

论著·基础研究

miR-92a-3p 对 TNF- α , IL-6 和 DcR3 的影响^{*}陈洪卫, 娄晓丽, 赵静静, 侯彦强[△]

(上海市松江区中心医院检验科, 上海 201600)

摘要:目的 探讨 miR-92a-3p 对肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 白细胞介素-6(IL-6)和诱导因子 3(DcR3)的影响。方法 用人急性单核细胞白血病细胞(THP-1)设置阴性对照组(NC)。用 1 μ g/mL LPS 分别处理 THP-1 细胞 6 h 和 24 h, 实时荧光定量聚合酶链反应(q-PCR)检测 TNF- α , IL-6 和 DcR3 的表达, 作为 Sepsis 组(NC+LPS)。利用 1 μ g/mL 的 LPS 处理过表达 miR-92a-3p 的 THP-1 细胞, 作为过表达 miR-92a-3p 的 Sepsis 组(miR-92a-3p+LPS)。利用 q-PCR, 酶联免疫吸附试验(ELISA)和 Western blot 分别检测各组 TNF- α , IL-6 和 DcR3 的表达情况。结果 q-PCR, ELISA 和 Western blot 检测结果显示, TNF- α 和 IL-6 在 LPS 组、miR-92a-3p+LPS 组和 NC 组的相对表达量均呈下调趋势, 差异有统计学意义($P < 0.05$), DcR3 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 miR-92a-3p 可抑制 TNF- α 和 IL-6 的释放, 具有抗炎作用, 但是其对 DcR3 的作用不显著。

关键词:脓毒症; miR-92a-3p; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6; 诱导因子 3

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.20.003 **中图法分类号:**R446.1

文章编号:1673-4130(2019)20-2444-05 **文献标识码:**A

Effects of miRNA-92a-3p on TNF- α , IL-6 and DcR3^{*}

CHEN Hongwei, LOU Xiaoli, ZHAO Jingjing, HOU Yanqiang

(Department of Clinical Laboratory, Shanghai Songjiang District Central Hospital, Shanghai 201600, China)

Abstract:Objective To investigate the effects of miRNA-92a-3p on tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and decoy factor-3 (DcR3). **Methods** Human acute mononuclear leukemia cells (THP-1) were used as negative control group (NC). THP-1 cells were treated with 1 μ g/mL LPS for 6 h and 24 h, respectively. The expression of TNF- α , IL-6 and DcR3 was detected by q-PCR as Sepsis group (NC+LPS). THP-1 cells overexpressing miRNA-92a-3p were treated with 1 μ g/mL LPS as sepsis group overexpressing miRNA-92a-3p (miRNA-92a-3p+LPS). The expression of TNF- α , IL-6 and DcR3 was detected by q-PCR, ELISA and Western blot. **Results** The results of q-PCR, ELISA and Western blot showed that the relative expression of TNF- α and IL-6 in LPS group, Mi-92a-3p+LPS group and NC group decreased ($P < 0.05$), while the expression of DcR3 had no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusion** MiR-92a-3p can inhibit the release of TNF- α and IL-6, and has anti-inflammatory effect, but its effect on DcR3 is not significant.

Key words:sepsis; miRNA-92a-3p; tumor necrosis factor- α ; interleukin-6; decoy factor 3

微小 RNA(miRNA)是一类由内源基因编码的长度约为 18~22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子。miR-17-92 基因簇是目前研究较为深入、最有特点的 miRNA, 被认为是原癌基因 miRNA 的代表, 在多种肿瘤的发生发展中起着至关重要的作用。miR-17-92 定位于 13q31, 其包含 miR-17-5p、miR-17-3p、miR-18a、miR-19a、miR-19b、miR-20a 和 miR-92a-3p。已有文献报道, miR-92a-3p 与肿瘤、心血管疾病和自身免疫性疾病的发生、发展密切相关^[1-8], 但在脓毒症中

的作用和机制尚未见报道。有研究发现, miRNA 在体检健康者、系统性炎症反应综合征(SIRS)和脓症患者体内呈现差异性表达, miR-92a-3p 在脓症患者血清中的表达具有诊断和鉴别诊断价值^[9]。由于肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素 6(IL-6)属于促炎因子, 诱导因子 3(DcR3)属于抗炎因子, 本研究拟通过检测 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 炎症因子在 LPS 组、过表达 miR-92a-3p 的 LPS 组和阴性对照组的表达情况探讨 miR-92a-3p 对 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的影响。

^{*} 基金项目:上海市卫健委青年科研项目(20164y0025);上海市松江区科学技术攻关项目(2017sjkjjg48)。

作者简介:陈洪卫,男,主管技师,主要从事感染免疫实验诊断方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail:houyanqiang@aliyun.com。

本文引用格式:陈洪卫, 娄晓丽, 赵静静, 等. miR-92a-3p 对 TNF- α , IL-6 和 DcR3 的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(20):2444-2448.

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

1.1.1 仪器 高速冷冻离心机 (Neofuge13R, Heal Force); 生物安全柜 (A2, Heal Force); 荧光定量 PCR 仪 (CFX96TM, Bio Rad) 等。

1.1.2 试剂 Trizol 试剂 (15596-026, invitrogen); 氯仿 (AR, 国药); 异丙醇 (AR, 国药); 75% 无水乙醇 (AR, 国药); DEPC 水 (750024, invitrogen); 逆转录酶 (R250-01, invitrogen); 荧光染料 (CS7561, invitrogen); Rnase 抑制剂 (E00381, Fermentas); 特异性引物 (Oligo, invitrogen); Taq-DNA 聚合酶 (10966034, invitrogen); 三磷酸碱基脱氧核苷酸 (18427013, invitrogen) 等。

1.2 细胞培养 用含 10 % 胎牛血清和 90 % RPMI 1640 的培养液培养 THP-1 细胞, 在培养过程中将细胞瓶置于 37 ℃、5 % CO₂ 的恒温培养箱中, 整个过程保证无菌, 每 2~3 天更换 1 次培养基。

1.3 载体构建和病毒制备

1.3.1 miR-92a-3p 过表达慢病毒载体构建 设计 miR-92a-3p 的过表达 Oligo, 酶切位点为 BsmBI。经退火后, 重组至 PDS019_pL 载体中, 测序验证。

1.3.2 miR-92a-3p 过表达慢病毒包装 用构建好的 miR-92a-3p 过表达慢病毒载体和包装质粒 (packaging mix) 共转染 293T 细胞, 包装慢病毒, 收集病毒液并测定滴度。

1.3.3 miR-92a-3p 过表达验证 VL1064-PDS19_miR-92a-3 以 MOI=100 侵染靶细胞 THP-1, 设置阴性慢病毒侵染对照组, 48 h 后观察荧光比例。荧光比例达 80% 以上即可收集细胞, 抽提 RNA, 实时荧光定量聚合酶链反应 (q-PCR) 检测 miR-92a-3p 的表达: 转染 48 h, 向每孔细胞中加入 1 mL Trizol 试剂, 冰上裂解直至观察不到细胞结构。收集裂解液至离心管中, 向离心管加入 200 μL 氯仿, 剧烈震荡后室温放置 5 min, 以 12 000 r/min 离心 15 min。离心结束后吸取溶解有 RNA 的氯仿层于新离心管中, 加入 500 μL 预冷异丙醇混匀, 以 12 000 r/min 离心 15 min, 弃上清液, 管壁上白色沉淀即为所提取的总 RNA。DEPC 水溶解 RNA, 用分光光度计检测其浓度和纯度, 选择质量较好的 RNA 进行后续实验。RNA 进行逆转录合成 cDNA, 将 cDNA 稀释 4 倍后按照说明书配制反应溶液, 反应条件为 95 ℃ 5 min; 95 ℃ 10 s、60 ℃ 20 s、72 ℃ 20 s, 共 40 个循环; 78 ℃ 20 s。选取 GAPDH 作为内参, 每组样品重复 3 次。反应结束后采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 miR-92a-3p 的相对表达量。

1.4 LPS 刺激 THP-1 细胞 利用 LPS 刺激 THP-1 细胞, q-PCR 检测 THP-1 细胞在 6 h 和 24 h 其 TNF-α、IL-6 和 DcR3 的表达情况^[10]。(1) 细胞总 RNA 的抽提: 采用总 RNA 抽提试剂盒操作方法进行, 取 5 g RNA 加入各组分后进行反转录, 反应条件为 25 ℃ 5

min, 50 ℃ 60 min, 70 ℃ 15 min。(2) q-PCR 检测: TNF-α、IL-6 和 DcR3 定量 PCR 反应在 Bio-Rad PCR 仪上操作, 反应条件为预变性 95 ℃ 2 min, 95 ℃ 10 s, 60 ℃ 30 s, 70 ℃ 45 s, Melt (70~95 ℃), 40 个反应循环, 4 ℃。TNF-α、IL-6 和 DcR3 引物见表 1。

表 1 TNF-α、IL-6 和 DcR3 引物序列		
引物名称	引物序列(5'-3')	产物长度 (bp)
TNF-α	F: CCT GGT ATG AGC CCA TCT ATC TG	220
	R: AGA GGT TGA GGG TGT CTG AAG G	
IL-6	F: TGA CCC AAC CAC AAA TGC CA	155
	R: ATC TGA GGT GCC CAT GCT AC	
DcR3	F: CCA CTA CAC GCA GTT CTG GA	157
	R: CTC CAA GCA GAA ACC AGC GT	

1.5 分析脓毒症细胞内过表达 miRNA-92a-3p 对 TNF-α、IL-6 和 DcR3 的影响 利用 1 μg/mL LPS 分别处理过表达 miR-92a-3p 和阴性对照的 THP-1 细胞 24 h, q-PCR 检测 TNF-α、IL-6 和 DcR3 miRNA 的表达, 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测 TNF-α、IL-6 和 DcR3 的表达。

Western blot 检测 TNF-α、IL-6 和 DcR3 的表达: 收集转染 48 h 的各组细胞, 4 ℃ 下加入裂解液反应 30 min, 以 12 000 r/min 离心 10 min, 提取上清液测定蛋白浓度。每组蛋白样品中添加上样缓冲液配制反应体系, 蛋白上样后采用 SDS/PAGE 电泳使蛋白分离成不同条带, 湿转法将蛋白条带转至 PVDF 膜。将膜置于脱脂奶粉中封闭 2 h, 添加一抗, 4 ℃ 孵育过夜, 加入相应二抗孵育, TBS 洗涤后加 ECL 化学发光显色液并用凝胶成像设备进行结果观察。

1.6 统计学处理 使用 SPSS19.0 进行分析, 经正态性分析检验数据符合正态分布, 再进行方差齐性检验, 方差齐则采用单因素方差分析, 其中两两比较采用 LSD 和 S-N-K 方法; 若方差不齐则采用非参数检验 Kruskal-Wallis H 检验进行。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-92a-3p 过表达慢病毒载体构建结果 获得测序正确的 miR-92a-3p 过表达慢病毒载体 CL1064-PDS19_miR-92a-3p, 见图 1、2。

2.2 miR-92a-3p 过表达慢病毒制备结果 病毒滴度为 8E6 TU/mL, 获得滴度合格的 miR-92a-3p 过表达慢病毒: 命名为 VL1064-PDS19_miR-92a-3p。

2.3 miR-92a-3p 过表达验证结果 阴性对照组 miR-92a-3p 的 q-PCR 相对表达量为 1.00, 以 VL1064-PDS19_miR-92a-3 以侵染靶细胞 THP-1 组 miR-92a-3p 的 q-PCR 相对表达量为 18.24。见图 3。

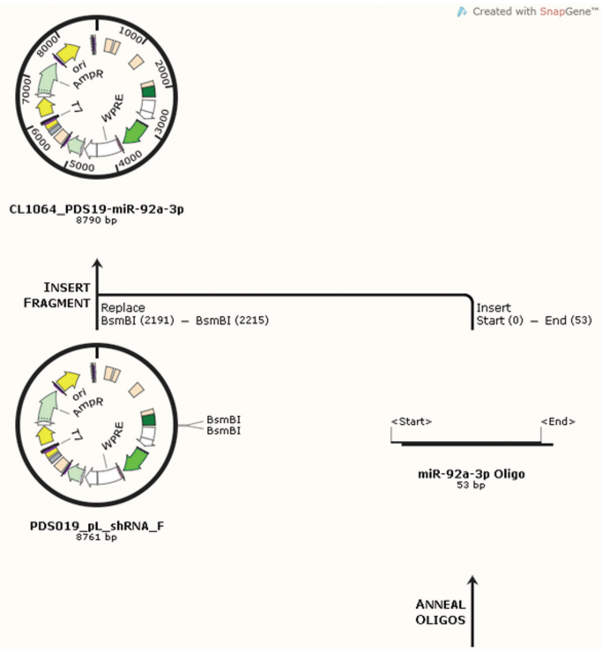
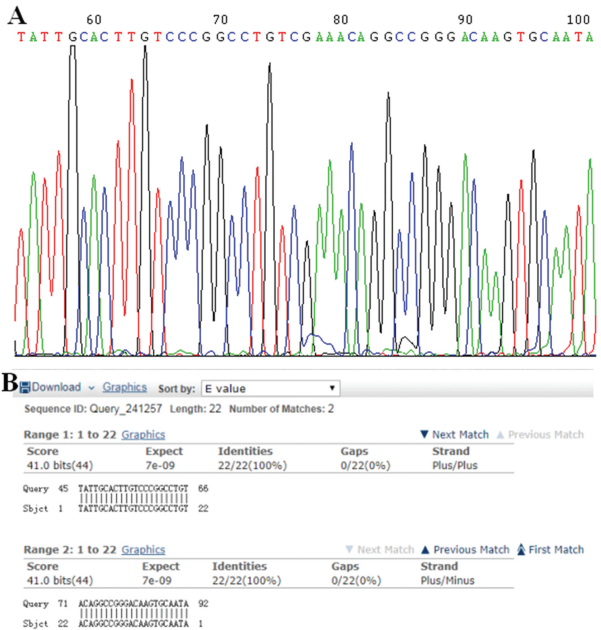


图 1 miR-92a-3p 过表达慢病毒载体示意图



注:A:测序碱基峰图;B:Blast 软件比对结果;Query:本实验构建的载体序列;Sbjct:数据库下载的标准序列

图 2 miR-92a-3p 测序比对结果

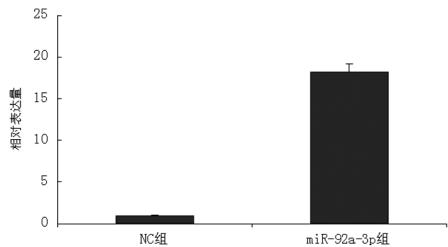
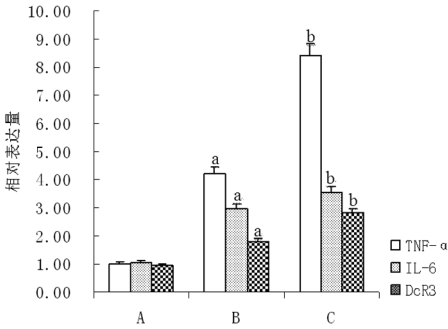


图 3 q-PCR 检测 miR-92a-3p 表达情况

2.4 q-PCR 检测脓毒症细胞模型 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的表达结果 以 1 μ g/mL 的 LPS 处理 THP-1 细胞 6 h 和 24 h 后, THP-1 组、THP-1+LPS 1 μ g/

mL 6 h 组和 THP-1+LPS 1 μ g/mL 24 h 组的 TNF- α 相对表达量依次为 1.01、4.23 和 8.42; IL-6 相对表达量依次为 1.05、2.96 和 3.56; DcR3 相对表达量依次为 0.97、1.81 和 2.84。后续试验以 LPS 处理 THP-1 细胞 24 h 进行。见图 4 和表 2。



注:A 为 THP-1 组;B 为 THP-1+LPS 1 μ g/mL 6 h 组;C 为 THP-1+LPS 1 μ g/mL 24 h 组;a 为 A 组与 B 组比较, $P<0.05$;b 为 B 组与 C 组比较, $P<0.05$

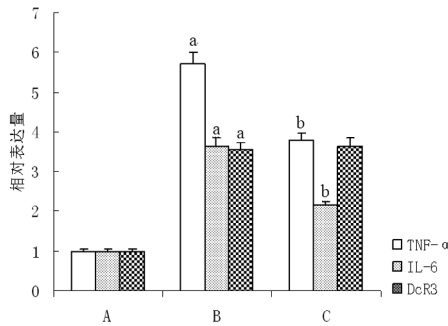
图 4 q-PCR 检测脓毒症细胞模型 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的表达情况

表 2 q-PCR 检测脓毒症细胞模型 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

项目	TNF- α ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)	IL-6($2^{-\Delta\Delta C_t}$)	DcR3($2^{-\Delta\Delta C_t}$)
A	1.01 $\pm$ 0.03	1.05 $\pm$ 0.07	0.97 $\pm$ 0.04
B	4.23 $\pm$ 0.09	2.96 $\pm$ 0.19	1.81 $\pm$ 0.08
C	8.42 $\pm$ 0.10	3.56 $\pm$ 0.05	2.84 $\pm$ 0.03
P	a=0.000 001 b=0.000 001	a=0.000 167 b=0.012 164	a=0.000 180 b=0.000 070

注:A 为 THP-1 组;B 为 THP-1+LPS 1 μ g/mL 6 h 组;C 为 THP-1+LPS 1 μ g/mL 24 h 组;a 为 A 组与 B 组比较, $P<0.05$;b 为 B 组与 C 组比较, $P<0.05$

2.5 q-PCR 检测各组 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的表达结果 阴性对照组、脓毒症组和过表达 miR-92a-3p 脓毒症组 TNF- α 的相对表达量依次为 1.00、5.71 和 3.79; IL-6 的相对表达量依次为 1.00、3.66 和 2.15; DcR3 的相对表达量依次为 1.00、3.56 和 3.66。见图 5 和表 3。



注:A 为 NC 组;B 为 LPS 组;C 为 miR-92a-3p+LPS 组;a 为 A 组与 B 组比较, $P<0.05$;b 为 B 组与 C 组比较, $P<0.05$

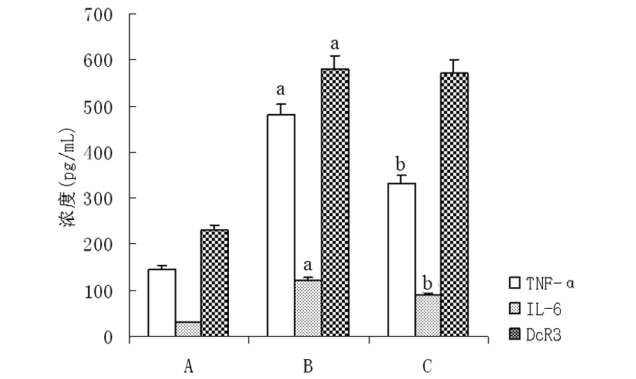
图 5 q-PCR 检测各组 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的表达情况

表 3 q-PCR 检测各组 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

项目	TNF- α ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	IL-6($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	DcR3($2^{-\Delta\Delta Ct}$)
A	1.01 $\pm$ 0.03	1.01 $\pm$ 0.01	0.94 $\pm$ 0.05
B	5.75 $\pm$ 0.26a	3.69 $\pm$ 0.23a	3.33 $\pm$ 0.19a
C	3.82 $\pm$ 0.27b	2.17 $\pm$ 0.12b	3.42 $\pm$ 0.19
P	a=0.000 013 b=0.001 801	a=0.000 082 b=0.001 156	a=0.000 071

注:A 为 NC 组;B 为 LPS 组;C 为 miR-92a-3p+LPS 组;a 为 A 组与 B 组比较, $P<0.05$;b 为 B 组与 C 组比较, $P<0.05$

2.6 ELISA 检测各组 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的表达结果 阴性对照组、脓毒症组和过表达 miR-92a-3p 脓毒症组 TNF- α 的相对表达量依次为 146.44 pg/mL、481.76 pg/mL 和 333.51 pg/mL;IL-6 的相对表达量依次为 31.41 pg/mL、122.77 pg/mL 和 89.45 pg/mL;DcR3 的相对表达量依次为 230.55 pg/mL、581.60 pg/mL 和 572.67 pg/mL。见图 6 和表 4。



注:A 为 NC 组;B 为 LPS 组;C 为 miR-92a-3p+LPS 组;a 为 A 组与 B 组比较, $P<0.05$;b 为 B 组与 C 组比较, $P<0.05$

图 6 ELISA 检测各组 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的表达情况

表 4 ELISA 检测各组 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

项目	TNF- α (pg/mL)	IL-6(pg/mL)	DcR3(pg/mL)
A	146.44 $\pm$ 2.74	31.41 $\pm$ 1.23	234.80 $\pm$ 3.22
B	481.76 $\pm$ 16.29	122.77 $\pm$ 9.64	618.86 $\pm$ 26.94
C	333.51 $\pm$ 26.41	89.45 $\pm$ 2.41	581.64 $\pm$ 10.31
P	a=0.000 009 b=0.002 502	a=0.000 185 b=0.009 017	a=0.000 052

注:A 为 NC 组;B 为 LPS 组;C 为 miR-92a-3p+LPS 组;a 为 A 组与 B 组比较, $P<0.05$;b 为 B 组与 C 组比较, $P<0.05$

2.7 Western blot 检测各组 TNF- α 、IL-6 和 DCR3 的表达结果 阴性对照组、脓毒症组和过表达 miR-92a-3p 脓毒症组 TNF- α 的灰度值依次为 0.67、1.53 和 1.10;IL-6 的灰度值依次为 0.68、1.80 和 1.22;DcR3 的灰度值依次为 0.67、1.41 和 1.42。见图 7、8 和表 5。

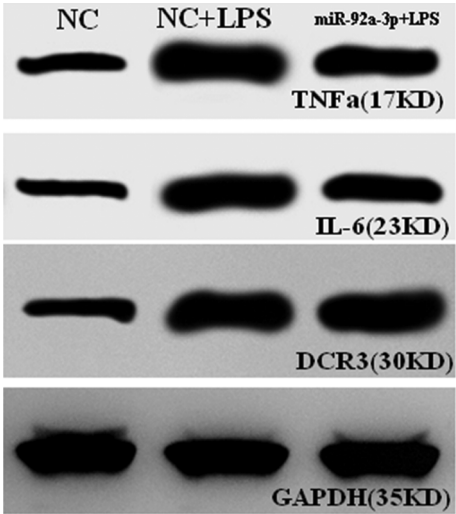
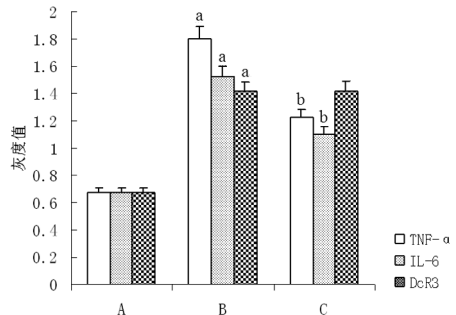


图 7 各组细胞中的 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的 Western blot 记录图



注:A 为 NC 组;B 为 LPS 组;C 为 miR-92a-3p+LPS 组;a: A 组与 B 组比较, $P<0.05$;b: B 组与 C 组比较, $P<0.05$

图 8 Western blot 检测各组 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的灰度值

表 5 Western blot 检测各组 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

项目	TNF- α (光密度比值)	IL-6(光密度比值)	DcR3(光密度比值)
A	0.68 $\pm$ 0.01	0.67 $\pm$ 0.04	0.67 $\pm$ 0.02
B	1.80 $\pm$ 0.05	1.53 $\pm$ 0.05	1.41 $\pm$ 0.04
C	1.22 $\pm$ 0.05	1.10 $\pm$ 0.04	1.42 $\pm$ 0.03
P	a=0.000 006 b=0.000 327	a=0.000 033 b=0.000 585	a=0.000 019

注:A 为 NC 组;B 为 LPS 组;C 为 miR-92a-3p+LPS 组;a 为 A 组与 B 组比较, $P<0.05$;b 为 B 组与 C 组比较, $P<0.05$;—表示无数据

3 讨 论

脓毒症是宿主对感染的反应失调而致的危及生命的器官功能障碍,多见于大型手术后、严重创伤及休克后,是 ICU 和新生儿患者死亡的常见原因^[11]。目前脓毒症的发病机制尚未明确,其涉及到复杂的全身炎症网络效应、基因多态性、免疫功能障碍、凝血功能异常、组织损伤以及宿主对不同感染病原微生物及其毒素的异常反应等多个方面,与机体多系统、多器官病理生理改变密切相关。有研究表明,细胞炎症因子释放与脓毒症的发生及进展关系密切^[12]。

目前在脓毒症的研究中, miR-125b、miR-150、miR-223、miR-146、miR-23b 等的研究较为深入^[13]。miR-92a-3p 是新发现的 miRNA, 研究显示, 其与肿瘤、心血管疾病和 SLE 的发生、发展关系密切^[1-8]。

为探讨 miR-92a-3p 对 TNF- α 、IL-6 和 DcR3 的影响, 本研究向经 LPS 刺激的人急性单核白血病细胞转染 VL1064-PDS19_miR-92a-3p 来过表达 miR-92a-3p, q-PCR 结果表明在脓毒症细胞中 miR-92a-3p 过表达成功, 为研究 miR-92a-3p 的功能提供条件。随后通过 q-PCR、ELISA 和 Western blot 检测发现, 在 q-PCR 检测中, TNF- α 和 IL-6 在 Sepsis 组、过表达 miR-92a-3p 的 Sepsis 组和阴性对照组的 mRNA 表达呈下调趋势, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), DcR3 的 mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。ELISA 检测中, TNF- α 和 IL-6 在各组含量依次降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), DcR3 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。Western blot 检测中, TNF- α 、IL-6 在各组的灰度值呈下调趋势, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), DcR3 在各组的灰度值差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。实验结果表明, 脓毒症细胞过表达 miR-92a-3p 后, TNF- α 、IL-6 释放减少。本课题组在前期研究中发现, Sepsis 患者血清 miR-92a-3p 表达水平明显低于健康对照组和 SIRS 组^[9], 本实验通过在 LPS 构建的脓毒症细胞模型中过表达 miR-92a-3p 后, TNF- α 和 IL-6 促炎因子释放减少, 推测 miR-92a-3p 在抑制 TNF- α 和 IL-6 释放过程中存在损耗, 从而出现低表达情况, 其在炎症反应过程中起负反馈调控作用, 与周仁祥^[10]报道结果一致。

4 结 论

miR-92a-3p 可抑制促炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的释放, 具有抗炎作用。对于抗炎因子 DcR3, miR-92a-3p 对其作用不显著。

参考文献

[1] SHARIFI M, SALEHI R. Blockage of miR-92a-3p with locked nucleic acid induces apoptosis and prevents cell proliferation in human acute megakaryoblastic leukemia [J]. Cancer Gene Ther, 2015; 117-128.

[2] FU F, JIANG W, ZHOU L, et al. Circulating Exosomal

miR-17-5p and miR-92a-3p Predict Pathologic Stage and Grade of Colorectal Cancer [J]. Transl Oncol, 2018, 11 (2): 221-232.

[3] KIM B S, JUNG J Y, JEON J Y, et al. Circulating hsa-miR-30e-5p, hsa-miR-92a-3p, and hsa-miR-223-3p may be novel biomarkers in systemic lupus erythematosus [J]. HLA, 2016, 88(4): 187-193.

[4] ZHANG G, LI S, LU J, et al. LncRNA MT1JP functions as a ceRNA in regulating FBXW7 through competitively binding to miR-92a-3p in gastric cancer [J]. Molecular Cancer, 2018, 17(1): 87.

[5] AHMADI S, SHARIFI M, SALEHI R. Locked nucleic acid inhibits miR-92a-3p in human colorectal cancer, induces apoptosis and inhibits cell proliferation [J]. Cancer Gene Ther, 2016, 23(7): 1-7

[6] RONG X, JIA L, HONG L, et al. Serum miR-92a-3p as a new potential biomarker for diagnosis of kawasaki disease with coronary artery lesions [J]. J Cardiovasc Transl Res, 2017, 10(1): 1-8.

[7] LEISTNER D M, BOECKEL J N, REIS S M, et al. Transcoronary gradients of vascular miRNAs and coronary atherosclerotic plaque characteristics [J]. Eur Heart J, 2016, 37(22): 1738.

[8] ZHENG G, DU L, YANG X, et al. Serum microRNA panel as biomarkers for early diagnosis of colorectal adenocarcinoma [J]. Br J Cancer, 2014, 111(10): 1985-1992.

[9] 陈洪卫, 梁冬雨, 娄晓丽, 等. 脓毒症血清 miRNA 表达谱的初步研究 [J]. 中华生物医学工程杂志, 2016, 22 (2): 113-118.

[10] 周仁祥. LPS 刺激对单核细胞 miRNA 表达谱的影响 [D]. 广州: 广州医科大学, 2013.

[11] 马晓春, 王亮. Sepsis 1. 0 到 Sepsis 3. 0 的变迁与展望 [J]. 医学研究生学报, 2017(10): 1009-1012.

[12] SINGER M, DEUTSCHMAN C S, SEYMOUR C W, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 775-787.

[13] 刘峰. MicroRNA-23b 对脓毒症血管内皮细胞炎症因子表达的调节及机制探讨 [J]. 现代中西医结合杂志, 2017 (34): 43-46.

(收稿日期: 2019-02-22 修回日期: 2019-05-06)