

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20241127.001

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20241127.1332.002>

LncRNA MIAT/miR-150-5p/NEGR1 分子轴在大鼠脊髓缺血再灌注损伤中的表达

王 峥¹, 马梦洁[✉], 刘建光¹, 杨秋香³

(1. 武汉市第三医院神经内科, 湖北 武汉 430060; 2. 武汉市第三医院消化内科, 湖北 武汉 430060; 3. 武汉市第三医院药剂科, 湖北 武汉 430060)

[摘要] **目的:**探讨 lncRNA MIAT/miR-150-5p/NEGR1 分子轴在大鼠脊髓缺血再灌注损伤(spinal cord ischemia reperfusion injury, SCIRI)中的表达及其可能的机制。**方法:**建立 SCIRI 大鼠模型, 将 18 只 SD 大鼠分为假手术(Sham)组和 SCIRI 模型(I/R)组, 每组 9 只。神经功能评分评估大鼠后肢运动活动情况, H&E 染色和尼氏染色观察脊髓组织病理变化及神经元尼氏体形态结构, qRT-PCR 检测脊髓组织中 lncRNA MIAT、miR-150-5p 和 NEGR1 的 mRNA 表达, 利用 Starbase 数据库、TargetScan7.2 靶基因预测网站及双荧光素酶报告基因检测验证 lncRNA MIAT 与 miR-150-5p、miR-150-5p 与 NEGR1 靶向调控关系。**结果:**与 Sham 组相比, I/R 组大鼠 Basso-Beattie-Bresnahan 评分显著降低($P < 0.05$), 脊髓组织可见神经元损伤, 尼氏体数量减少, lncRNA MIAT 和 NEGR1 的表达显著上调($P < 0.05$), miR-150-5p 的表达显著下调($P < 0.05$)。双荧光素酶报告基因检测结果显示, lncRNA MIAT 与 miR-150-5p、miR-150-5p 与 NEGR1 之间均存在靶向调控关系。**结论:** LncRNA MIAT 在 SCIRI 模型大鼠中高表达, 其可能通过调控 miR-150-5p/NEGR1 分子轴参与 SCIRI 发生、发展。

[关键词] 脊髓缺血再灌注损伤; lncRNA MIAT; miR-150-5p; NEGR1

[中图分类号] R651.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2025)19-1441-08

Expression of the LncRNA MIAT/miR-150-5p/NEGR1 axis in rat spinal cord ischemia-reperfusion injury

WANG Zheng¹, MA Mengjie[✉], LIU Jianguang¹, YANG Qiuxiang³

(1. Department of Neurology, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430060, China; 2. Department of Gastroenterology, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430060, China; 3. Department of Pharmacy, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430060, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the Natural Science Foundation Project of Hubei Province (2019CFB762)

[Author]: WANG Zheng, Associate Chief Physician, E-mail: 3557384126@qq.com.

[Correspondence to]: MA Mengjie, Nurse-in-Charge, E-mail: 402721685@qq.com.

Received: 2024-08-21

Revised: 2024-11-13

JHMU, 2025;31(19);1441-1448

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression and possible mechanisms of lncRNA MIAT/miR-150-5p/NEGR1 axis in rat spinal cord ischemia-reperfusion injury (SCIRI). **Methods:** A SCIRI rat model was established, and 18 SD rats were divided into the Sham group and the SCIRI model (I/R) group, with 9 rats in each group. Neurological function score was used to evaluate hind limb motor activity in rats. H&E staining and Nissl staining were used to observe the pathological changes of spinal cord tissue and the morphology and structure of neuron Nissl bodies. qRT-PCR was used to detect the mRNA expression of lncRNA MIAT, miR-150-5p, and NEGR1 in spinal cord tissue. The targeted regulatory relationship between lncRNA MIAT and miR-150-5p as well as miR-150-5p and NEGR1 was verified by Starbase database, TargetScan7.2 target gene prediction website, and double luciferase reporter gene assay. **Results:** Compared to the Sham group, the Basso-Beattie-Bresnahan score was significantly

[基金项目] 湖北省自然科学基金资助项目(2019CFB762)

[作者简介] 王峥, 副主任医师, E-mail: 3557384126@qq.com。

[通讯作者] 马梦洁, 主管护师, E-mail: 402721685@qq.com。

[收稿日期] 2024-08-21

[修回日期] 2024-11-13

网络出版时间: 2024-11-27 14:17:32

lower ($P<0.05$), neuronal injury was observed in spinal cord tissue, the number of Nissl bodies decreased, the expression of lncRNA MIAT and NEGR1 were significantly up-regulated ($P<0.05$), and the expression of miR-150-5p was significantly down-regulated ($P<0.05$) in I/R group. Dual luciferase reporter gene detection results showed that there were targeted regulatory relationships between lncRNA MIAT and miR-150-5p as well as miR-150-5p and NEGR1. **Conclusion:** LncRNA MIAT is highly expressed in SCIRI model rats, which may be involved in the occurrence and development of SCIRI by regulating miR-150-5p/NEGR1 axis.

[Key words] Spinal cord ischemia-reperfusion injury; lncRNA MIAT; miR-150-5p; NEGR1

脊髓缺血再灌注损伤(spinal cord ischemia reperfusion injury, SCIRI)是严重的继发性脊髓损伤之一,常见于脊柱、胸腹主动脉瘤术后,会诱发一系列损伤(如神经元损伤),导致功能丧失和行为障碍,严重者可导致截瘫,给患者及其家属带来巨大经济和精神负担^[1,2]。SCIRI机制复杂,其发生可能与细胞凋亡、炎症、兴奋性氨基酸毒性、活性氧的过量产生等有关^[3]。目前临床上仍无有效药物及治疗措施,因此迫切需要寻找早期诊断及治疗 SCIRI 的分子靶点。从分子生物学层面解释疾病的发生、发展的原因,可以将疾病的发生发展归因于信号调控网络系统中具有特殊功能的基因发生异常表达并以调控网络的形式,从整体上影响了整个机体的稳态,进而引起机体为应对不同刺激而选择的急性应激反应。

长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)的异常表达往往伴随着每种疾病的发生发展^[3]。多项研究表明 lncRNA 在 SCIRI 的发病机制中发挥了重要作用,但 lncRNA 在 SCIRI 中的功能和机制仍未完全阐明^[4,5]。大量研究证实, lncRNA 和 miRNA 均与 SCIRI 的发展密切相关。作为小型且进化保守的非编码 RNA 系列,微小 RNA(miRNA)能够通过抑制靶标 mRNA 的翻译或促进 mRNA 的降解来调节生理和病理过程^[6]。研究表明 lncRNA-mRNA 竞争性内源 RNA 网络在缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, I/R)的转录调控中发挥作用,内源性竞争 RNA(competitive endogenous RNA, ceRNA)可与 miRNA 结合,调节具有相同反应元件的 RNA 的表达^[7]。其中 lncRNA 和 mRNA 可以通过共享至少一个 miRNA 反应元件,作为 miRNA 海绵与 miRNA 竞争,来抑制其他 RNA 的功能^[8,9]。LncRNA MIAT 是一种与缺血、低氧疾病相关的 lncRNA, Li 等^[10]研究显示 lncRNA MIAT 过表达降低缺氧缺血性损伤中神经元的凋亡。但目前,关于 lncRNA MIAT 在 SCIRI 中的研究相对较少,因此,本研究旨在揭示 lncRNA MIAT 在 SCIRI 中的作用及其可能的机制,为 SCIRI 的潜在新型诊断标记和治疗靶点提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

18 只健康雄性 SPF 级 SD 大鼠, 8 周龄, 体重 (260 ± 20) g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 实验动物使用许可证号: SYXK(鄂)2018-0104, 动物实验伦理号: HLK-20200305-001。

1.2 主要试剂

戊巴比妥钠购自 Sigma 公司, 伊红和中性树脂购自 Solarbio 公司, 苏木精染液和尼氏体染色液购自 Servicebio 公司, Trizol 购自 Ambion 公司, SYBRTM FAST qPCR Master Mix 购自 KAPA Biosystems 公司, 反转录试剂盒购自 TAKARA 公司, 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.3 SCIRI 大鼠模型构建

参考文献[11]进行 SCIRI 大鼠模型构建: 大鼠称重后经腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 麻醉, 剃毛备皮, 取仰卧位, 无菌条件下选取腹部正中切口, 钝性分离周围软组织后, 用动脉夹夹闭左肾下方腹主动脉, 45 min 后恢复血供, 逐层关闭腹腔。术后 12、24、48 h 进行神经功能评分。造模 48 h 后, 处死大鼠, 取腰椎段脊髓。

1.4 实验分组

采用随机数字表法将 18 只大鼠分为假手术 (Sham) 组和 SCIRI 模型 (I/R) 组, 每组 9 只。Sham 组仅切开腹腔, 不夹闭腹主动脉。I/R 组按“1.3 SCIRI 大鼠模型构建”项进行造模。

1.5 神经功能评分

根据 Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) 评分标准表从 0 (完全麻痹) 到 21 (正常运动) 评估术后 12、24、48 h 大鼠后肢运动活动情况^[12]。

1.6 H&E 染色

将大鼠脊髓组织样本从固定液中取出, 脱水浸蜡包埋, 包埋完成的组织样本于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻至适当硬度后切成厚度为 3 μm 的切片, 水浴展片使切片无气泡、烤片。将脊髓组织切片进行常规脱蜡至水处理, 水洗 1 min 后加入苏木精染液然后 3 min, 水洗后加入利用促蓝液处理 10 s 返蓝, 流水冲洗 30 s, 伊

红染液染色 3 min,梯度乙醇(85%、90%、100%)分别处理 30、30、10 s,脱水后二甲苯透明 3 s。最后用中性树脂封片,显微镜下观察组织病理变化,并拍照。

1.7 尼氏染色

将大鼠脊髓组织样本从固定液中取出,按“1.6 H&E 染色”项步骤脱水浸蜡并包埋,切成厚度为 3 μm 的切片,展片、烤片,脱蜡至水。然后加入尼氏体染色液染色 5 min,去离子水冲洗,甩干切片上多余水分,烘箱 65 ℃烤干,中性树脂封片,显微镜下观察神经元尼氏体形态结构。

1.8 qRT-PCR 检测

取大鼠脊髓组织样本约 100 mg,Trizol 提取总 RNA,反转录合成 cDNA,以 cDNA 为模板进行扩增。扩增条件:95 ℃ 3 min;95 ℃ 5 s,56 ℃ 10 s,72 ℃ 25 s,共 40 个循环。PCR 引物由武汉天一华煜基因科技有限公司合成。引物序列见表 1。反应结束后获取 CT 值,以 GAPDH 和 U6 为内参,采用 2^{-ΔΔCT}法进行统计分析。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Tab 1 Primer sequence for qRT-PCR

Name	Primer sequence (5'~3')
MIAT	F: AGAAGGAGGAGGCAGATAGTT R: TGCTGAGTTGTGGTGACG
miR-181b-5p	F: GGGAACATTCATTGCTGTCCG R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-200a	F: GGGCATCTTACCGGACAG R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-141	F: GGGTCCATCTTCCAGTGC R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-29c	F: GGGTGACCGATTCTCCTG R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-132-3p	F: GGGGTAACAGTCTACAGCCA R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-93-5p	F: GGGCAAAGTGCTGTTTCGT R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-133	F: GGGCTGGTCAAACGGAA R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-214	F: GGGGGGAAGAGTTGTCATG R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-34a	F: GGGATGGCAGTGCTTAGCT R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-150-5p	F: GGGTCTCCCAACCCTTGTA R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-155-5p	F: GGGGTTAATGCTAATTGTGAT R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-29b-3p	F: GGGTCTCCCAACCCTTGTA R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG

续表	
Name	Primer sequence (5'~3')
miR-22-3p	F: GGGAAGCTGCCAGTTGAAG R: CTGGTGTCGTGGAGTCGG
miR-29a-3p	F: GGGGTAGCACCATCTGAAAT R: GAGTGGGTGTCGCTGTTGA
VEGFA	F: TGAGCCTTGTTTCAGAGCG R: ACCGCCTTGGCTTGTCA
VEGFC	F: CTTGCTGTGCTTCTTGTCTC R: CAGTGTCCTCTGTCTCAT
CDH5	F: GATGTGCTTGCCATGAGAG R: TGAATACCTGGTGCGTAAA
VEZF1	F: CAGTCACTACATCGTCCTCG R: CATCCGGTCCTTCCTCTT
VCAM1	F: GTTGGGGATTCCGTTGTT R: CTCAGCGTCAGTGTGGATG
NEGR1	F: GTGTTACTTGGAAGACGGAGC R: GCCATCATCTGTCAACATCAAC
NREP	F: AACTCTTGGTCTGGGTCAGC R: ATCTTCTTGCGGTTCACTTC
NYAP2	F: AAACGGAATCCTAACACTCAAC R: GCACACTGCGAAGAACAAC
HAND2	F: ACTCTCCAAAATCAAGACACTG R: GCTGCTCACTGTACTTTTCAA
EG1	F: TAACAGCACTTTGGTGGACG R: TCCGCTGCAATTCCTCC
GAPDH	F: GGGAAACTGTGGCGTGAT R: GAGTGGGTGTCGCTGTTGA
U6	F: CTCGCTTCGGCAGCACATATACT R: ACGCTTCACGAATTTGCGTGTC

1.9 双荧光素酶报告基因检测

将荧光素酶报告载体(pmirGLO-lncRNA MIAT-野生型和 pmirGLO-lncRNA MIAT-突变型)分别与 miR-150-5p-mimics 和 miR-150-5p-NC 用脂质体法转染 HEK-293 细胞,转染 4 h 后换新鲜培养基,转染 24 h。严格按照双荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书进行实验操作,结果以萤火虫荧光素酶活性值与海肾荧光素酶活性值的比值表示。

将荧光素酶报告载体(pmirGLO-NEGR1-野生型和 pmirGLO-NEGR1-突变型)分别与 miR-150-5p-mimics 和 miR-150-5p-NC 用脂质体法转染 HEK-293 细胞,转染 4 h 后换新鲜培养基,转染 24 h。严格按照双荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书进行实验操作,结果以萤火虫荧光素酶活性值与海肾荧光素酶活性值的比值表示。

1.10 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析,实验结果均以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t*

检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠BBB评分

I/R组大鼠在造模后12、24、48 h时的BBB评分均显著低于Sham组 ($P < 0.05$), 随着时间的推移, I/R大鼠BBB评分有所下降, 但无显著性差异 ($P > 0.05$)。综上所述, 表明I/R组大鼠后肢运动功能明显受损, 造模成功, 见图1。

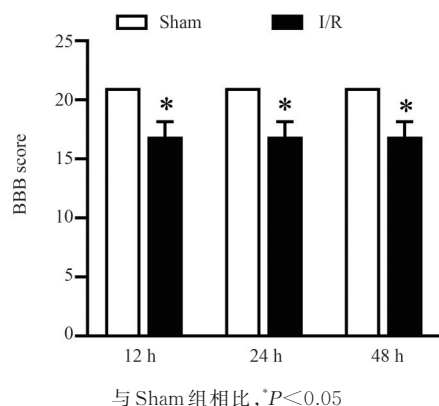


图1 各组BBB评分

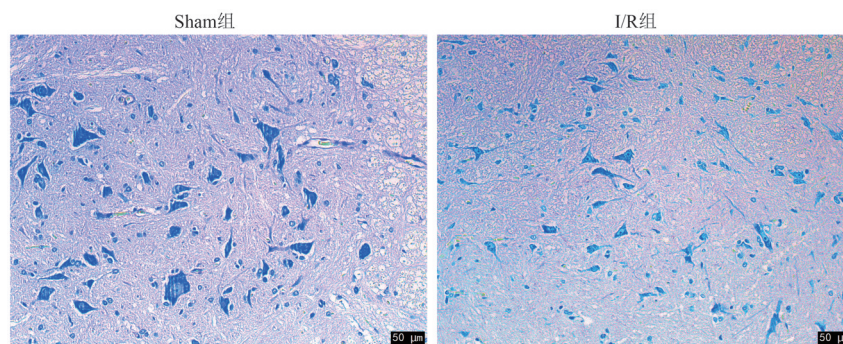
Fig 1 BBB score of each group

2.2 各组大鼠脊髓组织H&E染色

大鼠脊髓组织横断面中脊髓前角部位的神经元结构见图2, Sham组大鼠脊髓组织神经元结构完整, 轮廓清晰, 可见细胞浆中尼氏体, 细胞核圆形, 核仁清晰可见。I/R组大鼠脊髓组织可见神经元损伤, 细胞核溶解, 核仁模糊, 尼氏体减少。

2.3 各组大鼠脊髓组织尼氏染色

Sham组大鼠脊髓组织尼氏体结构清楚, 分布均匀, 数量较多。I/R组大鼠脊髓组织部分尼氏体结构受损, 与Sham组相比数量显著减少 ($P < 0.05$), 见图3。



与Sham组相比, * $P < 0.05$

图3 脊髓组织尼氏染色 ($\times 200$)

Fig 3 Nissl staining of spinal cord tissue ($\times 200$)

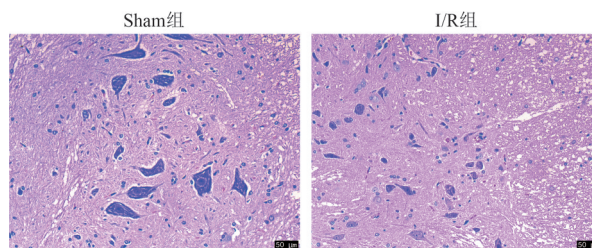


图2 脊髓组织H&E染色 ($\times 200$)

Fig 2 H&E staining of spinal cord tissue ($\times 200$)

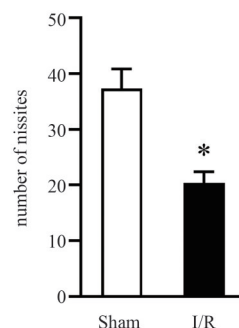
2.4 大鼠脊髓组织中lncRNA MIAT的表达

与Sham组相比, I/R组大鼠脊髓组织中lncRNA MIAT的表达显著上升 ($P < 0.05$), 见图4。

2.5 大鼠脊髓组织中候选miRNA和mRNA的表达

通过前期文献总结, 发现14个与lncRNA MIAT相关miRNAs。qRT-PCR检测其在SCIRI大鼠脊髓组织中的mRNA表达, 见图5。9个 (*miR-181b-5p*、*miR-00a*、*miR-141*、*miR-29c*、*miR-132-3p*、*miR-133*、*miR-214*、*miR-34a*、*miR-29a-3p*) miRNA在SCIRI大鼠脊髓组织中显著上调 ($P < 0.05$), 1个 (*miR-150-5p*) miRNA在SCIRI大鼠脊髓组织中显著下调 ($P < 0.05$)。

后续选取下调的miR-150-5p做进一步深入研究。进一步采用miRNA靶基因预测工具(miRDB、miRTarBase、TargetScan)预测上述miRNAs靶基因, 取交集后采用DAVID在线工具进一步分析预测靶基因的GO及KEGG通路, 选取与神经、血管、水肿等SCIRI病理变化过程相关的基因, 共10个靶基因, 分别为: *VEGFA*、*VEGFC*、*CDH5*、*VEZFI*、*VCAM1*、*NEGR1*、*NREP*、*NYAP2*、*HAND2*、*HEG1*。GO富集分析结果显示涉及到自主神经系统发育、神经元投射发育的正向调节、细胞对生长因子刺激反应的调控、细胞投射组织的正向调节、



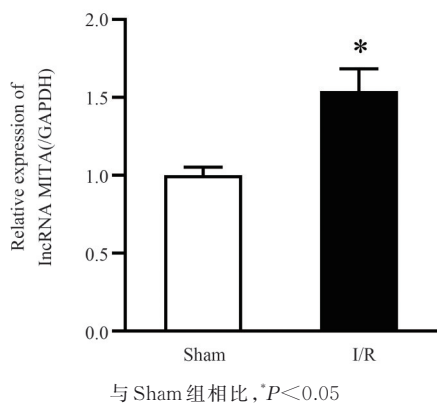
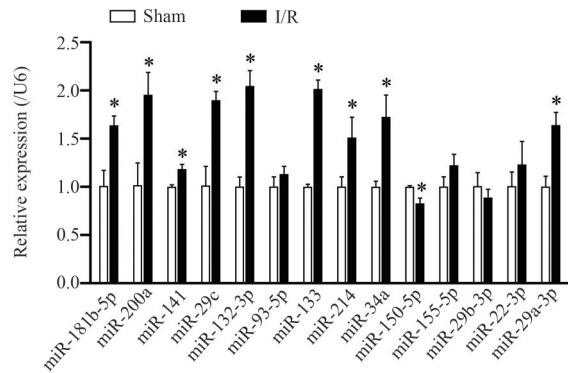


图4 脊髓组织中 lncRNA MIAT 的表达
Fig 4 Expression of lncRNA MIAT in spinal cord tissue

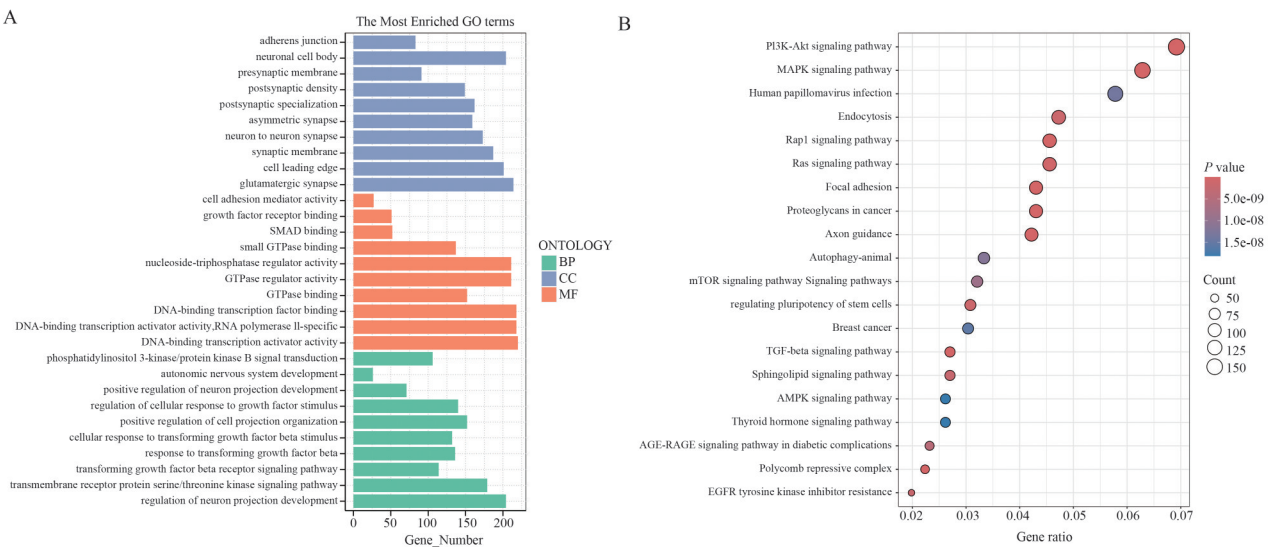
细胞对转化生长因子β刺激的反应等生物调节过程;黏连结点、神经元胞体、突触前膜、突触后密度、突触后特化等细胞组成;细胞黏附介质活性、生长因子受体结合、Smad 绑定、小分子GTP 酶结合、核苷三磷酸酶调节活性等分子功能。KEGG 富集通路中排名前20条可视化显示靶基因与PI3K-Akt和MAPK 信号通路密切相关,见图6。

qRT-PCR 检测候选基因在 SCIRI 大鼠脊髓组

织中的表达,结果见图7,1个(*NEGR1*) mRNA 在 SCIRI 大鼠脊髓组织中显著上调($P<0.05$),8个(*VEGFA*、*VEGFC*、*CDH5*、*VCAM1*、*NREP*、*NYAP2*、*HAND2*、*EG1*) mRNA 在 SCIRI 大鼠脊髓组织中显著下调($P<0.05$)。



与 Sham 组相比, * $P<0.05$
图5 不同组别大鼠脊髓组织中14个与 lncRNA MIAT 相关 miRNAs 的表达
Fig 5 Expression of 14 miRNAs associated with lncRNA MIAT in spinal cord tissue of different groups



A:GO 富集分析排名前10的生物过程、细胞组分、分子功能可视化显示;B:KEGG 富集通路中排名前20条可视化显示
图6 靶基因(A)关联GO分析及(B)关联KEGG 分析

Fig 6 Target gene (A) association GO analysis and (B) association KEGG analysis

2.6 双荧光素酶报告基因验证 lncRNA MIAT 和 miR-150-5p 相关关系

与 miR-150-5p-NC 组相比,miR-150-5p-mimics 可显著降低 lncRNA MIAT 野生型 3'UTR 荧光素酶活性($P<0.05$),而对 lncRNA MIAT 突变型 3'UTR 荧光素酶活性无显著影响($P>0.05$),表明 lncRNA

MIAT 与 miR-150-5p 存在靶向调控关系,见图8。

2.7 双荧光素酶报告基因验证 miR-150-5p 和 NEGR1 相关关系

与 miR-150-5p-NC 组相比,miR-150-5p-mimics 可显著降低 NEGR1 野生型 3'UTR 荧光素酶活性($P<0.05$),而对 NEGR1 突变型 3'UTR 荧光素酶活

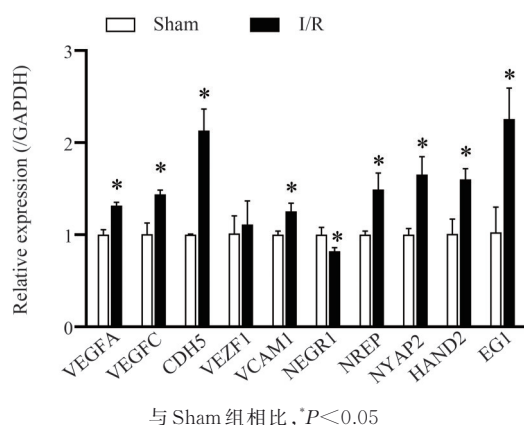


Fig 7 Expression of candidate genes in spinal cord tissue

miRNA	GeneID	GeneName	GeneType	TargetSite	Alignment	Class
hsa-miR-150-5p	ENSG00000252783	MIAT	lincRNA	chr22:27070264-27070285[+]	Target: 5' ugagGGAAcGUCCUUGUGGAa 3' : miRNA : 3' gugaCCAUUGUCCCAACCCUc 5'	7me-m8

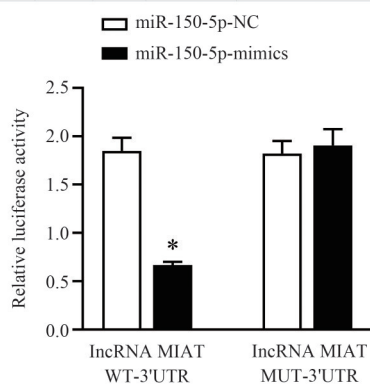


图8 lncRNA MIAT与miR-150-5p靶向调控关系验证
Fig 8 Verification of the targeting regulatory relationship between lncRNA MIAT and miR-150-5p

	Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type
Position 2125-2132 of NEGR1 3' UTR	5' ... CAUCAGUACCAUGUUGGGAGA, ... 3' ... GUGACCAUGUUGCC=AAACCTCTU ...	8mer

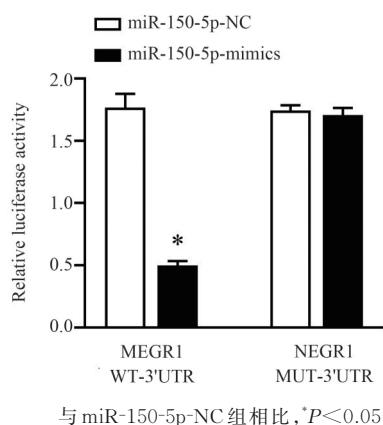


图9 miR-150-5p与NEGR1靶向调控关系验证
Fig 9 Verification of the targeting regulatory relationship
between miR-150-5p and NEGR1

性无显著影响($P>0.05$),表明 miR-150-5p 与 NE-GR1 存在靶向调控关系,见图 9。

3 讨论

SCIRI是指消除引起脊髓缺血的因素后,脊髓的血供恢复,但神经功能并未得到改善,反而因原有的缺血损伤而进一步受损,甚至出现脊髓神经元不可逆的迟发性死亡的现象^[13]。lncRNA是一种长度超过200个核苷酸的非编码RNA,细胞质中的lncRNA主要是通过调控目标mRNA的分解、翻译或与miRNA的竞争性结合来影响转录后的基因表达,进而实现竞争性内源RNA网络ceRNA的功能^[14]。例如,包括转移相关肺腺癌转录物1(MALAT1)在内的lncRNA已被证明在SCIRI中具有关键作用。Jin等^[15]发现抑制大脑中动脉闭塞模型和氧-葡萄糖剥夺/复氧模型中LncRNA MALAT1的表达,可以通过调节水通道蛋白4表达从而减轻I/R。在脑I/R中,lncRNA MIAT可以充当miR-142-3p的ceRNA介导SIRT1表达,抑制氧-葡萄糖剥夺/复氧诱导的细胞坏死和凋亡并促进细胞增殖,改善脑I/R和认知功能障碍^[16]。

lncRNA MIAT 是一种高度保守的哺乳动物 lncRNA, 参与神经元发育、核小体形成、微血管功能障碍、心肌梗死等多种生理病理过程^[17]。MIAT 在中枢神经系统大脑中表达水平最高, 其他的部位表达水平较低或极低^[18], 可以调控多种 miRNA, 如 miR-22-3p^[19]、miR-29a-3p^[20]。此外, MIAT 还能调控在 SCIRI 中表达异常的 miR-181b^[21]、miR-200a^[22]、miR-132^[23]、miR-133^[24]、miR-34a^[25]。

MIAT 在转录和转录后水平上调节基因。在转录水平上, MIAT 通过与核因子相互作用在细胞核中发挥调节作用, 而在转录后水平上, 它通过 ceRNA 在细胞质中发挥调节作用。Zhang 等^[26]证明 MIAT 通过 miR-150 促进非小细胞肺癌的细胞侵袭。此外, MIAT/miR-29a-3p/HDAC4 之间的调节被认为参与细胞生物学行为和胃癌的发展^[27]。然而, MIAT 及其所介导的 ceRNA 网络在 SCIRI 发病机制的相关研究较少。因此, 本研究通过建立 SCIRI 大鼠模型, 发现 lncRNA MIAT 在 SCIRI 大鼠脊髓组织中表达上调, 证实了 SCIRI 会导致 lncRNA MIAT 异常表达。基于此, 本项目将利用生物信息学分析 lncRNA MIAT-miRNA-mRNA 网络, 深入研究其在急性 SCIRI 中的表达规律, 以期揭示其在 SCIRI 发病机制中的具体作用。

本研究发现,lncRNA MIAT与miR-150-5p存在结合位点,miR-150-5p与NEGR1存在结合位点。

且在 SCIRI 大鼠脊髓组织中, miR-150-5p 表达下调, lncRNA MIAT 和 NEGR1 的表达上调, 这证明了 miR-150-5p 在多种器官 I/R 过程中起重要作用。Zhou 等^[28]研究发现, 在单侧肾 I/R 中, 肾小管上皮细胞分泌富含 miR-150-5p 的外泌体, 通过细胞因子信号抑制物 SOCS1 促进成纤维细胞的激活, 加重肾纤维化。Ou 等^[29]研究表明, miR-150-5p 在心肌 I/R 大鼠的心脏组织中低表达, 注射携带 miR-150-5p 的外泌体或过表达 miR-150-5p 的间充质干细胞通过下调硫氧还蛋白互作蛋白 TXNIP 缓解心肌 I/R。NEGR1 是一种膜蛋白, 能编码神经细胞黏附和生长分子, 在神经元发育过程中发挥重要作用^[30]。NEGR1 的表达可能受到 lncRNA 和 microRNA 的严格调控, 从而维持神经元的结构和功能。Yan 等^[31]研究表明, lncRNA SNHG12 通过 miR-181a-5p/NEGR1 轴抑制氧糖剥夺诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡, 提示上调 SNHG12 和 NEGR1 表达, 抑制 miR-181a-5p 表达可能是治疗缺血性脑卒中的潜在方式。本研究中双荧光素酶报告基因检验结果证明, lncRNA MIAT 与 miR-150-5p 存在靶向调控关系, miR-150-5p 与 NEGR1 存在靶向调控关系。因此, 本课题组推测 lncRNA MIAT 参与了 SCIRI 的发生发展, 其机制可能与调控 miR-150-5p/NEGR1 分子轴有关。

综上所述, 本研究发现 lncRNA MIAT 在 SCIRI 模型大鼠中高表达, 其可能通过调控 miR-150-5p/NEGR1 分子轴参与 SCIRI 发生、发展。这为揭示 MIAT 对 SCIRI 及其药物干预的作用及 ceRNA 机制, 临床防治 SCIRI 寻找新型靶点与探索合适的针对失调的非编码 RNA 的天然或合成产物提供了理论基础。

作者贡献度说明:

马梦洁: 实验操作、论文撰写; 王峥: 数据整理、经费支持; 刘建光: 统计学分析、文献查询; 杨秋香: 研究指导、论文修改。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- Jafari A, Khalatbary AR, Taghiloo S, et al. Exosomes derived from human placental mesenchymal stem cells in combination with hyperbaric oxygen synergistically alleviates spinal cord ischemia-reperfusion injury [J]. *Regen Ther*, 2023, 24: 407-416.
- Şengel N, Köksal Z, Dursun AD, et al. Effects of dexmedetomidine administered through different routes on kidney tissue in rats with spinal cord ischaemia-reperfusion injury [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2022, 16: 2229-2239.
- Kumar S, Gonzalez EA, Rameshwar P, et al. Non-coding RNAs as mediators of epigenetic changes in malignancies [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(12): 3657.
- Liu Y, Pan L, Jiang A, et al. Hydrogen sulfide upregulated lncRNA CasC7 to reduce neuronal cell apoptosis in spinal cord ischemia-reperfusion injury rat [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 98: 856-862.
- Jia H, Ma H, Li Z, et al. Downregulation of lncRNA TUG1 inhibited TLR4 signaling pathway-mediated inflammatory damage after spinal cord ischemia reperfusion in rats *via* suppressing TRIL expression [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2019, 78(3): 268-282.
- Ghosh PK, Ghosh A. Dysregulation of noncoding RNA in chordoma; implications in identifying potential targets for novel therapeutic approaches [J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51(1): 125.
- Wen J, Liu J, Wan L, et al. Long noncoding RNA/circular RNA regulates competitive endogenous RNA networks in rheumatoid arthritis: Molecular mechanisms and traditional Chinese medicine therapeutic significances [J]. *Ann Med*, 2023, 55(1): 973-989.
- Long J, Bai Y, Yang X, et al. Construction and comprehensive analysis of a ceRNA network to reveal potential prognostic biomarkers for hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 90.
- Zhou R, Zhang E, Sun Q, et al. Integrated analysis of lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA network in squamous cell carcinoma of tongue [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 779.
- Li E, Zhao P, Jian J, et al. LncRNA MIAT overexpression reduced neuron apoptosis in a neonatal rat model of hypoxic-ischemic injury through miR-211/GDNF [J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(2): 156-166.
- Zhao L, Zhai M, Yang X, et al. Dexmedetomidine attenuates neuronal injury after spinal cord ischaemia-reperfusion injury by targeting the CNPY2-endoplasmic reticulum stress signaling [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(12): 8173-8183.
- Liao Z, Yang X, Wang W, et al. hucMSCs transplantation promotes locomotor function recovery, reduces apoptosis and inhibits demyelination after SCI in rats [J]. *Neuropeptides*, 2021, 86: 102125.
- Yin F, Liu Z, Zhang D, et al. Identification of key genes involved in neural regeneration and the repairing effect of BDNF-overexpressed BMSCs on spinal cord ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Biomed Pharmacother*,

- 2023, 160: 114293.
- 14 Beňačka R, Szabóová D, Guľašová Z, et al. Non-coding RNAs in human cancer and other diseases: Overview of the diagnostic potential[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(22): 16213.
- 15 Jin J, Wang H, Zheng X, et al. Inhibition of LncRNA MALAT1 attenuates cerebral ischemic reperfusion injury *via* regulating AQP4 expression [J]. *Eur Neurol*, 2020, 83(6): 581-590.
- 16 Meng S, Wang B, Li W. LncRNA MALAT1 improves cerebral ischemia-reperfusion injury and cognitive dysfunction by regulating miR-142-3p/SIRT1 axis[J]. *Int J Neurosci*, 2023, 133(7): 740-753.
- 17 Ye Z, Yang S, Xia Y, et al. LncRNA MIAT sponges miR-149-5p to inhibit efferocytosis in advanced atherosclerosis through CD47 upregulation[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(2): 138.
- 18 Fagerberg L, Hallström BM, Oksvold P, et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2014, 13 (2) : 397-406.
- 19 Zhao L, Hu K, Cao J, et al. LncRNA *miat* functions as a ceRNA to upregulate *sirt1* by sponging *miR-22-3p* in HCC cellular senescence [J]. *Aging (Albany NY)* , 2019, 11(17): 7098-7122.
- 20 Bao N, Fang B, Lv H, et al. Upregulation of miR-199a-5p protects spinal cord against ischemia/reperfusion-induced injury *via* downregulation of ECE1 in rat [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(6): 1293-1303.
- 21 Zhong X, Ma X, Zhang L, et al. MIAT promotes proliferation and hinders apoptosis by modulating miR-181b/STAT3 axis in ox-LDL-induced atherosclerosis cell models [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 1078-1085.
- 22 Duan X, Zhang X, Ding N, et al. LncRNA NEAT1 regulates MMP-16 by targeting miR-200a/b to aggravate inflammation in asthma [J]. *Autoimmunity*, 2021, 54 (7): 439-449.
- 23 Li C, Pan S, Song Y, et al. Silence of lncRNA MIAT protects ATDC5 cells against lipopolysaccharides challenge *via* up-regulating miR-132 [J]. *Artif Cells Nano-med Biotechnol*, 2019, 47(1): 2521-2527.
- 24 Li T, Liu J, Fu S. The interaction of long non-coding RNA MIAT and miR-133 play a role in the proliferation and metastasis of pancreatic carcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 145-150.
- 25 Fu Y, Li C, Luo Y, et al. Silencing of long non-coding RNA MIAT sensitizes lung cancer cells to gefitinib by epigenetically regulating miR-34a [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 82.
- 26 Zhang H, Zheng F, Yang W, et al. The long non-coding RNA MIAT regulates zinc finger E-box binding homeobox 1 expression by sponging miR-150 and promoting cell invasion in non-small-cell lung cancer[J]. *Gene*, 2017, 633: 61-65.
- 27 Li Y, Wang K, Wei Y, et al. lncRNA-MIAT regulates cell biological behaviors in gastric cancer through a mechanism involving the miR-29a-3p/HDAC4 axis[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(6): 3465-3472.
- 28 Zhou X, Zhao S, Li W, et al. Tubular cell-derived exosomal miR-150-5p contributes to renal fibrosis following unilateral ischemia-reperfusion injury by activating fibroblast *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17 (14): 4021-4033.
- 29 Ou H, Teng H, Qin Y, et al. Extracellular vesicles derived from microRNA-150-5p-overexpressing mesenchymal stem cells protect rat hearts against ischemia/reperfusion [J]. *Aging (Albany NY)* , 2020, 12(13) : 12669-12683.
- 30 Noh K, Lee H, Choi TY, et al. Negr1 controls adult hippocampal neurogenesis and affective behaviors [J]. *Mol Psychiatry*, 2019, 24(8): 1189-1205.
- 31 Yan Y, Chen L, Zhou J, et al. SNHG12 inhibits oxygen-glucose deprivation-induced neuronal apoptosis *via* the miR-181a-5p/NEGR1 axis [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(5): 3886-3894.

[本文编辑] 邹 洲 宋睿璞 陈思润