.02	0.83 $\pm$ 0.05	1582.749	<0.001

2.3 下调 miR-142-5p 对 AS 小鼠关节炎症状评分的影响 见图 1。对照组、模型组、阴性组和拮抗剂组小鼠关节炎症状评分分别为 0.00  $\pm$  0.00, 7.83  $\pm$  0.94, 7.42  $\pm$  1.24 和 2.75  $\pm$  0.75, 差异有统计学意义 ( $F=230.125, P<0.001$ )。与对照组比较, 模型组小鼠关节炎症状评分升高, 差异具有统计学意义 ( $t=22.212, P<0.05$ )；与阴性组比较, 拮抗剂组小鼠关节炎症状评分降低, 差异具有统计学意义

义 ( $t=13.233$ ,  $P<0.05$ )。



\* 与对照组比较  $P<0.05$ ; # 与阴性组比较  $P<0.05$ 。

图1 各组小鼠的关节炎症状评分

2.4 下调 miR-142-5p 对 AS 小鼠踝关节组织形态的影响 见图 2。HE 染色结果显示, 对照组小鼠踝关节形态正常; 模型组和 AS+NC-antagomir 小鼠

踝关节结构破坏严重, 滑膜组织明显增生, 出现水肿和软骨损伤, 伴有炎症细胞浸润; 与阴性组比较, 拮抗剂组小鼠踝关节形态明显改善。

2.5 下调 miR-142-5p 对 AS 小鼠血清 IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 和 FOXP3 表达的影响 见表 3。与对照组比较, 模型组小鼠血清中 IFN- $\gamma$  和 IL-17 水平均升高, IL-4 和 FOXP3 水平均降低, IFN- $\gamma$ /IL-4 比值和 IL-17/FOXP3 比值均升高, 差异具有统计学意义 ( $t=15.382$ ,  $35.779$ ;  $8.934$ ,  $14.682$ ;  $15.412$ ,  $35.130$ , 均  $P<0.05$ )。与阴性组比较, 拮抗剂组小鼠血清中 IFN- $\gamma$  和 IL-17 水平均降低, IL-4 和 FOXP3 水平均升高, IFN- $\gamma$ /IL-4 比值和 IL-17/FOXP3 比值均降低, 差异具有统计学意义 ( $t=8.688$ ,  $22.972$ ;  $3.785$ ,  $5.344$ ;  $8.377$ ,  $22.007$ , 均  $P<0.05$ )。

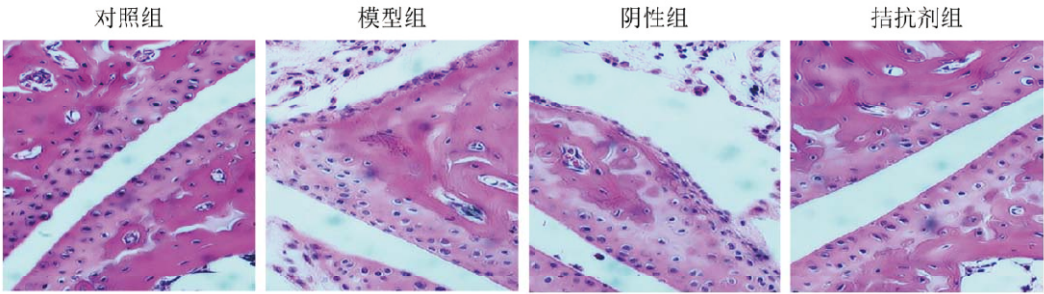


图2 各组小鼠的踝关节组织 HE 染色 (100 倍放大)

表 3 各组小鼠的血清 IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 和 FOXP3 水平 ( $\bar{x} \pm s$  pg/ml,  $n=12$ )

项目	对照组	模型组	阴性组	拮抗剂组	F 值	P 值
IFN- $\gamma$	21.06 $\pm$ 1.83	40.22 $\pm$ 3.58	39.07 $\pm$ 3.99	28.25 $\pm$ 2.27	107.953	<0.001
IL-4	26.15 $\pm$ 1.85	19.63 $\pm$ 2.15	20.49 $\pm$ 0.98	23.25 $\pm$ 1.94	32.698	<0.001
IFN- $\gamma$ /IL-4	0.81 $\pm$ 0.08	2.08 $\pm$ 0.33	1.91 $\pm$ 0.19	1.22 $\pm$ 0.11	104.051	<0.001
IL-17	2.01 $\pm$ 0.16	5.04 $\pm$ 0.29	5.00 $\pm$ 0.45	3.05 $\pm$ 0.17	313.006	<0.001
FOXP3	4.95 $\pm$ 0.16	3.98 $\pm$ 0.21	4.07 $\pm$ 0.28	4.42 $\pm$ 0.25	44.559	<0.001
IL-17/FOXP3	0.41 $\pm$ 0.03	1.27 $\pm$ 0.10	1.23 $\pm$ 0.12	0.69 $\pm$ 0.05	295.16	<0.001

2.6 下调 miR-142-5p 对 AS 小鼠踝关节 IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 和 FOXP3 表达的影响 见表 4 和表 5。与对照组比较, 模型组小鼠踝关节 IFN- $\gamma$  和 IL-17 的 mRNA 和蛋白水平均升高 ( $t=31.420$ ,  $47.224$ ;  $48.056$ ,  $38.035$ ), 踝关节中 IL-4 和 FOXP3 的 mRNA 和蛋白水平均降低 ( $t=28.123$ ,  $26.758$ ;

$55.155$ ,  $45.346$ ), 差异具有统计学意义。与阴性组比较, 拮抗剂组小鼠踝关节 IFN- $\gamma$  和 IL-17 的 mRNA 和蛋白水平均降低 ( $t=22.969$ ,  $32.617$ ;  $43.454$ ,  $23.259$ ), 踝关节 IL-4 和 FOXP3 的 mRNA 和蛋白水平均升高 ( $t=11.994$ ,  $15.190$ ;  $32.977$ ,  $35.834$ ), 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。

表 4 各组小鼠的踝关节中 IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 和 FOXP3 的 mRNA 表达水平 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=12$ )

项目	对照组	模型组	阴性组	拮抗剂组	F 值	P 值
IFN- $\gamma$	1.00 $\pm$ 0.06	3.40 $\pm$ 0.38	3.52 $\pm$ 0.35	1.76 $\pm$ 0.07	263.611	<0.001
IL-4	1.00 $\pm$ 0.04	0.71 $\pm$ 0.02	0.71 $\pm$ 0.03	0.83 $\pm$ 0.05	176.995	<0.001
IL-17	1.00 $\pm$ 0.04	3.45 $\pm$ 0.21	3.49 $\pm$ 0.26	1.81 $\pm$ 0.13#	571.461	<0.001
FOXP3	1.00 $\pm$ 0.04	0.76 $\pm$ 0.03	0.76 $\pm$ 0.02	0.90 $\pm$ 0.03	170.337	<0.001

表5 各组小鼠的踝关节 IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 和 FOXP3 的蛋白表达水平 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=12$ )

项目	对照组	模型组	阴性组	拮抗剂组	F 值	P 值
IFN- $\gamma$	1.00 $\pm$ 0.04	4.48 $\pm$ 0.33	4.54 $\pm$ 0.26	1.80 $\pm$ 0.11	837.603	<0.001
IL-4	1.00 $\pm$ 0.05	0.51 $\pm$ 0.03	0.52 $\pm$ 0.03	0.85 $\pm$ 0.03	581.579	<0.001
IL-17	1.00 $\pm$ 0.06	3.62 $\pm$ 0.36	3.40 $\pm$ 0.30	1.80 $\pm$ 0.10	337.007	<0.001
FOXP3	1.00 $\pm$ 0.04	0.51 $\pm$ 0.03	0.51 $\pm$ 0.04	0.90 $\pm$ 0.04	562.742	<0.001

### 3 讨论

强直性脊柱炎(AS)是一种典型的脊柱关节病,也是一种慢性炎症性自身免疫性疾病,主要影响脊柱、骶髂关节和外周关节。到目前为止,学者普遍认为AS的发病机制与遗传、感染、环境和免疫等因素有关,但确切病因和发病机制仍然明晰<sup>[12]</sup>。miRNAs在细胞增殖、生长和分化、细胞凋亡、细胞内代谢过程以及某些人类疾病的发病机制中发挥重要作用。越来越多的研究表明miRNAs调节炎症,新骨形成和T细胞功能,miRNAs失调是AS发病机制的关键<sup>[5,13]</sup>。在AS动物模型中,通过调控miRNAs的水平可延缓AS的进展<sup>[6]</sup>。本研究表明AS患者PBMC中和AS小鼠踝关节组织中miR-142-5p水平明显上调。TÜRKYILMAZ等<sup>[7]</sup>报道,AS患者PBMC中的miR-142-5p水平与健康对照比较升高了3.3倍,与本研究结果一致。这些结果提示miR-142-5p可能参与AS的发生发展。

AS亦属于一种免疫性疾病,发病时患者免疫系统发生失衡,而纠正免疫失衡是治疗AS的有效途径。T淋巴细胞是免疫系统调节中的关键细胞,根据细胞膜上的受体,T淋巴细胞分为多种亚型,包括CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>细胞。CD4<sup>+</sup>细胞进一步分为Th1, Th2, Th17和Treg亚群,CD8<sup>+</sup>细胞分为细胞毒性T(Tc)1, Tc2和Tc17亚群<sup>[14]</sup>。Th1和Th2细胞参与免疫系统的多种途径,其中Th1细胞主要驱动细胞免疫,而Th2细胞主要驱动体液免疫<sup>[15]</sup>。郭洪録等<sup>[16]</sup>研究认为纠正AS疾病中Th1/Th2免疫失衡可能是表没食子儿茶素减轻AS脊柱炎症的重要机制之一;吴琪等<sup>[17]</sup>研究发现十全育真汤可通过调整Th17/Treg细胞数量纠正Th17/Treg免疫失衡,进而减轻早期AS患者临床症状。本研究发现AS小鼠血清IFN- $\gamma$ /IL-4比值和IL-17/FOXP3比值升高,表明Th1/Th2比值和Th17/Treg比值升高。WANG等<sup>[18]</sup>检测了55例AS患者和20例健康人PBMC中的T细胞亚群分布,结果显示AS患者PBMC中的Th1/Th2比值和Th17/Treg比值显著高于健康个体,IFN- $\gamma$ 和IL-17的mRNA和蛋白表达水平较高,与本研究结果一致。

miR-142-5p参与T细胞免疫调节。SUN等<sup>[19]</sup>报道miR-142在造血组织中特异性表达,在调节T

细胞分化、发育、细胞因子释放和与IL-6表达相关的TLR4激活中发挥重要作用。BELTZ<sup>[20]</sup>表明miR-142影响T细胞分化、功能和细胞因子的产生过程。TALEBI等<sup>[21]</sup>研究了miR-142-5p在多发硬化症患者中的作用,发现多发硬化症患者额叶白质中miR-142-5p的表达显著增加;在多发硬化症小鼠脊髓组织中也有类似的发现,miR-142-5p的高表达可诱导T细胞分化为Th1细胞表型。本研究表明,下调miR-142-5p降低了AS小鼠血清和踝关节IFN- $\gamma$ 和IL-17水平,升高了IL-4和FOXP3水平,从而降低了Th1/Th2比值和Th17/Treg比值。

多项研究证实SOCS1是miR-142-5p的下游靶基因<sup>[8-9]</sup>。SOCS1是SOCS家族中研究最广泛的成员之一,参与调节T细胞分化并充当细胞因子信号的负调节剂<sup>[22]</sup>。本研究表明AS患者PBMC中和AS小鼠踝关节组织中SOCS1水平明显下调。CHEN等<sup>[4]</sup>采用RT-PCR检测53例AS患者和31例健康对照者PBMC和T细胞中的SOCS1 mRNA的水平,结果显示,AS患者的PBMC和T细胞中SOCS1表达减少,并且SOCS1 mRNA水平与血清IL-17A呈负相关。在本研究中,下调miR-142-5p升高了AS小鼠踝关节组织中SOCS1的表达水平。本研究推测miR-142-5p通过靶向SOCS1 mRNA诱导其裂解,抑制其翻译或促进其衰减,从而影响AS的进展。其他学者也证实SOCS1是IFN- $\gamma$ 的关键调节剂,SOCS1可阻断IFN- $\gamma$ <sup>[23]</sup>。SOCS1也对Treg细胞有影响,通过改变FOXP3表达,抑制Treg细胞炎症细胞因子的产生来发挥其功能<sup>[24]</sup>,SOCS缺失可上调IFN- $\gamma$ 和IL-17的表达水平<sup>[25]</sup>。在SOCS1基因敲除小鼠实验中,CD4<sup>+</sup>幼稚T细胞可以分化为Th1细胞<sup>[26]</sup>。TALEBI等<sup>[21]</sup>研究表明miR-142-5p通过靶向抑制SOCS1调节多发硬化症小鼠的T细胞分化。基于上述报道,本研究认为下调miR-142-5p可能通过上调AS小鼠体内SOCS1的表达进而降低Th1/Th2比值和Th17/Treg比值,从而改善AS小鼠的免疫平衡并抑制AS的进展。

本研究存在以下局限性:首先,miR-142-5p存在多个下游靶基因,SOCS1只是其中之一,目前尚不清楚在AS进展过程中,miR-142-5p是否还通过

调控其他基因来干预疾病进展。其次,本研究实验过程中虽然未发现对小鼠尾静脉注射 NC-antagomir 和 miR-142-5p-antagomir 所引起的不良反应和作用,但尚不清楚长期用药是否有毒性。因此,在后续实验中,应进一步探讨 miR-142-5p 在 AS 进展中的具体作用,并深入研究探索以 miR-142-5p 为靶点的 AS 治疗手段。

综上所述,本研究表明 miR-142-5p 在 AS 中高表达,下调 miR-142-5p 可能通过上调 SOCS1 进而降低 Th1/Th2 比值和 Th17/Treg 比值,从而改善 AS 小鼠的免疫平衡并抑制 AS 的进展。miR-142-5p/SOCS1 途径可能是治疗 AS 的新靶点。

#### 参考文献:

- [1] 王佩,米晓燕,白园园,等. 强直性脊柱炎患者血清 YKL-40, Galectin-3 和 ChT 水平与疾病活动度及动脉粥样硬化进展的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(3): 52-57.  
WANG Pei, MI Xiaoyan, BAI Yuanyuan, et al. Correlation of serum YKL-40, galectin-3, CHT levels with disease activity and progression of atherosclerosis in patients with ankylosing spondylitis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(3): 52-57.
- [2] LIU Dong, LIU Budian, LIN Churong, et al. Imbalance of peripheral lymphocyte subsets in patients with ankylosing spondylitis: a meta-analysis[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 696973.
- [3] WANG Dan, BAI Xue, WANG Bin, et al. CTLA4Ig/ VISTA Ig combination therapy selectively induces CD4<sup>+</sup> T cell-mediated immune tolerance by targeting the SOCS1 signaling pathway in porcine islet xenotransplantation[J]. Immunology, 2022, 166(2): 169-184.
- [4] CHEN C H, CHEN H A, LIAO H T, et al. Suppressors of cytokine signalling in ankylosing spondylitis and their associations with disease severity, acute-phase reactants and serum cytokines[J]. Clinical and Experimental Rheumatology, 2016, 34(1): 100-105.
- [5] LI Zheng, WONG S H, SHEN Jianxiong, et al. The role of microRNAs in ankylosing spondylitis[J]. Medicine, 2016, 95(14): e3325.
- [6] QIN Xiong, ZHU Bo, JIANG Tongmeng, et al. MiR-17-5p regulates heterotopic ossification by targeting ANKH in ankylosing spondylitis[J]. Molecular Therapy-Nucleic Acids, 2019, 18: 696-707.
- [7] TÜRKYILMAZ A, ATA P, AKBAŞ F, et al. The expression levels of microRNAs associated with T and B cell differentiation/stimulation in ankylosing spondylitis[J]. Balkan Journal of Medical Genetics, 2020, 23(1): 25-32.
- [8] HAN Jing, LI Yawei, ZHANG Baolian, et al. LncRNA TUG1 regulates ulcerative colitis through miR-142-5p/SOCS1 axis[J]. Microbial Pathogenesis, 2020, 143: 104139.
- [9] HAN Jing, LI Yawei, ZHANG Hong, et al. MicroRNA-142-5p facilitates the pathogenesis of ulcerative colitis by regulating SOCS1[J]. International Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2018, 11(12): 5735-5744.
- [10] 吴琪, 吴倩, 周晓红, 等. 丹皮酚对强直性脊柱炎模型小鼠 Wnt 和 BMP/Smad 信号转导通路的影响 [J]. 中国药房, 2018, 29(11): 1500-1504.  
WU Qi, WU Qian, ZHOU Xiaohong, et al. Effects of paeonol on Wnt and BMP/Smad signal transduction pathway in the ankylosing spondylitis model mice[J]. China Pharmacy, 2018, 29(11): 1500-1504.
- [11] 刘斌. TNF- $\alpha$  抑制剂调节强直性脊柱炎小鼠肠道菌群及其作用机制的研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2019.  
LIU Bin. Anti-TNF alpha therapy alters the gut microbiota of proteoglycan-induced ankylosing spondylitis in mice[J]. Guangzhou: Southern Medical University, 2019.
- [12] YANG Hui, CHEN Yuting, XU Wei, et al. Epigenetics of ankylosing spondylitis: Recent developments[J]. International Journal of Rheumatic Diseases, 2021, 24(4): 487-493.
- [13] MOTTA F, CARENA M C, SELMI C, et al. MicroRNAs in ankylosing spondylitis: Function, potential and challenges[J]. Journal of Translational Autoimmunity, 2020, 3: 100050.
- [14] GUO Chuang, LIU Qian, ZONG Dandan, et al. Single-cell transcriptome profiling and chromatin accessibility reveal an exhausted regulatory CD4<sup>+</sup> T cell subset in systemic lupus erythematosus[J]. Cell Reports, 2022, 41(6): 111606.
- [15] LUO Weihang, HU Jindong, XU Weifang, et al. Distinct spatial and temporal roles for Th1, Th2, and Th17 cells in asthma[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 974066.
- [16] 郭洪录, 郭晓利, 李力毅, 等. 表没食子儿茶素没食子酸对强直性脊柱炎大鼠 Th1/Th2 免疫平衡、软骨细胞凋亡的影响 [J]. 郑州大学学报(医学版), 2020, 55(5): 676-681.  
GUO Honglu, GUO Xiaoli, LI Liyi, et al. Effects of epigallocatechin gallic acid on Th1/Th2 immune balance and chondrocyte apoptosis in ankylosing spondylitis rats[J]. Journal of Zhengzhou University (Medical Sciences), 2020, 55(5): 676-681.
- [17] 吴琪, 秦桂福, 郑毅, 等. 十全育真汤对早期活动性强直性脊柱炎患者外周血 Th17/Treg 细胞平衡的影响 [J]. 风湿病与关节炎, 2023, 12(7): 15-19, 31.  
WU Qi, QIN Guifu, ZHENG Yi, et al. Effect of Shiquan Yuzhen Tang on Th17/Treg cell balance in peripheral blood of patients with early active ankylosing spondylitis[J]. Rheumatism and Arthritis, 2023, 12(7): 15-19, 31.
- [18] WANG Chenggong, LIAO Qiande, HU Yihe, et al. T lymphocyte subset imbalances in patients contribute to ankylosing spondylitis[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2015, 9(1): 250-256.
- [19] SUN Yaping, SUN J, TOMOMI T, et al. PU.1-dependent transcriptional regulation of miR-142 contributes to its hematopoietic cell-specific expression and modulation of IL-6[J]. Journal of Immunology,

- 2013, 190(8): 4005-4013.
- [20] BELZ G T. MiR-142 keeps CD4<sup>+</sup> DCs in balance[J]. *Blood*, 2013, 121(6): 871-872.
- [21] TALEBI F, GHORBANI S, CHAN W F, et al. MicroRNA-142 regulates inflammation and T cell differentiation in an animal model of multiple sclerosis[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 55.
- [22] GUO Huidong, LI Ruifeng, WANG Ming, et al. Multiomics analysis identifies SOCS1 as restraining T cell activation and preventing graft-versus-host disease[J]. *Advanced Science*, 2022, 9(21): e2200978.
- [23] ALEXANDER W S, STARR R, FENNER J E, et al. SOCS1 is a critical inhibitor of interferon gamma signaling and prevents the potentially fatal neonatal actions of this cytokine[J]. *Cell*, 1999, 98(5): 597-608.
- [24] TAKAHASHI R, NISHIMOTO S, MUTO G, et al. SOCS1 is essential for regulatory T cell functions by preventing loss of FOXP3 expression as well as IFN- $\gamma$  and IL-17A production[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2011, 208(10): 2055-2067.
- [25] TANAKA K, ICHIYAMA K, HASHIMOTO M, et al. Loss of suppressor of cytokine signaling 1 in helper T cells leads to defective Th17 differentiation by enhancing antagonistic effects of IFN- $\gamma$  on STAT3 and Smads[J]. *Journal of Immunology*, 2008, 180(6): 3746-3756.
- [26] PILLEMER B B, XU Hui, ORISS T B, et al. Deficient SOCS3 expression in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells and SOCS3-mediated suppression of Treg function[J]. *European Journal of Immunology*, 2007, 37(8): 2082-2089.
- 收稿日期: 2023-03-09  
修回日期: 2023-11-13

(上接第28页)

- [9] 亢何慧娴, 莫菲萍, 刘梦慧, 等. 双相障碍躁狂发作和抑郁障碍患者心理理论研究[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2023, 49(2): 92-96.
- KANG Hehuixian, MO Feiping, LIU Menghui, et al. The comparison of theory of mind in the manic phase of bipolar disorder and major depressive disorder[J]. *Chinese Journal of Nervous and Mental Diseases*, 2023, 49(2): 92-96.
- [10] 王威, 薄奇静, 李峰, 等. 双相障碍患者自杀的危险因素分析[J]. *国际精神病学杂志*, 2021, 48(4): 640-642, 646.
- WANG Wei, BO Qijing, LI Feng, et al. The analysis of risk factors of suicide in bipolar disorder patients[J]. *Journal of International Psychiatry*, 2021, 48(4): 640-642, 646.
- [11] 陈东, 周娜, 张欣, 等. 广东省双相情感障碍患者危险行为的流行病学特征及其影响因素[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2021, 47(6): 1562-1569.
- CHEN Dong, ZHOU Na, ZHANG Xin, et al. Epidemiological characteristics and influencing factors of risk behaviors of patients with bipolar disorder in Guangdong Province[J]. *Journal of Jilin University(Medicine Edition)*, 2021, 47(6): 1562-1569.
- [12] MCINTYRE R S, PATEL M D, MASAND P S, et al. The rapid mood screener (RMS): a novel and pragmatic screener for bipolar I disorder[J]. *Current Medical Research and Opinion*, 2021, 37(1): 135-144.
- [13] SILVESTRI L, NAI A, DULJA A, et al. Hecpudin and the BMP-SMAD pathway: an unexpected liaison[J]. *Vitamins and Hormones*, 2019, 110: 71-99.
- [14] 吴迪炯, 温晓文, 刘文宾, 等. 补肾活血方对再生障碍性贫血合并铁负荷过载小鼠铁代谢的调节作用[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(7): 3856-3862.
- WU Dijiong, WEN Xiaowen, LIU Wenbin, et al. Iron metabolism regulation effect of Bushen Huoxue Formula in aplastic anemia mouse complicated with iron overload[J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2021, 36(7): 3856-3862.
- [15] CAMASCHELLA C, NAI A, SILVESTRI L. Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era[J]. *Haematologica*, 2020, 105(2): 260-272.
- [16] GINZBURG Y Z. Hecpudin-ferroportin axis in health and disease[J]. *Vitamins and Hormones*, 2019, 110: 17-45.
- [17] 都玉敏, 高莹, 安闻, 等. 颞叶癫痫幼鼠海马神经发生与 Miat 及 Wnt7b/ $\beta$ -catenin 信号通路的变化[J]. *儿科药理学杂志*, 2022, 28(10): 1-6.
- DU Yumin, GAO Ying, AN Wen, et al. Changes of Miat and Wnt7b/ $\beta$ -catenin signaling pathway in hippocampal neurogenesis of immature rats with temporal lobe epilepsy[J]. *Journal of Pediatric Pharmacy*, 2022, 28(10): 1-6.
- [18] 何珈缘, 王清媛, 许鑫, 等. MIAT 过表达载体的构建及其对血肿瘤屏障通透性的影响[J]. *解剖科学进展*, 2020, 26(1): 10-13.
- HE Jiayuan, WANG Qingyuan, XU Xin, et al. Construction of MIAT overexpression vector and its effect on blood tumor barrier permeability[J]. *Progress of Anatomical Sciences*, 2020, 26(1): 10-13.
- [19] LI Dongzhe, YANG Tengyue, SHAO Chenglong, et al. LncRNA MIAT activates vascular endothelial growth factor A through RAD21 to promote nerve injury repair in acute spinal cord injury[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2021, 528: 111244.
- [20] 杨光, 刘雪云, 王训. 血尿素氮、肌酐及尿蛋白水平与帕金森病的相关性研究[J]. *中华神经医学杂志*, 2021, 20(3): 240-244.
- YANG Guang, LIU Xueyun, WANG Xun. Correlations of levels of blood urea nitrogen, creatinine and proteinuria with Parkinson's disease[J]. *Chinese Journal of Neuromedicine*, 2021, 20(3): 240-244.
- [21] INKER L A, ENEANYA N D, CORESH J, et al. New creatinine - and cystatin C - based equations to estimate GFR without race[J]. *New England Journal of Medicine*, 2021, 385(19): 1737-1749.
- 收稿日期: 2023-09-21  
修回日期: 2023-12-05