

## 论著·基础研究

## 溃疡性结肠炎小鼠血清 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 的表达水平及其作用的研究

陈巍, 韩峥, 邹艳丽, 黄莎莎, 田霞

武汉大学附属同仁医院 (武汉市第三医院) 消化内科, 武汉 430060

**[摘要]** **目的**·探究 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 在溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 小鼠血清中的表达及其可能的作用机制。**方法**·将 20 只雄性 C57BL/6 小鼠随机分为对照组和模型组, 每组 10 只。模型组小鼠采用含有 5% 硫酸葡聚糖钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 的饮用水诱导 7 d, 诱导期间观察小鼠一般情况、粪便形态以及隐血状况; 7 d 后, 采集小鼠全血和结肠组织, 测量结肠长度并称取湿重。qRT-PCR 检测血清中 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 的表达, Western blotting 检测过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  辅助激活因子 1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , coactivator 1 $\alpha$ , PPARGC1A)、PH 域富含亮氨酸重复蛋白磷酸酶 2 (PH domain leucine-rich repeat protein phosphatase, PHLPP2)、B 淋巴细胞瘤 2 蛋白 (B-cell lymphoma-2, BCL-2)、BCL-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, BAX)、细胞色素 C (cytochrome c, CYT-C) 和胱天蛋白酶 3 剪切体 (cleaved cysteine-containing aspartate-specific proteases, cleaved-caspase-3) 蛋白表达。**结果**·DSS 诱导后, 模型组小鼠出现精神萎靡、体重减轻、腹泻、肉眼血便等症状, 结肠长度缩短、湿重减轻 (均  $P<0.05$ ), 小鼠 UC 模型构建成功。与对照组比较, 模型组小鼠血清中 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 表达明显下调 (均  $P<0.05$ ), 结肠组织中 PPARGC1A、PHLPP2、BAX、CYT-C 和 cleaved-caspase-3 蛋白表达显著升高 (均  $P<0.05$ ), 而 BCL-2 表达显著降低 ( $P<0.05$ )。**结论**·miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 在 UC 小鼠血清中呈低表达水平, 可能通过介导结肠组织中 PPARGC1A 和 PHLPP2 表达上调, 触发线粒体途径诱导细胞凋亡, 从而参与了 UC 的发生/发展。

**[关键词]** 溃疡性结肠炎; 疾病活动指数; 微小 RNA; 过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  辅助激活因子-1 $\alpha$ ; PH 域富含亮氨酸重复蛋白磷酸酶 2; 线粒体途径; 细胞凋亡

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2020.08.011 **[中图分类号]** R574.62 **[文献标志码]** A

## Expressions and effects of serum miR-23a-3p and miR-27a-3p in mice with ulcerative colitis

CHEN Wei, HAN Zheng, ZOU Yan-li, HUANG Sha-sha, TIAN Xia

Department of Gastroenterology, Tongren Hospital of Wuhan University (Wuhan Third Hospital), Wuhan 430060, China

**[Abstract]** **Objective**·To explore the expression levels of miR-23a-3p and miR-27a-3p in the sera of mice with ulcerative colitis (UC) and their potential action mechanisms. **Methods**·Twenty C57BL/6 mice were randomly divided into the control group and the model group with 10 mice in each group. The model group mice were induced orally by water with 5% dextran sulfate sodium (DSS) for 7 d. During the induction period, the general condition, fecal morphology and occult blood status of the mice were observed. After 7 d, the whole blood and colon tissues of mice were collected, and the colon lengths and wet weights were measured. The expressions of miR-23a-3p and miR-27a-3p in the sera were detected by qRT-PCR. The expressions of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , coactivator-1 $\alpha$  (PPARGC1A), PH domain leucine-rich repeat protein phosphatase 2 (PHLPP2), B-cell lymphoma-2 (BCL-2), BCL-2 associated X protein (BAX), cytochrome c (CYT-C) and cleaved cysteine-containing aspartate-specific protease (cleaved-caspase-3) were detected by Western blotting. **Results**·After DSS induction, the model group mice showed mental depression, weight loss, diarrhea, and bloody stool, whose colon lengths were shortened and colon wet weights decreased. The UC model was constructed successfully. In the model group, the expressions of miR-23a-3p and miR-27a-3p in the sera decreased significantly ( $P<0.05$ ), and the expressions of PPARGC1A, PHLPP2, BAX, CYT-C and cleaved-caspase-3 in the colon tissues increased significantly ( $P<0.05$ ), but BCL-2 decreased ( $P<0.05$ ). **Conclusion**·The expressions of miR-23a-3p and miR-27a-3p are low in the sera of UC mice, which may be involved in the occurrence and development of UC by up regulating the expressions of PPARGC1A and PHLPP2 in the colons and triggering mitochondrial pathway to induce apoptosis.

**[Key words]** ulcerative colitis (UC); disease activity index (DAI); miRNA; peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , coactivator-1 $\alpha$  (PPARGC1A); PH domain leucine-rich repeat protein phosphatase 2 (PHLPP2); mitochondrial pathway; cell apoptosis

[基金项目] 湖北省中央引导地方科技发展专项 (2019ZYD067)。

[作者简介] 陈巍 (1981—), 男, 主治医师, 硕士; 电子信箱: cw39773049@163.com。

[通信作者] 田霞, 电子信箱: hcwy100@163.com。

[Funding Information] Special Project of Central Government Guiding Local Science and Technology Development in Hubei Province (2019ZYD067)。

[Corresponding Author] TIAN Xia, E-mail: hcwy100@163.com。

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种炎症性疾病, 主要表现为结肠和直肠弥漫性、连续性浅表炎症, 并伴随着相应的组织学变化<sup>[1]</sup>。临床上常表现为血性腹泻、肠运动时腹部痉挛等, 严重影响患者的生活质量, 给患者及社会带来沉重的经济负担<sup>[2-3]</sup>。UC 发病原因及机制并不十分明确, 其治疗方法也较为局限<sup>[4]</sup>。肠上皮细胞作为肠黏膜屏障中的主要组成部分, 其凋亡水平影响肠黏膜屏障功能的维持。UC 严重的炎症反应可使肠道屏障通透性增加, 肠上皮细胞凋亡加剧, 肠道稳态被破坏, 甚至促发癌变<sup>[5]</sup>。因此, 了解 UC 中肠上皮细胞凋亡机制, 对于维持肠道稳态具有一定的意义, 也可为缓解 UC 症状提供新的治疗方向。

通过生物信息学方法, 筛选出 UC 致病相关基因, 并进行全面分析, 找出与疾病相关的核心基因, 有利于为 UC 的研究提供新的思路<sup>[6]</sup>。研究<sup>[7]</sup>表明, miRNA 在肠道黏膜中的差异表达对炎症性肠病的肠道屏障功能具有重要的调控作用。在前期研究中, 对比分析 UC 肠黏膜和正常肠黏膜 GEO (gene expression omnibus) 芯片数据, 筛选出了 35 个差异 miRNA 及其对应的靶基因, 其中 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 可能分别对过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  辅助激活因子 1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$ , PPARGC1A) 和 PH 域富含亮氨酸重复蛋白磷酸酶 2 (PH domain leucine-rich repeat protein phosphatase 2, PHLPP2) 基因具有调控作用 (尚未发表)。而 PPARGC1A 和 PHLPP2 皆与线粒体途径介导的细胞凋亡相关<sup>[8-9]</sup>。因此, 本研究拟通过小鼠 UC 模型探究 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 在 UC 小鼠血清中的表达水平及在 UC 中可能的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

20 只雄性 SPF 级 C57BL/6 小鼠购自三峡大学实验动物中心, 实验动物生产许可证号为 SCXK (鄂) 2017-0012, 6 ~ 7 周龄, 饲养于武汉华联科生物技术有限公司模型动物研究院 SPF 级动物房, 实验动物使用许可证号为 SYXK (鄂) 2018-0104, 适应性饲养 1 周。饲养条件: 温度 22 ~ 26  $^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度 50% ~ 60%, 人工光照每日明暗各 12 h。本动物实验操作符合《实验动物管理条例》的相关规定。

### 1.2 主要试剂

硫酸葡聚糖钠 (dextran sulfate sodium, DSS)、十二烷

基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS)、四甲基乙二胺 (tetramethylethylenediamine, TEMED)、过硫酸铵购自美国 Sigma 公司; 粪便隐血检测试剂盒购自安徽深蓝医疗科技股份有限公司; 反转录试剂盒购自日本 TaKaRa 公司; SYBR Green PCR 试剂盒购自美国 KAPA Biosystems 公司; 聚偏氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 转移膜、化学发光试剂购自美国 Millipore 公司; 蛋白质标志物购自美国 Thermo 公司; 白细胞介素 1 $\beta$  (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-6 及肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒, 兔抗鼠 PPARGC1A、PHLPP2、B 淋巴细胞瘤 2 蛋白 (B-cell lymphoma-2, BCL-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, BAX)、细胞色素 C (cytochrome c, CYT-C)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体、辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的山羊抗兔 IgG 均购自武汉贝茵莱生物科技有限公司; 兔抗鼠胱天蛋白酶 3 剪切体 (cleaved cysteine-containing aspartate-specific proteases, cleaved-caspase-3) 抗体购自英国 Abcam 公司。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 实验分组及模型构建** 将 20 只 C57BL/6 小鼠随机分为对照组和模型组, 每组 10 只。模型组小鼠自由饮用每日新鲜配制的 5% DSS 溶液<sup>[10]</sup>, 对照组正常饮水。每日记录小鼠体质量、进食情况、精神状态等一般情况, 观察小鼠粪便形态并采用粪便隐血检测试剂盒检测粪便隐血情况。DSS 诱导 7 d 后, 收集小鼠全血, 分离血清, 然后将小鼠颈椎脱臼处死, 剖腹取出小鼠结肠, 观察结肠病理变化, 并测量其长度, 称取质量 (湿重), 取远端结肠于 4% 中性甲醛中固定, 剩余结肠组织于 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存。

**1.3.2 小鼠疾病活动指数评分** 根据小鼠粪便性状、隐血情况以及体质量下降百分比计算小鼠疾病活动指数 (disease activity index, DAI)<sup>[11]</sup>, 评分等级: ① 粪便性状正常为 0 分, 软便 (不黏附于肛门的半成形粪便) 为 1 ~ 2 分, 腹泻 (可黏附于肛门的不成形粪便) 为 3 ~ 4 分。② 粪便隐血阴性为 0 ~ 1 分 (阴性为 0 分, 当同时出现软便或体质量下降 1% ~ 5% 为 1 分), 隐血阳性为 2 ~ 3 分, 肉眼血便为 4 分。③ 体质量无下降为 0 分, 体质量下降  $\leq 5\%$  为 1 分, 下降  $>5\%$  且  $\leq 10\%$  为 2 分, 下降  $>10\%$  且  $\leq 15\%$  为 3 分, 下降  $>15\%$  为 4 分。DAI = (粪便性状计分 + 粪便隐血计分 + 体质量下降计分) / 3, 通过 DAI 评估造模后小鼠结肠炎严重程度。

**1.3.3 苏木精-伊红染色观察结肠组织病理形态** 取出固定的结肠组织, 进行脱水、浸蜡包埋后, 切成厚度为

4 μm 的组织切片。水浴中展片, 将切片贴附于载玻片上, 然后烤片。将组织切片脱蜡至水, 经过苏木精染液染色 5 min, 伊红染液染色 3 min, 水洗后梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封片, 于显微镜下观察拍照。采用 Geboes 分级指数<sup>[11]</sup> 评估结肠组织病理学变化。

**1.3.4 ELISA 检测血清中 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 水平** 采用 ELISA 试剂盒检测小鼠血清中 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 浓度, 实验操作按照试剂盒说明书进行。

**1.3.5 qRT-PCR 检测血清中 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 表达** 提取小鼠血清总 RNA, 反转录合成 cDNA, 再以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 以 U6 为内参基因, 采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算 miR-23a-3p、miR-27a-3p 相对表达量 (表 1)。

表 1 qRT-PCR 引物序列  
Tab 1 Primer sequences for qRT-PCR

Primer	Sequence (5' → 3')
miR-23a-3p	Forward: GGGATCACATTGCCAG
	Reverse: AACTGGTGTCTGGAGTCGGC
miR-27a-3p	Forward: GGGTTCACAGTGGCTA
	Reverse: AACTGGTGTCTGGAGTCGGC
U6	Forward: CTCGCTTCGGCAGCACATATACT
	Reverse: ACGCTTCACGAATTTGCGTGTC

**1.3.6 Western blotting 检测 PPARGC1A、PHLPP2、BAX、BCL-2、CYT-C 和 cleaved-caspase-3 蛋白表达** RIPA 裂解液裂解小鼠结肠组织, 提取总蛋白。蛋白质定量后, 以 20 μg 蛋白上样量进行十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecylsulphate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 分离, 将蛋白转移至 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h 后, 加入一抗稀释液 (抗 PPARGC1A、PHLPP2、BAX、BCL-2、CYT-C、GAPDH 抗体稀释比 1:1 000, 抗 cleaved-caspase-3 抗体稀释比 1:5 000), 湿盒中室温孵育 1 h。洗膜后, 加入经 HRP 标记的二抗 (稀释比 1:20 000), 湿盒中室温孵育 1 h。洗膜, 滴加化学发光试剂于暗室中显影, 置于全自动化学发光分析仪中检测, 读取条带灰度值。

## 1.4 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 定量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 2 组间比较采用独立样本  $t$  检验,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 小鼠 DAI 评估分析

在 DSS 诱导期间, 对照组小鼠的采食、毛发以及日

常活动情况均正常, 而模型组小鼠逐渐出现精神萎靡、采食减少、体质量减轻、腹泻、肛周毛发被污染, 肉眼血便等现象。对 2 组小鼠的体质量下降比例、粪便性状及隐血情况进行评分, 结果显示, 与对照组 (DAI=0) 比较, 模型组 DAI 评分 ( $3.84 \pm 0.21$ ) 显著升高 ( $P=0.000$ )。

### 2.2 小鼠结肠湿重及长度比较

DSS 诱导后, 小鼠结肠长度缩短、湿重减轻, 与对照组相比, 差异具有统计学意义 (均  $P=0.000$ , 见图 1、表 2)。

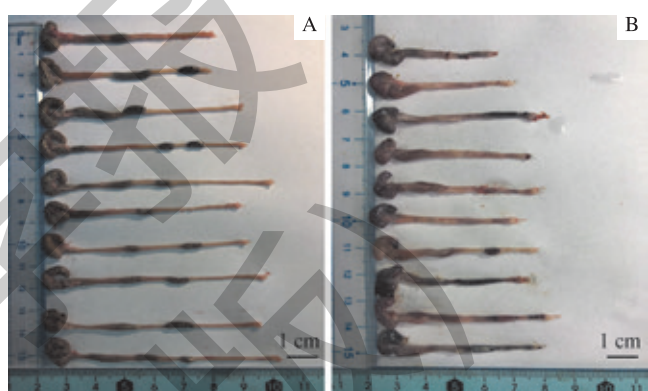


图 1 对照组 (A) 和模型组 (B) 小鼠的结肠组织长度  
Fig 1 Lengths of colon tissues in control group (A) and model group (B)

表 2 对照组和模型组结肠组小鼠组织湿重及长度比较  
Tab 2 Comparison of wet weights and lengths of colon tissues between control group and model group

Index	Control group (n=10)	Model group (n=10)	$t$	$P$
Wet weight/g	$0.65 \pm 0.08$	$0.40 \pm 0.05$	8.251	0.000
Length/mm	$73.05 \pm 7.34$	$43.71 \pm 6.29$	9.953	0.000

### 2.3 小鼠结肠组织病理观察

通过苏木精 - 伊红 (H-E) 染色观察发现, 模型组小鼠结肠组织中出现炎症细胞严重浸润的现象, 组织结构被破坏, 局部出现糜烂和溃疡 (图 2)。统计 2 组结肠组织的 Geboes 分级指数, 对照组为  $0.83 \pm 0.31$ , 模型组为  $10.53 \pm 2.80$ , 差异具有统计学意义 ( $P=0.004$ )。

### 2.4 小鼠血清中 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 水平比较

与对照组比较结果见表 3, 模型组小鼠血清中 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 浓度均显著升高, 差异具有统计学意义 (均  $P=0.000$ )。



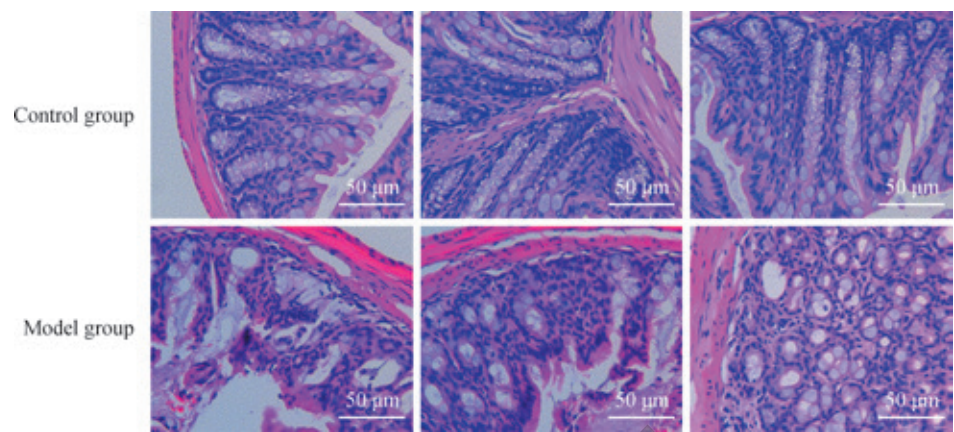


图2 小鼠结肠组织病理学变化 (H-E 染色, ×400)  
Fig 2 Histopathological changes of the colons in mice observed (H-E staining, ×400)

表3 对照组和模型组小鼠血清中 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 水平比较  
Tab 3 Comparison of levels of IL-1β, IL-6 and TNF-α in mice sera between control group and model group

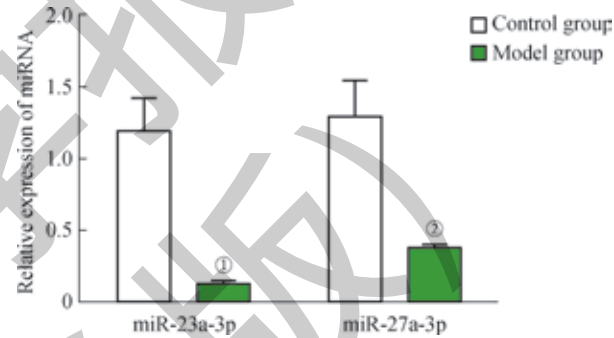
Index	Control group	Model group	<i>t</i>	<i>P</i>
IL-1β/ (pg · mL <sup>-1</sup> )	48.84 ± 10.11	185.89 ± 16.96	20.772	0.000
IL-6/ (pg · mL <sup>-1</sup> )	39.12 ± 7.52	184.19 ± 27.62	15.204	0.000
TNF-α/ (pg · mL <sup>-1</sup> )	56.77 ± 12.87	273.38 ± 45.51	13.740	0.000

2.5 小鼠血清中 miR-23a-3p、miR-27a-3p 表达的变化

与对照组比较结果见图3, 模型组小鼠血清中 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 表达水平均显著降低 ( $P=0.001$ ,  $P=0.007$ )。

2.6 小鼠结肠组织中 PPARGC1A、PHLPP2 蛋白表达变化

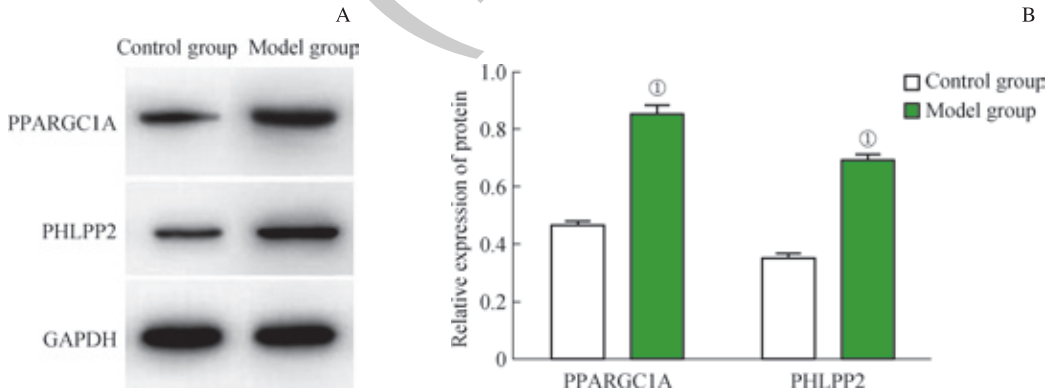
与对照组比较, 模型组 PPARGC1A 和 PHLPP2 的蛋白表达水平均显著升高, 差异具有统计学意义 (均  $P=0.000$ , 图4)。



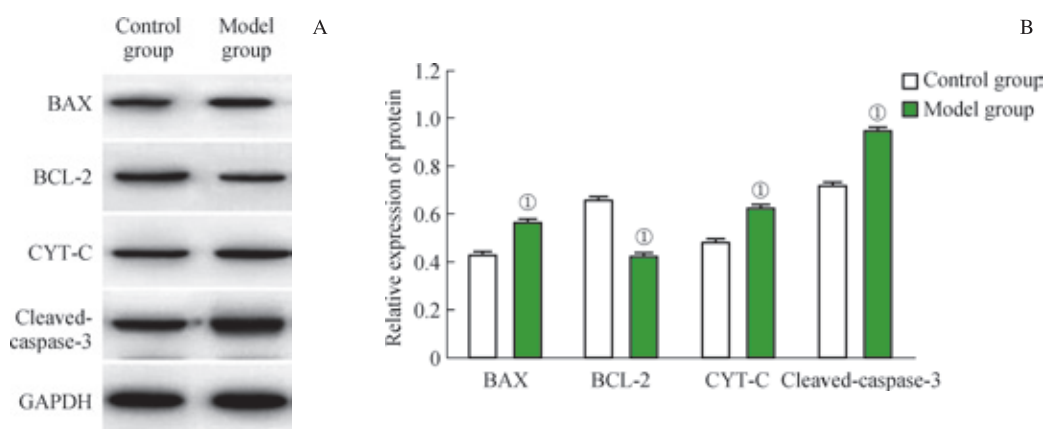
Note: ①  $P=0.001$ , ②  $P=0.007$ , compared with the control group.  
图3 对照组和模型组小鼠血清中 miR-23a-3p、miR-27a-3p 表达水平的比较  
Fig 3 Comparison of the expression levels of miRNA-23a-3p and miRNA-27a-3p in mice sera between control group and model group

2.7 小鼠结肠组织中线粒体凋亡相关蛋白表达变化

检测小鼠结肠组织中线粒体凋亡相关蛋白表达水平, 结果显示: 与对照组比较, 模型组 BAX、CYT-C 和 cleaved-caspase-3 表达水平显著升高, 而 BCL-2 表达显著降低, 差异均具有统计学意义 (均  $P=0.000$ , 图5)。



Note: ①  $P=0.000$ , compared with the control group.  
图4 Western blotting 检测小鼠结肠组织中 PPARGC1A 和 PHLPP2 蛋白的表达  
Fig 4 Expressions of PPARGC1A and PHLPP2 in mice colons detected by Western blotting



Note: \* $P=0.000$ , compared with the control group.

图5 Western blotting 检测小鼠结肠组织中 BAX、BCL-2、CYT-C 和 cleaved-caspase-3 蛋白的表达

Fig 5 Expressions of BAX, BCL-2, CYT-C and cleaved-caspase-3 in mice colons detected by Western blotting

### 3 讨论

DSS 诱导 UC 小鼠模型, 简单易操作, 被广泛应用于实验研究中<sup>[11]</sup>。本研究采用 5% DSS 连续自由饮用 7 d 构建 UC 模型, 小鼠出现体质量减轻、腹泻、便血等症状, DAI 评分显著升高, 结肠长度缩短, 湿重减轻, 提示模型构建成功。肠黏膜屏障主要由黏膜基底膜、上皮细胞层及细胞分泌的黏液层构成, 是肠道发挥正常功能, 抵御外来抗原入侵的重要防线<sup>[13]</sup>。肠黏膜屏障完整性受损是 UC 等炎症性肠病的主要特征之一, 本研究结果显示模型组小鼠结肠中出现炎症细胞浸润, 黏膜出现溃疡、糜烂等现象, 符合 UC 病理特征。炎症细胞因子作为炎症介质在 UC 肠黏膜病理性损伤中发挥重要的介导作用, IL-1 $\beta$ <sup>[14]</sup>、IL-6<sup>[15]</sup>、TNF- $\alpha$ <sup>[16]</sup> 等促炎因子引起肠道炎症反应, 诱发或加重 UC<sup>[17]</sup>。检测 UC 小鼠血清中细胞因子水平, IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平均显著高于对照组正常小鼠, 说明 UC 小鼠体内炎症反应严重, 与病理观察结果一致。

miRNA 是一种内源性非编码 RNA, 在机体正常生理以及疾病发生、发展等方面均具有重要的调控作用, 是基因调控网络的重要组成部分<sup>[18]</sup>。miRNA 通过与目标 mRNA 的 3' 非翻译区 (untranslated region, UTR) 区域结合后将其降解, 抑制 mRNA 翻译, 从而发挥对靶基因特异性调控的功能<sup>[19]</sup>。大量研究<sup>[20-21]</sup>发现, miRNA 可通过调控肠上皮细胞功能, 影响肠黏膜屏障, 因此研究 UC 差异表达的 miRNA 可能为 UC 的治疗提供更多的可能。miR-23a 在 UC 中的调控作用已有相关文献报道<sup>[22]</sup>, 且 miR-23a-3p 在 UC 临床诊断中具有重要意义, 是一种潜在的诊断和预后指标<sup>[23]</sup>, 但 miR-23a-3p 在 UC 中具体作用并不明确。在本研究中, 我们探究了通过生物信息

技术筛选出与 UC 相关的 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 在正常小鼠和 UC 小鼠血清中的表达水平, 及其可能调控基因 *PPARGC1A*、*PHLPP2* 在结肠组织中的表达水平, 结果显示 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 在模型组小鼠血清中的表达均明显低于正常小鼠, 而 *PPARGC1A* 和 *PHLPP2* 在结肠组织中的表达显著升高。根据已有文献<sup>[24]</sup>报道, miR-23a 和 miR-27a 可通过 caspase 依赖或 caspase 非依赖途径诱导细胞凋亡, 且 *PPARGC1A* 和 *PHLPP2* 均与细胞线粒体凋亡途径相关<sup>[8-9]</sup>, 因此我们推测 miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 可能是 UC 潜在的标志物, 其在血清中表达下调, 调控的靶基因 *PPARGC1A* 和 *PHLPP2* 在结肠组织中的表达升高, 诱导线粒体凋亡途径, 介导结肠上皮细胞凋亡, 破坏肠黏膜屏障完整性, 从而参与 UC 的病程进展。

BCL-2/BAX 在线粒体途径介导的 caspase 依赖性凋亡中发挥重要的作用, BCL-2 为抑凋亡蛋白, BAX 为促凋亡蛋白, BAX 转移至线粒体膜, 可降低线粒体膜电位, 改变膜通透性, 导致 CYT-C 从线粒体中释放, 触发 caspase-3 凋亡级联反应<sup>[25]</sup>。本研究结果显示, 模型组小鼠结肠组织中 BAX、CYT-C 及 cleaved-caspase-3 表达上调, 而 BCL-2 表达下调, 提示 UC 小鼠结肠组织中线粒体凋亡途径被激活, 验证了上述 *PPARGC1A* 和 *PHLPP2* 表达上调引发线粒体凋亡途径的推论。

综上所述, miR-23a-3p 和 miR-27a-3p 在 UC 小鼠血清中表达下调, 可能降低了对 *PPARGC1A* 和 *PHLPP2* 的抑制调控, 触发结肠组织中线粒体途径诱导细胞凋亡, 破坏肠黏膜屏障, 从而参与了 UC 的发生和发展。但本研究未对几个分子之间的相互关系进行验证, 因此有待进一步的实验加以证实。此外, 本研究的 UC 模型小鼠血清中 miR-23a-3p 呈低表达, 与 Wu 等<sup>[26]</sup>研究发现的 miR-23a

在 UC 患者组织中表达增加的结果存在差异,可能是由于所检测的 miRNA 亚型不同所导致。由于 miR-23a-3p 在

UC 中的具体作用机制尚不明确,后期我们将从临床研究出发进行验证与深入探讨。

### 参·考·文·献

- [1] Ford AC, Paul M, Hanauer SB. 谭蓓,译. 溃疡性结肠炎[J]. 英国医学杂志中文版, 2017, 20(7): 387-392.
- [2] Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies[J]. Lancet, 2007, 369(9573): 1641-1657.
- [3] Stawowczyk E, Kawalec P. A systematic review of the cost-effectiveness of biologics for ulcerative colitis[J]. Pharmacoeconomics, 2018, 36(4): 419-434.
- [4] 孙健, 高文艳, 林一帆. 溃疡性结肠炎病因和发病机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(4): 94-97.
- [5] 周海新, 方健松, 张涛, 等. miR-21 介导肠上皮细胞凋亡维持肠道稳态参与溃疡性结肠炎相关癌变研究[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(4): 523-527.
- [6] 夏守兵, 许春杰, 蒋春晖, 等. 溃疡性结肠炎及其恶性并发症的生物信息学分析和潜在治疗药物筛选[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2020, 40(3): 317-325.
- [7] Chen WX, Ren LH, Shi RH. Implication of miRNAs for inflammatory bowel disease treatment: systematic review[J]. World J Gastrointest Pathophysiol, 2014, 5(2): 63-70.
- [8] Zhang G, Wan Y, Zhang Y, et al. Expression of mitochondria-associated genes (*PPARGC1A*, *NRF-1*, *BCL-2* and *BAX*) in follicular development and atresia of goat ovaries[J]. Reprod Domest Anim, 2015, 50(3): 465-473.
- [9] Saxena S, Shukla S, Kakkar P. Berberine induced modulation of PHLPP2-Akt-MST1 kinase signaling is coupled with mitochondrial impairment and hepatoma cell death[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2018, 347: 92-103.
- [10] 郝微微, 温红珠, 马贵同, 等. 人参皂苷 Rg1 对 DSS 诱导溃疡性结肠炎小鼠凝血功能的调节作用[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2013, 21(5): 238-242.
- [11] 丁洋, 丁康, 谭妍妍, 等. 溃结改良方改善 DSS 诱导的 UC 小鼠肠道炎症反应的机制研究[J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(3): 297-302.
- [12] Geboes K, Riddell R, Ost A, et al. A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis[J]. Gut, 2000, 47(3): 404-409.
- [13] 倪杰明. 肠黏膜屏障损伤在溃疡性结肠炎的作用研究进展[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(5): 815-818.
- [14] Sugawara R, Lee EJ, Jang MS, et al. Small intestinal eosinophils regulate Th17 cells by producing IL-1 receptor antagonist[J]. J Exp Med, 2016, 213(4): 555-567.
- [15] Nigar S, Yamamoto Y, Okajima T, et al. Synergistic oligodeoxynucleotide strongly promotes CpG-induced interleukin-6 production[J]. BMC Immunol, 2017, 18(1): 44.
- [16] Fischer S, Rath T, Geppert CI, et al. Long-term combination therapy with anti-TNF plus vedolizumab induces and maintains remission in therapy-refractory ulcerative colitis[J]. Am J Gastroenterol, 2017, 112(10): 1621-1623.
- [17] 崔婉婉, 孙峰嵘. 溃疡性结肠炎发病机制研究进展[J]. 现代免疫学, 2019, 39(1): 77-81.
- [18] Paul P, Chakraborty A, Sarkar D, et al. Interplay between miRNAs and human diseases: a review[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(3): 2007-2018.
- [19] Jonas S, Izaurralde E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing[J]. Nat Rev Genet, 2015, 16(7): 421-433.
- [20] Wang H, Chao K, Ng SC, et al. Pro-inflammatory miR-223 mediates the cross-talk between the IL23 pathway and the intestinal barrier in inflammatory bowel disease[J]. Genome Biol, 2016, 17: 58.
- [21] He C, Yu T, Shi Y, et al. MicroRNA 301A promotes intestinal inflammation and colitis-associated cancer development by inhibiting BTG1[J]. Gastroenterology, 2017, 152(6): 1434-1448.e15.
- [22] Feng J, Gao Q, Liu Q, et al. Integrated strategy of differentially expressed genes associated with ulcerative colitis[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(5): 7479-7489.
- [23] Polytarchou C, Oikonomopoulos A, Mahurkar S, et al. Assessment of circulating microRNAs for the diagnosis and disease activity evaluation in patients with ulcerative colitis by using the nanostring technology[J]. Inflamm Bowel Dis, 2015, 21(11): 2533-2539.
- [24] 聂明月, 杨晓葵. miR-23a 和 miR-27a 在卵巢中的生理和病理作用[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2014, 33(5): 367-369.
- [25] Wang QQ, Zhang LL, Yuan XD, et al. The relationship between the Bcl-2/Bax proteins and the mitochondria-mediated apoptosis pathway in the differentiation of adipose-derived stromal cells into neurons[J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0163327.
- [26] Wu F, Zikusoka M, Trindade A, et al. MicroRNAs are differentially expressed in ulcerative colitis and alter expression of macrophage inflammatory peptide-2α[J]. Gastroenterology, 2008, 135(5): 1624-1635.e24.

[收稿日期] 2019-09-29

[本文编辑] 瞿麟平