

• 论 著 •

LncRNA TUG1 靶向 miR-222-3p 对肺炎链球菌诱导的人肺泡上皮细胞损伤的影响

李小丽,王 辉,张庆军
应急总医院呼吸内科,北京 100028

摘 要:**目的** 探讨长链非编码 RNA(LncRNA)牛磺酸上调基因 1(TUG1)对微小 RNA(miRNA)-222-3p 的靶向调控,以及对肺炎链球菌诱导的人肺泡上皮细胞(HPAEpiC 细胞)损伤的影响。**方法** 72 株 HPAEpiC 细胞分为对照(NC)组、肺炎链球菌组(1×10^8 CFU/mL 肺炎链球菌)、肺炎链球菌+Si-NC 组、肺炎链球菌+Si-TUG1 组、肺炎链球菌+miR-NC 组、肺炎链球菌+miR-222-3p 组、肺炎链球菌+Si-TUG1+anti-miR-NC 组、肺炎链球菌+Si-TUG1+anti-miR-222-3p 组,并做相应的感染及转染。实时定量 PCR、流式细胞术 Western blotting 分别检测 TUG1、miR-222-3p 表达,细胞凋亡,B 细胞淋巴瘤/白血病 2(Bcl2 蛋白)、Bcl2 相关 X 蛋白(Bax 蛋白)表达。双荧光素酶报告实验分析 TUG1 与 miR-222-3p 的靶向调控。**结果** 肺炎链球菌组 HPAEpiC 细胞中 TUG1 表达量、Bcl2 蛋白表达量比 NC 组低,miR-222-3p、凋亡率、Bax 蛋白表达量比 NC 组高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。肺炎链球菌+Si-TUG1 组 HPAEpiC 细胞的凋亡率、Bax 蛋白表达量均高于肺炎链球菌+Si-NC 组,Bcl2 蛋白表达量低于肺炎链球菌+Si-NC 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。TUG1 靶向调控 miR-222-3p 的表达。肺炎链球菌+miR-222-3p 组 HPAEpiC 细胞的凋亡率、Bax 蛋白表达量比肺炎链球菌+miR-NC 组高,Bcl2 蛋白表达量比肺炎链球菌+miR-NC 组低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与肺炎链球菌 Si-TUG1+anti-miR-NC 组比较,肺炎链球菌+Si-TUG1+anti-miR-222-3p 组 HPAEpiC 细胞凋亡率和 Bax 蛋白表达量减少,Bcl2 蛋白表达量升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** TUG1 在肺炎链球菌感染的 HPAEpiC 细胞中低表达,TUG1 通过靶向 miR-222-3p,抑制 HPAEpiC 细胞凋亡。

关键词:人肺泡上皮细胞; 肺炎链球菌; 凋亡; 牛磺酸上调基因 1; miR-222-3p
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.24.025 **中图分类号:**R446.9
文章编号:1673-4130(2021)24-3054-06 **文献标志码:**A

Effect of LncRNA TUG1 targeting miR-222-3p on alveolar epithelial cell injury induced by Streptococcus pneumoniae

LI Xiaoli, WANG Hui, ZHANG Qingjun

Department of Respiratory Medicine, Emergency General Hospital, Beijing 100028, China

Abstract:**Objective** To investigate the targeted regulation of long-chain non-coding RNA (LncRNA) taurine up-regulated gene 1 (TUG1) on microRNA (miRNA)-222-3p and its effect on human alveolar epithelial cells (HPAEpiC cells) damage induced by Streptococcus pneumoniae. **Methods** A total of 72 strains of HPAEpiC cells were divided into control (NC) group, Streptococcus pneumoniae group (infected 1×10^8 CFU/mL Streptococcus pneumoniae), Streptococcus pneumoniae+Si-NC group, Streptococcus pneumoniae+Si-TUG1 group, and Streptococcus pneumoniae+miR-NC group, Streptococcus pneumoniae+miR-222-3p group, Streptococcus pneumoniae+Si-TUG1+anti-miR-NC group, Streptococcus pneumoniae+Si-TUG1+anti-miR-222-3p group, and the cells were treated accordingly. Real-time quantitative PCR, flow cytometry, and Western blotting were used to determine the expression of TUG1 and miR-222-3p, apoptosis, B-cell lymphoma/leukemia 2 (Bcl2 protein) and Bcl2-related X protein (Bax protein) expression. The dual luciferase report experiment analyzed the targeted regulation of TUG1 and miR-222-3p. **Results** TUG1 expression and Bcl2 protein expression in HPAEpiC cells of Streptococcus pneumoniae group were lower than those in NC group, miR-222-3p, apoptosis rate and Bax protein expression were higher than those in NC group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The apoptotic rate and Bax protein expression of HPAEpiC cells in Streptococcus pneumoniae+Si-TUG1 group were higher than those in Streptococcus pneumoniae+Si-NC group, and the Bcl2 protein expression was lower than that in Streptococcus pneumoniae+Si-NC

作者简介:李小丽,女,主治医师,主要从事呼吸介入等方向研究。
本文引用格式:李小丽,王辉,张庆军. LncRNA TUG1 靶向 miR-222-3p 对肺炎链球菌诱导的肺泡上皮细胞损伤的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(24): 3054-3058.

group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). TUG1 targeted and regulated the expression of miR-222-3p. The apoptosis rate and Bax protein expression of HPAEpiC cells in Streptococcus pneumoniae + miR-222-3p group were higher than those in Streptococcus pneumoniae + miR-NC group, and the Bcl2 protein expression was lower than that in Streptococcus pneumoniae + miR-NC group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with those in Streptococcus pneumoniae Si-TUG1 + anti-miR-NC group, the cell apoptosis rate and Bax protein expression of HPAEpiC cells in Streptococcus pneumoniae + Si-TUG1 + anti-miR-222-3p group decreased, while the Bcl2 protein expression increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** TUG1 lowly expresses in HPAEpiC cells infected by Streptococcus pneumoniae. TUG1 could inhibit HPAEpiC cells apoptosis by targeting miR-222-3p.

Key words: human alveolar epithelial cells; Streptococcus pneumoniae; apoptosis; taurine up-regulated gene 1; miR-222-3p

肺炎在全球发病率非常高,患者康复时间长且病死率高^[1]。肺炎链球菌是一种机会性病原体,定植在人类上呼吸道的黏膜表面,通过局部扩散、吸入或播种等方式到达血液中,引起肺炎等疾病^[2-4]。因此,了解肺炎链球菌感染过程涉及的分子途径对于预防和治疗肺炎至关重要。越来越多的研究显示,长链非编码 RNA(LncRNA)是多种人类疾病诊断的潜在生物标志物^[5-6]。LncRNA 牛磺酸上调基因 1(TUG1)通过抑制微小 RNA(miRNA)-127,保护脂多糖(LPS)诱发的 MRC-5 细胞损伤,在肺炎中显示出较好的治疗效果^[6]。TUG1 通过海绵 miR-590-5p/FGF1 促进哮喘患者气道平滑肌细胞的增殖和迁移,并减少了细胞凋亡^[7]。miR-222-3p 在肺炎支原体肺炎患儿中高表达,可能是诊断肺炎支原体肺炎和判断患者预后的生物标志物^[8]。但 TUG1 对肺炎链球菌感染的人肺泡上皮细胞(HPAEpiC 细胞)凋亡的影响,以及 miR-222-3p 是否介导其作用过程,目前尚未明确。因此,本研究以肺炎链球菌感染 HPAEpiC 细胞构建肺损伤模型,并评估 TUG1 在该模型中的影响,除此之外,还探讨了 TUG1 和 miR-222-3p 之间的调控关系,同时评估 miR-222-3p 在 TUG1 影响细胞损伤中的作用,揭示 TUG1 的潜在作用机制,为治疗肺炎提供新的依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 72 株 HPAEpiC 细胞(美国 ScienCell),肺炎链球菌-3 型(美国菌种保藏中心),Lipofectamine 2000、TUG1 小干扰 RNA(Si-TUG1)、阴性对照 siRNA(Si-NC,美国 Invitrogen),miR-222-3p、miR-NC、anti-miR-222-3p、anti-miR-NC(上海吉玛),PrimeScript RT 试剂盒、SYBR Green Premix Ex Taq(大连 Takara),miRcute miRNA qPCR 检测试剂盒(北京 Tiangen),膜联蛋白 V(Annexin V)-FITC/PI 试剂盒(上海 Beyotime),牛血清蛋白、总蛋白提取试剂盒(上海 Solarbio),硝酸纤维素膜(美国 Millipore),PGL3 报告基因载体、双荧光素酶报告基因检测系统(美国 Promega)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与肺炎链球菌感染 HPAEpiC 细胞在含有 10%胎牛血清的 Dulbecco 改良 Eagle 培养

基(DMEM)/F12 中于 37 ℃、5% CO₂ 的湿润环境下培养。肺炎链球菌在含脱纤维羊血(5%)的血平板中培养。感染时,采用 1×10^8 CFU/mL 肺炎链球菌(提前 12 h 在含 0.5%酵母的托休二氏溶液中培养)感染 HPAEpiC 细胞 48 h^[9]。

1.2.2 细胞分组与处理 HPAEpiC 细胞分为对照(NC)组、肺炎链球菌组、肺炎链球菌 + Si-NC 组、肺炎链球菌 + Si-TUG1 组、肺炎链球菌 + miR-NC 组、肺炎链球菌 + miR-222-3p 组、肺炎链球菌 + Si-TUG1 + anti-miR-NC 组、肺炎链球菌 + Si-TUG1 + anti-miR-222-3p 组。NC 组 HPAEpiC 细胞未做任何处理;肺炎链球菌组 HPAEpiC 细胞以 1×10^8 CFU/mL 肺炎链球菌感染;肺炎链球菌 + Si-NC 组、肺炎链球菌 + Si-TUG1 组、肺炎链球菌 + miR-NC 组、肺炎链球菌 + miR-222-3p 组的 HPAEpiC 细胞分别转染 Si-NC、Si-TUG1、miR-NC、miR-222-3p,肺炎链球菌 + Si-TUG1 + anti-miR-NC 组、肺炎链球菌 + Si-TUG1 + anti-miR-222-3p 组共转染 Si-TUG1 + anti-miR-NC、Si-TUG1 + anti-miR-222-3p,转染后 24 h,以 1×10^8 CFU/mL 肺炎链球菌感染。HPAEpiC 细胞转染时,按照制造商的操作规程,将 HPAEpiC 细胞在六孔板上预孵育至 40%~60%汇合,然后与寡核苷酸或 siRNA 及 Lipofectamine 2000 一起孵育进行转染。

1.2.3 实时定量 PCR 检测 TUG1、miR-222-3p 表达 根据制造商的规程,通过 TRIzol 试剂从 HPAEpiC 细胞中提取总 RNA。使用 PrimeScript RT 试剂盒进行 cDNA 合成。使用 SYBR Green Premix Ex Taq 和 miRcute miRNA qPCR 检测试剂盒在 ABI 7500 系统上进行实时定量 PCR 检测。GAPDH 和 U6 充当内源性对照。引物序列为 TUG1 正向 5'-GGACACAATTCGC-CACGACTT-3',反向 5'-GCGCAGTCCCAGATTCCA-3';GAPDH 正向 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3',反向 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'。miR-222-3p 正向 5'-AGCTACATCTGGCTACTGG-3',反向 5'-GTATCCAGTGCAGGGTCC-3';U6 正向 5'-CTC GCTTCGGCAGCACA-3',反向 5'-TGGTGTCGT GGAGTCG-3'。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡 借助 Annexin V-FITC/PI 试剂盒检测 HPAEpiC 细胞凋亡(1×10^5 个细胞/孔)。将 500 μ L 结合缓冲液与 HPAEpiC 细胞悬液混合。然后,添加 5 μ L Annexin V-FITC 并保持 5 min,随后添加 5 μ L PI 并在黑暗中于室温下反应 10 min。使用 Beckman Coulter 流式细胞仪检测细胞凋亡水平。

1.2.5 Western blotting 检测蛋白表达 使用总蛋白提取试剂盒提取总蛋白,并使用二辛可宁酸方法对 HPAEpiC 细胞蛋白进行定量。制备分离凝胶(10%)和浓缩凝胶(5%),每个孔中加入 20 μ L 蛋白样品,进行 SDS-PAGE,电泳结束,在 3 mA 下 2 h 完成硝酸纤维素膜的转移。室温下用 5%牛血清清蛋白封闭膜 2 h。将一抗 Bcl2 相关 X 蛋白(Bax 蛋白,1:3 000 稀释)和 B 细胞淋巴瘤/白血病 2(Bcl2 蛋白,1:3 000 稀释)与膜在 4 $^{\circ}$ C 条件下孵育过夜,然后,将其与 HRP 标记二抗(1:5 000 稀释)在室温下混合 2 h,采用增强化学发光法(ECL)化学发光保持 30 min 后,再采用 Image-Pro Plus 软件进行蛋白水平分析。

1.2.6 双荧光素酶报告实验 含有 miR-222-3p 结合位点的野生型(WT)-TUG1/突变型(MUT)-TUG1 序列被扩增并克隆到 PGL3 报告基因载体中。将 HPAEpiC 细胞接种到六孔板中后培养过夜,并与 WT-TUG1/MUT-TUG1 报告基因质粒和 miR-222-3p/miR-NC 共转染。转染后 48 h,萤火虫和海肾荧

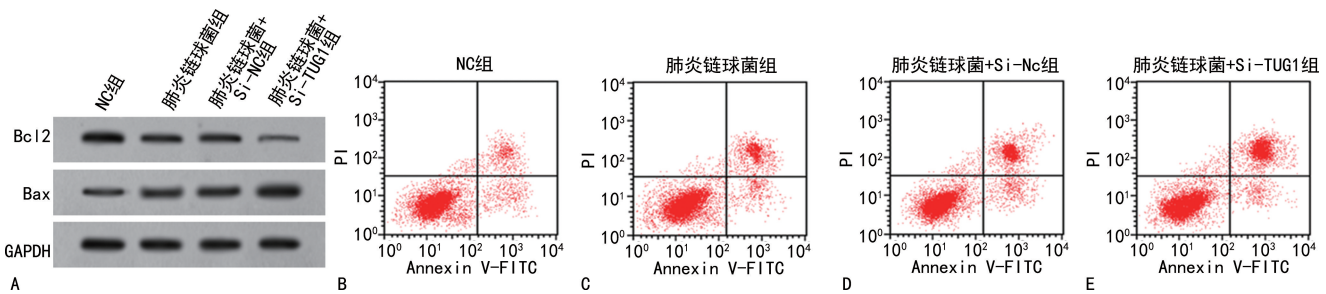
光素酶活性使用双荧光素酶报告基因检测系统测量。针对海肾荧光素酶基因的活性对数据进行标准化。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,多组间中的两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺炎链球菌感染对 HPAEpiC 细胞中 miR-222-3p 和 TUG1 表达的影响 肺炎链球菌感染前后,肺炎链球菌组 HPAEpiC 细胞中 TUG1 表达量为(0.43 ± 0.03),约为 NC 组(1.03 ± 0.02)的 0.42 倍,肺炎链球菌组 miR-222-3p 表达量为(2.30 ± 0.09),约为 NC 组(1.01 ± 0.03)的 2.28 倍,差异均有统计学意义($t=18.790,P<0.001;t=13.860,P<0.001$)。

2.2 转染 TUG1 对肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡的影响 肺炎链球菌组和肺炎链球菌+Si-NC 组 HPAEpiC 细胞的 TUG1 表达量均低于 NC 组,凋亡率、Bax 蛋白表达量均高于 NC 组,Bcl2 蛋白表达量低于 NC 组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。肺炎链球菌+Si-TUG1 组 HPAEpiC 细胞的 TUG1 表达量低于肺炎链球菌+Si-NC 组,凋亡率、Bax 蛋白表达量均高于肺炎链球菌+Si-NC 组,Bcl2 蛋白表达量低于肺炎链球菌+Si-NC 组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 1、表 1。



注:A 为蛋白质电泳图;B、C、D、E 均为流式凋亡图。

图 1 转染 TUG1 对肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡的影响

表 1 转染 TUG1 对肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡的影响($\bar{x}\pm s,n=9$)				
组别	TUG1	凋亡率(%)	凋亡蛋白	
			Bax	Bcl2
NC 组	1.00 $\pm$ 0.02	8.93 $\pm$ 0.73	0.73 $\pm$ 0.04	0.83 $\pm$ 0.03
肺炎链球菌组	0.40 $\pm$ 0.02 [*]	26.17 $\pm$ 0.31 [*]	1.73 $\pm$ 0.11 [*]	0.40 $\pm$ 0.02 [*]
肺炎链球菌+Si-NC 组	0.42 $\pm$ 0.03 [*]	25.51 $\pm$ 0.62 [*]	1.72 $\pm$ 0.16 [*]	0.34 $\pm$ 0.02 [*]
肺炎链球菌+Si-TUG1 组	0.29 $\pm$ 0.02 [#]	33.07 $\pm$ 1.42 [#]	1.89 $\pm$ 0.03 [#]	0.25 $\pm$ 0.01 [#]
F	261.500	139.000	275.600	142.400
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 NC 组比较,^{*} $P<0.05$;与肺炎链球菌+Si-NC 组比较,[#] $P<0.05$ 。

2.3 TUG1 靶向调控 miR-222-3p 的表达 miR-222-3p 与 TUG1 含有靶向结合的核苷酸序列,生物信息学预测结果见图 2。miR-222-3p 与 WT-TUG1 共转染的荧光素酶活性(0.46 ± 0.03)是 miR-NC 与 WT-TUG1 共转染的荧光素酶活性(1.00 ± 0.01)的 0.46 倍,差异有统计学意义($t=18.960,P<0.001$);而 miR-222-3p、MUT-TUG1 共转染的荧光素酶活性(1.00 ± 0.02)与 miR-NC、MUT-TUG1 共转染的荧光素酶活性(1.02 ± 0.03)比较,差异无统计学意义($t=0.429,P=0.674$)。

2.4 过表达 miR-222-3p 对肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡的影响 肺炎链球菌+miR-222-3p 组 HPAEpiC 细胞的 miR-222-3p 表达量、凋亡率、Bax

蛋白表达量比肺炎链球菌+miR-NC 组高,且 Bcl2 蛋白表达量比肺炎链球菌+miR-NC 组低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 3、表 2。

2.5 干扰 miR-222-3p 表达部分逆转 TUG1 对肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡的影响 与肺炎链球菌+Si-TUG1+anti-miR-NC 组比较,肺炎链球菌+Si-TUG1+anti-miR-222-3p 组 HPAEpiC 细胞中 miR-222-3p 表达量、凋亡率和 Bax 蛋白表达量降

低,Bcl2 蛋白表达量升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 4、表 3。

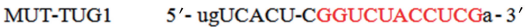
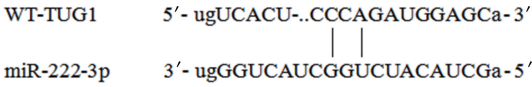
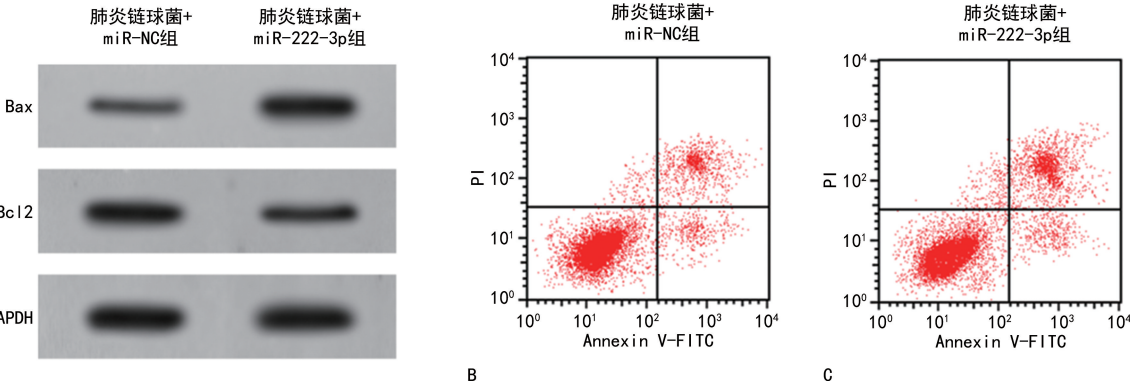


图 2 miR-222-3p 含有与 TUG1 靶向结合的位点

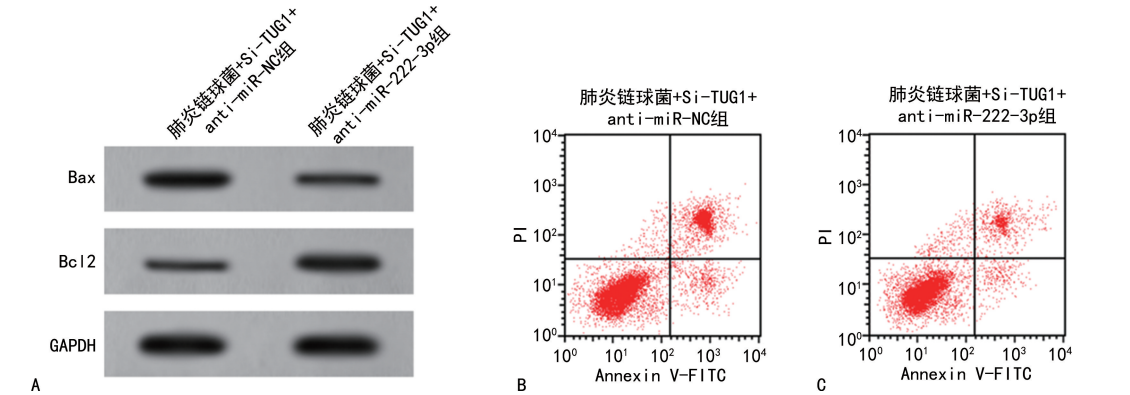


注:A 为蛋白质电泳图;B、C 均为流式凋亡图。

图 3 过表达 miR-222-3p 对肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡的影响

表 2 肺炎链球菌+miR-NC 组和肺炎链球菌+miR-222-3p 组的 miR-222-3p、凋亡率、凋亡蛋白比较($\bar{x}\pm s,n=9$)

组别	miR-222-3p	凋亡率 (%)	凋亡蛋白	
			Bax	Bcl2
肺炎链球菌+miR-NC 组	1.02±0.02	14.93±0.60	1.01±0.03	0.69±0.01
肺炎链球菌+miR-222-3p 组	2.41±0.02	26.13±1.22	1.57±0.06	0.36±0.03
<i>t</i>	53.110	8.245	8.603	9.997
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001



注:A 为蛋白质电泳图;B、C 均为流式凋亡图。

图 4 干扰 miR-222-3p 表达部分逆转 TUG1 对肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡的影响

表 3 肺炎链球菌+Si-TUG1+anti-miR-NC 组与肺炎链球菌+Si-TUG1+anti-miR-222-3p 组的 miR-222-3p、凋亡率、凋亡蛋白比较($\bar{x}\pm s,n=9$)

组别	miR-222-3p	凋亡率(%)	凋亡蛋白	
			Bax	Bcl2
肺炎链球菌+Si-TUG1+anti-miR-NC 组	1.06±0.04	33.04±0.89	1.32±0.09	0.32±0.03
肺炎链球菌+Si-TUG1+anti-miR-222-3p 组	0.49±0.06	17.11±0.91	0.71±0.02	0.82±0.04
<i>t</i>	6.153	12.500	6.401	10.770
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨 论

本研究探讨了 TUG1 对肺炎链球菌感染的 HPAEpiC 细胞的影响, 结果发现, 肺炎链球菌触发了 HPAEpiC 细胞凋亡。此外, 干扰 TUG1 加速了肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡。另外, 干扰 miR-222-3p 表达部分逆转干扰 TUG1 对肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡的影响。

TUG1 已被广泛应用于各种癌症研究中, 包括肾细胞癌^[10]、前列腺癌^[11]、胃癌^[12]、结肠癌^[13]。越来越多的证据证实 TUG1 在多种癌症病理、生理过程中均发挥了特定的生物学功能。例如, 一项研究表明, 过表达的 TUG1 通过减弱细胞凋亡和炎症反应来保护小鼠免受寒冷诱导的肝损伤^[14]。此外, 研究表明, 在 LPS 引起的 MRC-5 细胞损伤中, TUG1 减轻了细胞凋亡, 下调 Bax 蛋白表达而上调 Bcl2 蛋白表达, 机制与调控 miR-127 有关^[6]。在哮喘大鼠模型中, 沉默 TUG1 可增加哮喘中气道平滑肌细胞的凋亡, 而 TUG1 过表达抑制细胞凋亡^[7]。然而, 目前研究尚未揭示 TUG1 是否能保护 HPAEpiC 细胞免受肺炎链球菌触发的细胞损伤。本研究观察到, TUG1 在肺炎链球菌感染的 HPAEpiC 细胞中低表达, 干扰 TUG1 能明显促进肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡。同时, 干扰 TUG1 可诱导促凋亡蛋白 Bax 蛋白的表达并抑制抗凋亡蛋白 Bcl2 蛋白的表达。这些数据均提示, TUG1 对 HPAEpiC 细胞中肺炎链球菌触发的细胞凋亡具有抑制作用。

miRNA 通过控制参与组织发育和再生的多个信号和转录因子的表达, 已成为病理过程的关键调节剂^[15]。根据报道, 在胃癌^[16]、肾细胞癌^[17]、非小细胞肺癌^[18]和宫颈癌^[19]患者中, miR-222-3p 表达增加。然而, 在卵巢癌^[20]及严重心肌纤维化患者中观察到较低的 miR-222-3p 水平^[21]。可见在不同疾病患者中, miR-222-3p 表达不同。研究显示, 与正常椎间盘组织比较, 椎间盘退变组织中的 miR-222-3p 明显增加; miR-222-3p 过表达明显增加了髓核细胞的凋亡并减少其增殖, miR-222-3p 的下调可抑制髓核细胞凋亡并诱导增殖; miR-222-3p 会加速椎间盘退变的发展^[22]。本研究发现, 肺炎链球菌感染使 HPAEpiC 细胞 miR-222-3p 表达上调, 与以往研究报道一致^[8]。更重要的是, miR-222-3p 过表达可以增加肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡, 同时上调促凋亡蛋白 Bax 蛋白, 下调抗凋亡蛋白 Bcl2 蛋白。上述数据与以往的研究部分相似^[22], 提示 miR-222-3p 可能加重肺炎链球菌感染的 HPAEpiC 细胞损伤。

本研究的生物信息学预测表明, TUG1 序列中存在假定的 miR-222-3p 结合位点。双荧光素酶报告实验结果揭示了 miR-222-3p 为 TUG1 的靶标, TUG1 可以靶向调控 miR-222-3p 的表达。但 miR-222-3p 是否影响 TUG1 对肺炎链球菌感染的 HPAEpiC 细胞损伤的保护活性仍然未知。本研究进一步观察到,

干扰 miR-222-3p 表达后, 干扰 TUG1 促进肺炎链球菌诱导的 HPAEpiC 细胞凋亡的作用被部分逆转。表明 TUG1 通过靶向调控肺炎链球菌感染的 HPAEpiC 细胞中 miR-222-3p 的表达, 减轻细胞凋亡。

综上所述, TUG1 通过靶向 miR-222-3p 对肺炎链球菌感染的 HPAEpiC 细胞起保护活性。这些发现可能为肺炎链球菌感染的肺炎提供一种新的治疗方法。

参考文献

- [1] WANG Y, LI Y, ZHANG P, et al. Regenerative therapy based on miRNA-302 mimics for enhancing host recovery from pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(17):8493-8498.
- [2] WEISER J N, FERREIRA D M, PATON J C. *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16(6):355-367.
- [3] 郑跃杰. 肺炎链球菌疾病与微生态平衡[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2020, 35(7):543-546.
- [4] BROOKS L R K, MIAS G I. *Streptococcus pneumoniae*'s virulence and host immunity: aging, diagnostics, and prevention[J]. *Front Immunol*, 2018, 9:1366-1394.
- [5] LOZANO-VIDAL N, BINK D I, BOON R A. Long non-coding RNA in cardiac aging and disease[J]. *J Mol Cell Biol*, 2019, 11(10):860-867.
- [6] MENG J, CHEN Y, ZHANG C. Protective impacts of long noncoding RNA taurine-upregulated 1 against lipopolysaccharide-evoked injury in MRC-5 cells through inhibition of microRNA-127[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9):14928-14935.
- [7] LIN J, FENG X, ZHANG J, et al. Long noncoding RNA TUG1 promotes airway smooth muscle cells proliferation and migration via sponging miR-590-5p/FGF1 in asthma [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(5):3159-3166.
- [8] CHU C, LEI X, LI Y, et al. High expression of miR-222-3p in children with *Mycoplasma pneumoniae pneumonia* [J]. *Ital J Pediatr*, 2019, 45(1):163-170.
- [9] 王勇, 孙朝峰, 胡钱红. NF- κ B p65 对肺炎链球菌诱导的肺泡上皮细胞凋亡及炎症因子表达的影响[J]. *实用预防医学*, 2018, 25(5):547-550.
- [10] LIU S, YANG Y, WANG W, et al. Long noncoding RNA TUG1 promotes cell proliferation and migration of renal cell carcinoma via regulation of YAP[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(12):9694-9706.
- [11] YANG B, TANG X, WANG Z, et al. TUG1 promotes prostate cancer progression by acting as a ceRNA of miR-26a[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(5):BSR20180677.
- [12] 刘士平, 谢俊锋, 吴小娟, 等. 长链非编码 RNA TUG1 对胃癌 AGS 细胞增殖和凋亡的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(11):1256-1261.
- [13] 姚凯, 朱光辉, 单远洲. 长链非编码 RNA TUG1 和 UCA1 在结肠癌组织中的表达及临床意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2018, 27(4):449-456.
- [14] SU S, LIU J, HE K, et al. Overexpression of the long non-coding RNA TUG1 protects against cold-(下转第 3063 页)

- ogy of human coronary and carotid artery atherosclerosis and vascular calcification in diabetes mellitus[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(2):191-204.
 - [4] TSIOLAKI P L, NASTOU K C, LOUROS N N, et al. Exploring amyloidogenicity of clusterin: a structural and bioinformatics analysis[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 989: 93-107.
 - [5] HOSEINI Z, SEPAHVAND F, RASHIDI B, et al. NLRP3 inflammasome: its regulation and involvement in atherosclerosis[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(3): 2116-2132.
 - [6] SKODA M, STANGRET A, SZUKIEWICZ D. Fractalkine and placental growth factor: a duet of inflammation and angiogenesis in cardiovascular disorders[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2018, 39:116-123.
 - [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版)[J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(4): 292-344.
 - [8] 中华人民共和国卫生部. 冠状动脉粥样硬化性心脏病诊断标准: WS-319-2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
 - [9] SCHWARZ M, SPATH L, LUX C A, et al. Potential protective role of apoprotein J (clusterin) in atherogenesis: binding to enzymatically modified low-density lipoprotein reduces fatty acid-mediated cytotoxicity[J]. *Thromb Haemost*, 2008, 100(1):110-118.
 - [10] YANG N, QIN Q. Apolipoprotein J: a new predictor and therapeutic target in cardiovascular disease[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2015, 128(18):2530-2534.
 - [11] 梁鹏. 急性冠脉综合征患者血清簇集蛋白水平与冠脉狭窄程度相关性研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2019.
 - [12] BRADLEY D, BLASZCZAK A, YIN Z, et al. Clusterin impairs hepatic insulin sensitivity and adipocyte clusterin associates with cardiometabolic risk[J]. *Diabetes Care*, 2019, 42(3):466-475.
 - [13] ZHU H, LIU M, ZHAI T, et al. High serum clusterin levels are associated with premature coronary artery disease in a Chinese population[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2019, 35(4):e3128.
 - [14] KARASAWA T, TAKAHASHI M. Role of NLRP3 inflammasomes in atherosclerosis[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2017, 24(5):443-451.
 - [15] CAI H, WANG P, ZHANG B, et al. Expression of the NEK7/NLRP3 inflammasome pathway in patients with diabetic lower extremity arterial disease[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2020, 8(2):e001808.
 - [16] LIU W, JIANG L, BIAN C, et al. Role of CX3CL1 in diseases[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016, 64(5):371-383.
 - [17] 李苗, 王丽丽, 常冰梅. 血管内皮细胞功能损伤机制的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(8):730-736.
 - [18] RUZE A, ZHAO Y, LI H, et al. Low shear stress upregulates the expression of fractalkine through the activation of mitogen-activated protein kinases in endothelial cells[J]. *Blood Coagul Fibrin*, 2018, 29(4):361-368.
 - [19] ROWINSKA Z, KOEPEL T A, SANATI M, et al. Role of the CX3C chemokine receptor CX3CR1 in the pathogenesis of atherosclerosis after aortic transplantation[J]. *PLoS One*, 2017, 12(2):e0170644.
- (收稿日期:2021-02-02 修回日期:2021-09-17)
-
- (上接第 3058 页)
- induced injury of mouse livers by inhibiting apoptosis and inflammation[J]. *FEBS J*, 2016, 283(7):1261-1274.
- [15] LU T X, ROTHENBERG M E. microRNA[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(4):1202-1207.
- [16] TAN X, TANG H, BI J, et al. microRNA-222-3p associated with *Helicobacter pylori* targets HIPK2 to promote cell proliferation, invasion, and inhibits apoptosis in gastric cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7):5153-5162.
- [17] LYU J, ZHU Y, ZHANG Q. An increased level of miR-222-3p is associated with TMP2 suppression, ERK activation and is associated with metastasis and a poor prognosis in renal clear cell carcinoma[J]. *Cancer Biomark*, 2020, 28(2):141-149.
- [18] CHEN W, LI X. miR-222-3p Promotes cell proliferation and inhibits apoptosis by targeting puma (bbc3) in non-small cell lung cancer[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2020, 19:1533033820922558.
- [19] 薄晓莉, 哈丽亚·哈力木别克, 潘静, 等. miR-222-3p 靶向 SOCS5 促进宫颈癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. *医学研究杂志*, 2020, 49(4):100-104.
- [20] FAN L, LEI H, ZHANG S, et al. Non-canonical signaling pathway of SNAIL2 induces EMT in ovarian cancer cells by suppressing miR-222-3p transcription and upregulating PDCD10[J]. *Theranostics*, 2020, 10(13):5895-5913.
- [21] VERJANS R, PETERS T, BEAUMONT F J, et al. microRNA-221/222 family counteracts myocardial fibrosis in pressure overload-induced heart failure[J]. *Hypertension*, 2018, 71(2):280-288.
- [22] LIU J, YU J, JIANG W, et al. Targeting of CDKN1B by miR-222-3p may contribute to the development of intervertebral disc degeneration[J]. *FEBS Open Bio*, 2019, 9(4):728-735.
- (收稿日期:2021-02-03 修回日期:2021-09-10)