

长链非编码RNA B3GALT5-AS1靶向miR-361-3p调节大鼠胰腺腺泡细胞增殖及凋亡的分子机制

孙磊¹ 万莎莎² 王超君^{2*} 陈珊珊¹(¹解放军第901医院急诊科, 合肥 230032; ²空军杭州特勤疗养中心疗养一区, 杭州 310007)

摘要 探讨长链非编码RNA(lncRNA) 1,3-半乳糖基转移酶-多肽5反义RNA(B3GALT5-AS1)对雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞AR42J增殖、凋亡的调控机制。用雨蛙素诱导AR42J细胞构建急性胰腺炎细胞损伤模型; 用脂质体将pcDNA-B3GALT5-AS1组(转染pcDNA-B3GALT5-AS1)、si-B3GALT5-AS1组(转染si-B3GALT5-AS1)、miR-361-3p组(转染miR-361-3p mimics)、anti-miR-361-3p组(转染anti-miR-361-3p)、pcDNA-B3GALT5-AS1+miR-361-3p组(共转染pcDNA-B3GALT5-AS1和miR-361-3p mimics)、si-B3GALT5-AS1+anti-miR-361-3p组(共转染si-B3GALT5-AS1和anti-miR-361-3p)转染至AR42J细胞, 再用雨蛙素诱导细胞损伤。细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)、流式细胞术、酶联免疫吸附实验(ELISA)分别检测细胞增殖率, 细胞凋亡率和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)含量; 免疫印迹(Western blot)、实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)分别检测细胞中细胞周期蛋白D1(cyclin D1)、存活蛋白(survivin)、前体半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(procaspase-3)、前体半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9(procaspase-9)蛋白水平及B3GALT5-AS1、miR-361-3p的表达; 双荧光素酶报告实验检测B3GALT5-AS1与miR-361-3p的结合力。与对照组相比, 雨蛙素诱导的AR42J细胞的增殖率显著降低, 凋亡率明显升高, TNF- α 、IL-6的含量显著升高($P < 0.05$)。模型细胞中B3GALT5-AS1表达异常降低, miR-361-3p表达异常升高, 且过表达B3GALT5-AS1和抑制miR-361-3p可促进受损细胞的增殖, 抑制凋亡, 上调cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9蛋白表达水平; 并且抑制B3GALT5-AS1和过表达miR-361-3p可以抑制受损细胞增殖, 促进细胞凋亡, 下调cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9蛋白表达水平。B3GALT5-AS1能够结合miR-361-3p。miR-361-3p可恢复B3GALT5-AS1对受损细胞增殖、凋亡的调节作用。lncRNA B3GALT5-AS1可促进雨蛙素诱导的AR42J细胞增殖, 抑制凋亡, 其机制与靶向miR-361-3p有关。

关键词 lncRNA B3GALT5-AS1; miR-361-3p; 急性胰腺炎; 增殖; 凋亡

Molecular Mechanism of Long Noncoding RNA B3GALT5-AS1 Targets miR-361-3p in Regulating Proliferation and Apoptosis of Rat Pancreatic Scinar Cells

SUN Lei¹, WAN Shasha², WANG Chaojun^{2*}, CHEN Shanshan¹¹Emergency Department of 901 Hospital of the People's Liberation Army, Hefei 230032, China;²Hangzhou Aeronautical Sanatorium for Special Service of Chinese Air Force, Hangzhou 310007, China)

Abstract This study was aimed to investigate the regulation mechanism of lncRNA (long noncoding

收稿日期: 2020-04-13 接受日期: 2020-09-04

*通讯作者。Tel: 13735510636, E-mail: 172131601@qq.com

Received: April 13, 2020 Accepted: September 4, 2020

*Corresponding author. Tel: +86-13735510636, E-mail: 172131601@qq.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5380>

RNA) B3GALT5-AS1 (1,3-galactosyltransferase-polypeptide 5 antisense RNA) on the proliferation and apoptosis of rat pancreatic acinar cells induced by caerulein. AR42J cells were induced by caerulein to construct a model of acute pancreatitis cell injury; AR42J cells were transfected pcDNA-B3GALT5-AS1 group (transfected pcDNA-B3GALT5-AS1), si-B3GALT5-AS1 group (transfected si-B3GALT5-AS1), miR-361-3p group (transfected miR-361-3p mimics), anti-miR-361-3p group (transfected anti-miR-361-3p), pcDNA-B3GALT5-AS1+miR-361-3p group (co-transfected pcDNA-B3GALT5-AS1 and miR-361-3p mimics), si-B3GALT5-AS1+anti-miR-361-3p group (co-transfected si-B3GALT5-AS1 and anti-miR-361-3p) with liposome, and then induced by cellulin. CCK-8 (cell counting kit-8), flow cytometry, ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) separately were used to detect cell proliferation rate, apoptosis rate, TNF- α (tumor necrosis factor- α) and IL-6 (interleukin-6) contents; Western blot and qRT-PCR (real-time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction) were used to detect cyclin D1, survivin, procaspase-3 (precursor cysteine expression of acid aspartic protease-3), procaspase-9 (precursor cysteine aspartic protease-9) protein levels and B3GALT5-AS1, miR-361-3p expression; dual luciferase reporting experiment was used to detect the binding ability of B3GALT5-AS1 to miR-361-3p. Compared with the control group, the proliferation rate was significantly decreased; the apoptosis rate was significantly increased; the levels of TNF- α and IL-6 were significantly increased in AR42J cells induced by caerulein ($P < 0.05$). B3GALT5-AS1 expression was abnormally reduced and miR-361-3p expression was abnormally increased in model cells. B3GALT5-AS1 overexpression or miR-361-3p inhibition could promote the proliferation; inhibit apoptosis, and up-regulate cyclin D1 and survivin. Procaspase-3, procaspase-9, inhibition of B3GALT5-AS1 and overexpression of miR-361-3p could inhibit the proliferation of damaged cells; promote cell apoptosis, and down-regulate the protein expression levels of cyclin D1, survivin, procaspase-3, and procaspase-9. B3GALT5-AS1 was capable of binding miR-361-3p. miR-361-3p could reverse the regulation of B3GALT5-AS1 on the proliferation and apoptosis of injured cells. lncRNA B3GALT5-AS1 could promote the proliferation and inhibit apoptosis of AR42J cells induced by caerulein, and the mechanism was related to targeting miR-361-3p.

Keywords lncRNA B3GALT5-AS1; miR-361-3p; acute pancreatitis; proliferation; apoptosis

急性胰腺炎是一种潜在的致死性疾病,其临床表现多种多样,从轻度自限性疾病到严重的败血症和多器官衰竭,引起较高的发病率和死亡率^[1-2]。因此,探索高效的治疗药物具有重要意义。基因组测序和转录组测序表明,虽然70%的人类基因组转录RNA分子,但只有约2%的人类基因组编码蛋白,可见,人类转录组中大部分是非编码RNA^[3]。这些非编码RNA在人类的很多疾病中具有关键的调控作用^[4]。长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)和微小RNA(microRNA, miRNA)是疾病中最常见的非编码RNA^[5],其中包括急性胰腺炎^[6-7]。lncRNA 1,3-半乳糖基转移酶-多肽5反义RNA(1,3-galactosyltransferase-polypeptide 5 antisense RNA, B3GALT5-AS1)是近期新发现的一种lncRNA, B3GALT5-AS1与肿瘤的进展有关,参与调控肿瘤细胞的生长和转移^[8-9]。本研究旨在探索B3GALT5-AS1对雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞增殖、凋亡

的调控机制。

1 材料与方法

1.1 材料

大鼠胰腺腺泡细胞AR42J购自成都正能生物技术有限责任公司;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)购自日本同仁化学研究所;肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)检测试剂盒、白介素-6(interleukin-6, IL-6)检测试剂盒均购自日本TaKaRa公司;辣根过氧化物酶标记的二抗、兔单克隆cyclin D1抗体、兔单克隆survivin抗体、兔单克隆procaspase-3抗体、兔单克隆procaspase-9抗体均购自上海艾博抗贸易有限公司;实时荧光定量反转录聚合酶链反应(real-time fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR)试剂盒购自上海碧云天生物研究所;Annexin V-FITC/PI双染细胞凋亡检测试剂盒购自上海贝博生物科技有限

公司;双荧光素酶报告基因实验试剂盒购自美国Promega Corporation公司;实验中所用质粒、DNA、引物序列均由苏州金唯智生物科技有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞处理与分组 AR42J细胞用DMEM培养基培养,培养基中需添加15%的胎牛血清和1%的青链霉素混合液。在培养条件为37 °C、5% CO₂的恒温培养箱中培养、传代。将正常培养48 h的AR42J细胞标记为对照组;用10 nmol/L的雨蛙素处理AR42J细胞4 h构建AR42J细胞损伤模型,标记为模型组;用脂质体法将质粒或DNA转染至模型组细胞。具体方法为取3倍量的脂质体与质粒或DNA混合,然后将混合液与AR42J细胞共培养6 h,添加新鲜培养液继续培养48 h,再用10 nmol/L的雨蛙素处理AR42J细胞4 h,结束后,qRT-PCR检测细胞中质粒或DNA的转染情况。各转染组及转染的质粒或DNA分别为pcDNA-B3GALT5-AS1组(转染pcDNA-B3GALT5-AS1)、si-B3GALT5-AS1组(转染si-B3GALT5-AS1)、miR-361-3p组(转染miR-361-3p mimics)、anti-miR-361-3p组(转染anti-miR-361-3p)、pcDNA-B3GALT5-AS1+miR-361-3p组(共转染pcDNA-B3GALT5-AS1和miR-361-3p mimics)、si-B3GALT5-AS1+anti-miR-361-3p组(共转染si-B3GALT5-AS1和anti-miR-361-3p)。所用到的质粒和DNA均由苏州金唯智生物科技有限公司设计合成。

1.2.2 CCK-8试剂盒检测细胞增殖率 将需要检测的细胞培养48 h,消化、收集待检测细胞,将细胞浓度调整为 2×10^4 个/mL,取100 μ L置于96孔板。按照CCK-8试剂盒要求操作,检测分析细胞在450 nm波长下的吸光度(D)值。细胞增殖率为 $D_{\text{样品}}/D_{\text{对照}} \times 100\%$ 。实验重复3次,每次做3个复孔。

1.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡率 将培养48 h的待检细胞用PBS洗涤3次,再用结合缓冲液将细胞悬浮。然后按照Annexin V-FITC/PI双染细胞凋亡检测试剂盒说明书要求操作,加入相应的染色液,尽量在避光环境中操作。结束后,快速上流式细胞仪分析细胞的凋亡情况。细胞凋亡率为早期凋亡阳性率与晚期凋亡阳性率之和。

1.2.4 ELISA实验检测细胞上清TNF- α 、IL-6 收集培养48 h的待检测细胞上清液,按照TNF- α 检测试剂盒、IL-6检测试剂盒说明书要求操作,分析其中TNF- α 、IL-6的含量。

1.2.5 Western blot检测细胞cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9蛋白 将培养48 h的待检测细胞用细胞裂解液充分裂解并提取总蛋白,进行定量和变性。将蛋白用于SDS-PAGE电泳。将电泳后PAGE胶上的蛋白用转膜仪转移至NC膜上。将膜在室温下用5%脱脂奶粉封闭2 h。结束后将膜置于稀释好的一抗溶液(兔单克隆cyclin D1抗体1:2 000)中4 °C孵育12~15 h。结束后,将膜转移至稀释好的二抗溶液(辣根过氧化物酶标记的二抗1:1 000)中37 °C反应1 h。最后,将膜用化学发光试剂盒进行显影、曝光。

1.2.6 qRT-PCR检测细胞B3GALT5-AS1、miR-361-3p的表达 用RNA提取试剂盒提取需要检测细胞的总RNA,反转录试剂盒合成cDNA,cDNA作为模板置于-20 °C保存备用。用qRT-PCR试剂盒检测模板中B3GALT5-AS1、miR-361-3p的表达。以 β -actin、U6为内参,2^{- $\Delta\Delta$ CT}法检测细胞中B3GALT5-AS1、miR-361-3p的相对表达水平。B3GALT5-AS1上游引物为5'-ATT TCA CGG ATG AGA CGA C-3',下游引物为5'-CCT TGA GAG ACG AAG CAC-3'; β -actin上游引物为5'-GGG AAA TCG TGC GTG ACA TTA AG-3',下游引物为5'-TGT GTT GGC GTA CAG GTC TTT G-3';miR-361-3p上游引物为5'-UCC CCC AGG UGU GAU UCU GAU UU-3',下游引物为5'-GCA AAT CAG AAT CAC ACC TG-3';U6上游引物为5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3',下游引物为5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'。

1.2.7 生物信息学分析 使用lncRNA数据库DIANA(<http://carolina.imis.athena-innovation.gr>)预测B3GALT5-AS1的潜在靶标。

1.2.8 双荧光素酶报告基因实验检测B3GALT5-AS1与miR-361-3p的结合 根据预测的B3GALT5-AS1结合位点合成野生型B3GALT5-AS1序列片段(含有B3GALT5-AS1结合位点)和突变型B3GALT5-AS1序列片段(不含B3GALT5-AS1结合位点),并将其克隆到荧光载体psiCHECK2中,构建荧光报告基因,提取质粒。将其与miR-NC、miR-361-3p、anti-miR-NC、anti-miR-361-3p用脂质体共转染至AR42J细胞。按照双荧光素酶报告基因实验试剂盒说明书要求操作,记录2次荧光素酶的激发值(萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶)。结果以两者的比值表示B3GALT5-AS1与miR-361-3p的结合力。

1.2.9 统计学处理 实验中所涉及的所有实验数

据都用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 使用SPSS 22.0进行专业的统计分析。多组间数据比较采用单因素方差分析+SNK-*q*检验, 两组数据比较使用独立样本*t*检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计意义。

2 结果

2.1 对照组、模型组细胞的增殖、凋亡的比较

结果如图1所示, 与对照组相比, 模型组细胞增殖率显著降低, 凋亡率显著升高, TNF- α 和IL-6的表达均显著升高($P<0.05$)。结果表明, 雨蛙素抑制胰腺腺泡

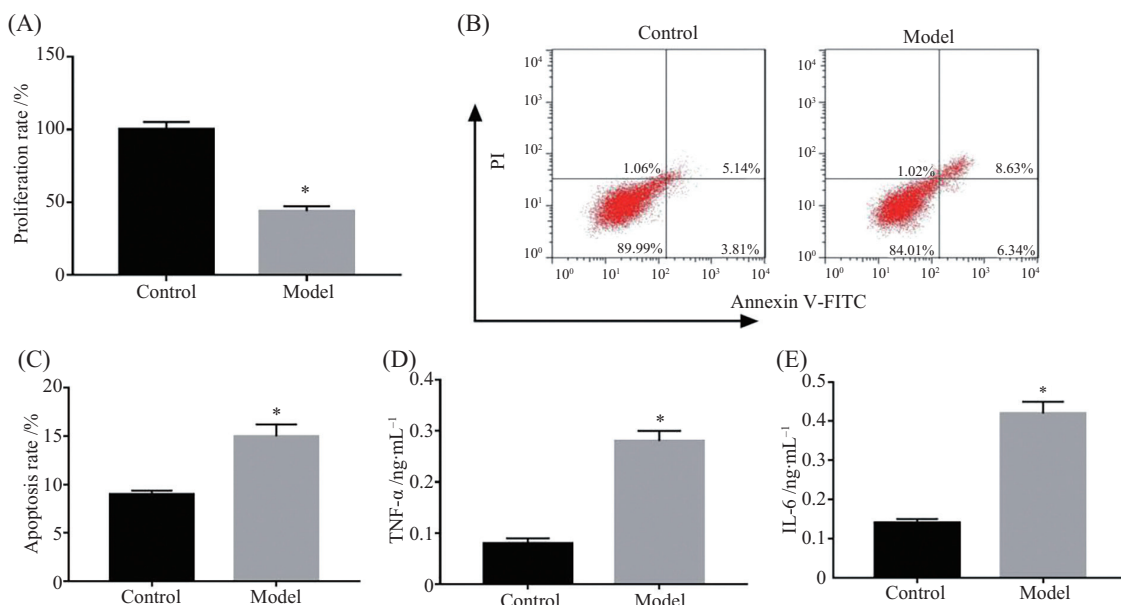
细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 促进细胞分泌TNF- α 和IL-6。

2.2 对照组、模型组细胞B3GALT5-AS1、miR-361-3p的表达

结果如图2所示, 与对照组相比, 模型组细胞中B3GALT5-AS1表达明显降低, miR-361-3p表达明显升高($P<0.05$)。结果表明, 雨蛙素抑制胰腺腺泡细胞中B3GALT5-AS1, 促进miR-361-3p表达。

2.3 B3GALT5-AS1对模型组细胞增殖、凋亡的影响

结果如图3所示, 与模型组相比, pcDNA-B3GALT5-

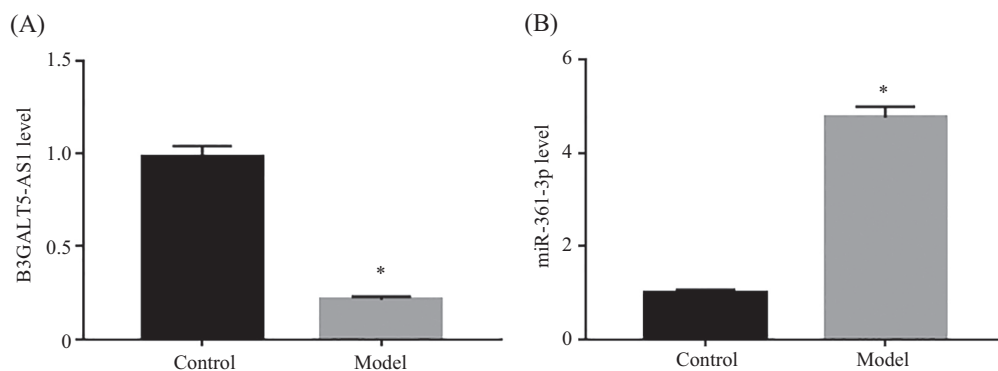


A: 细胞增殖率比较; B: 流式细胞术检测细胞凋亡结果; C: 细胞凋亡率比较; D: 细胞分泌的TNF- α 水平比较; E: 细胞分泌的IL-6水平比较。 $*P<0.05$, 与对照组比较。

A: comparison of cell proliferation rate; B: apoptosis results detected by flow cytometry; C: comparison of apoptosis rate; D: comparison of TNF- α levels secreted by cells; E: comparison of IL-6 levels secreted by cells. $*P<0.05$ compared with control group.

图1 雨蛙素对胰腺腺泡细胞增殖、凋亡及和IL-6、TNF- α 分泌影响

Fig.1 The effects of caerulein on proliferation, apoptosis and secretion of IL-6 and TNF- α in pancreatic acinar cells

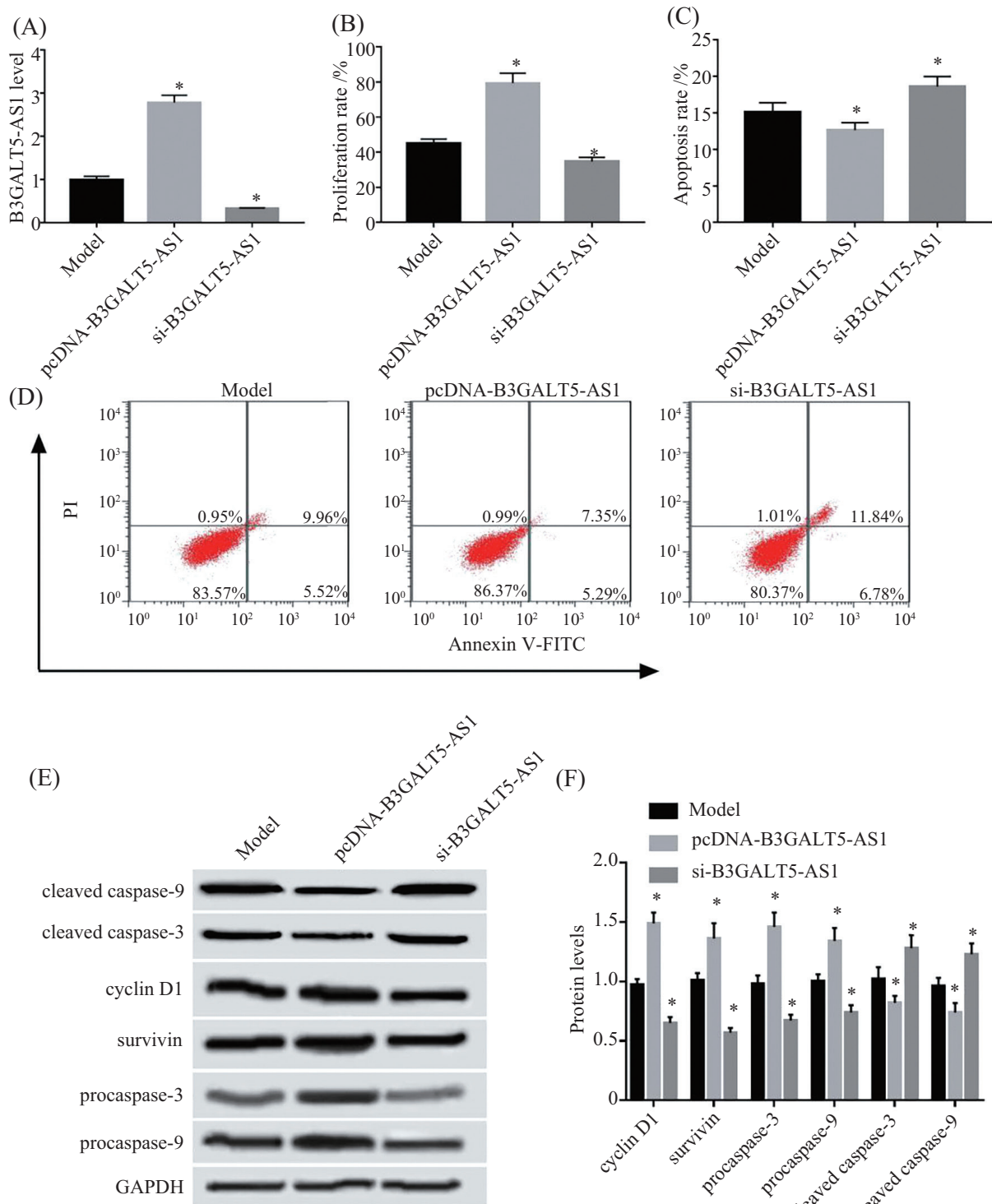


A: B3GALT5-AS1表达水平比较; B: miR-361-3p表达水平比较。 $*P<0.05$, 与对照组比较。

A: comparison of B3GALT5-AS1 expression level; B: comparison of miR-361-3p expression level. $*P<0.05$ compared with control group.

图2 雨蛙素对胰腺腺泡细胞中B3GALT5-AS1、miR-361-3p表达影响

Fig.2 The effects of caerulein on the expression of B3GALT5-AS1, miR-361-3p in pancreatic acinar cells



A: B3GALT5-AS1水平比较; B: 细胞增殖率比较; C: 细胞凋亡率比较; D: 流式细胞术检测细胞凋亡结果; E: cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9、cleaved caspase-3、cleaved caspase-9蛋白电泳图; F: cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9、cleaved caspase-3、cleaved caspase-9蛋白水平比较。* $P < 0.05$, 与模型组相比。

A: comparison of B3GALT5-AS1 level; B: comparison of cell proliferation rate; C: apoptosis rate comparison; D: apoptosis results detected by flow cytometry; E: cyclin D1, survivin, procaspase-3, procaspase-9, cleaved caspase-3, cleaved caspase-9 protein electrophoresis; F: cyclin D1, survivin, procaspase-3, procaspase-9, cleaved caspase-3, cleaved caspase-9 protein level comparison. * $P < 0.05$ compared with the model group.

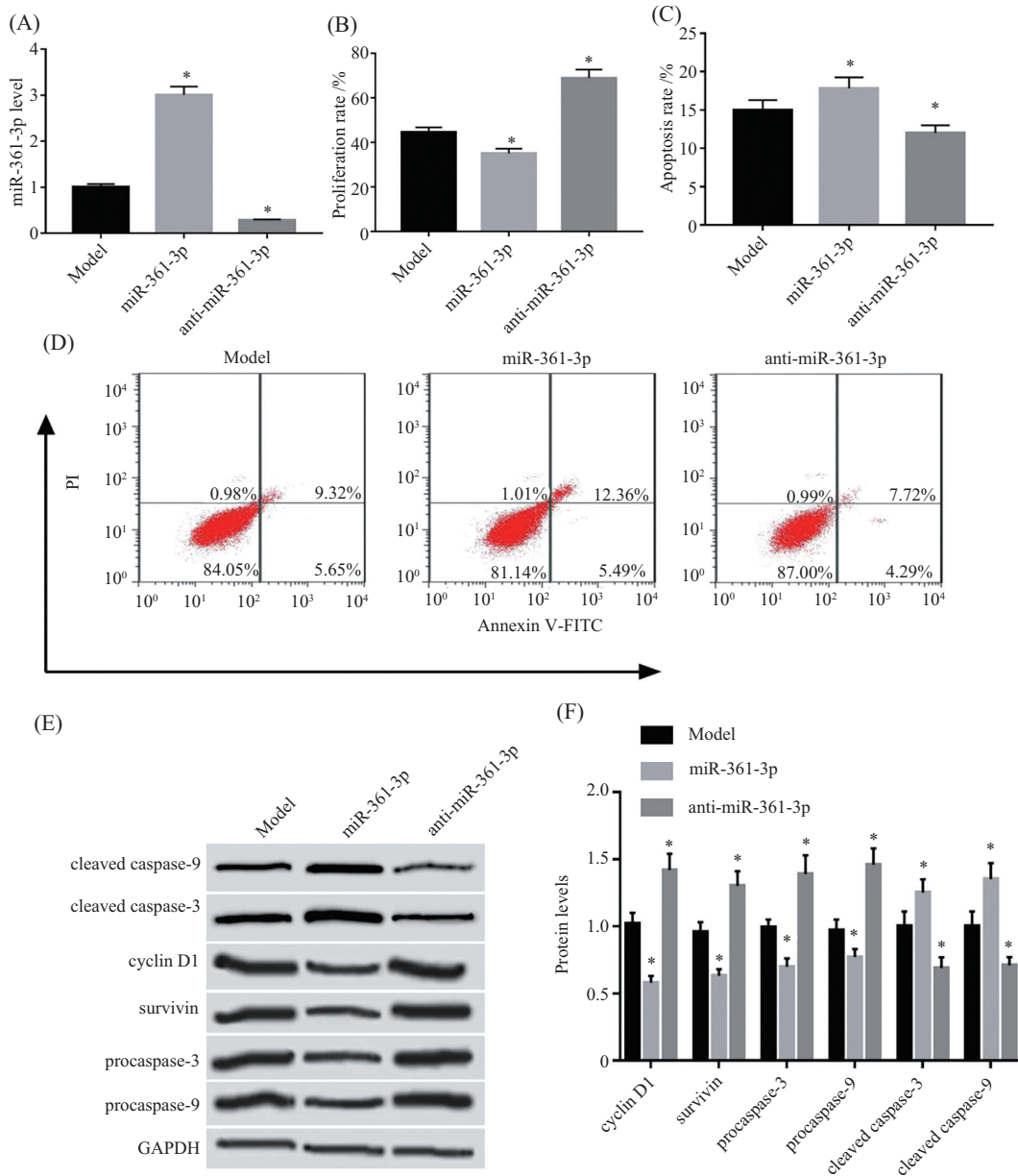
图3 B3GALT5-AS1 siRNA和pcDNA-B3GALT5-AS1转染对雨蛙素条件下胰腺腺泡细胞增殖、凋亡和cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9、cleaved caspase-3、cleaved caspase-9蛋白表达影响

Fig.3 The influence of transfection of B3GALT5-AS1 siRNA and pcDNA-B3GALT5-AS1 on the cell proliferation, apoptosis and cyclin D1, survivin, procaspase-3, procaspase-9, cleaved caspase-3, and cleaved caspase-9 proteins in pancreatic acinar cells induced by caerulein

AS1组模型细胞中B3GALT5-AS1表达明显上升, 细胞增殖率也上升, 细胞凋亡率下降, cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9蛋白的表达均上升 ($P<0.05$), 而si-B3GALT5-AS1组模型细胞则发生相反的调控作用。结果表明, 上调B3GALT5-AS1促进

雨蛙素条件下胰腺腺泡细胞增殖, 减少细胞凋亡; 下调B3GALT5-AS1抑制雨蛙素条件下胰腺腺泡细胞增殖, 促进细胞凋亡。

2.4 miR-361-3p对模型组细胞增殖、凋亡的影响
结果如图4所示, 与模型组相比, miR-361-3p组

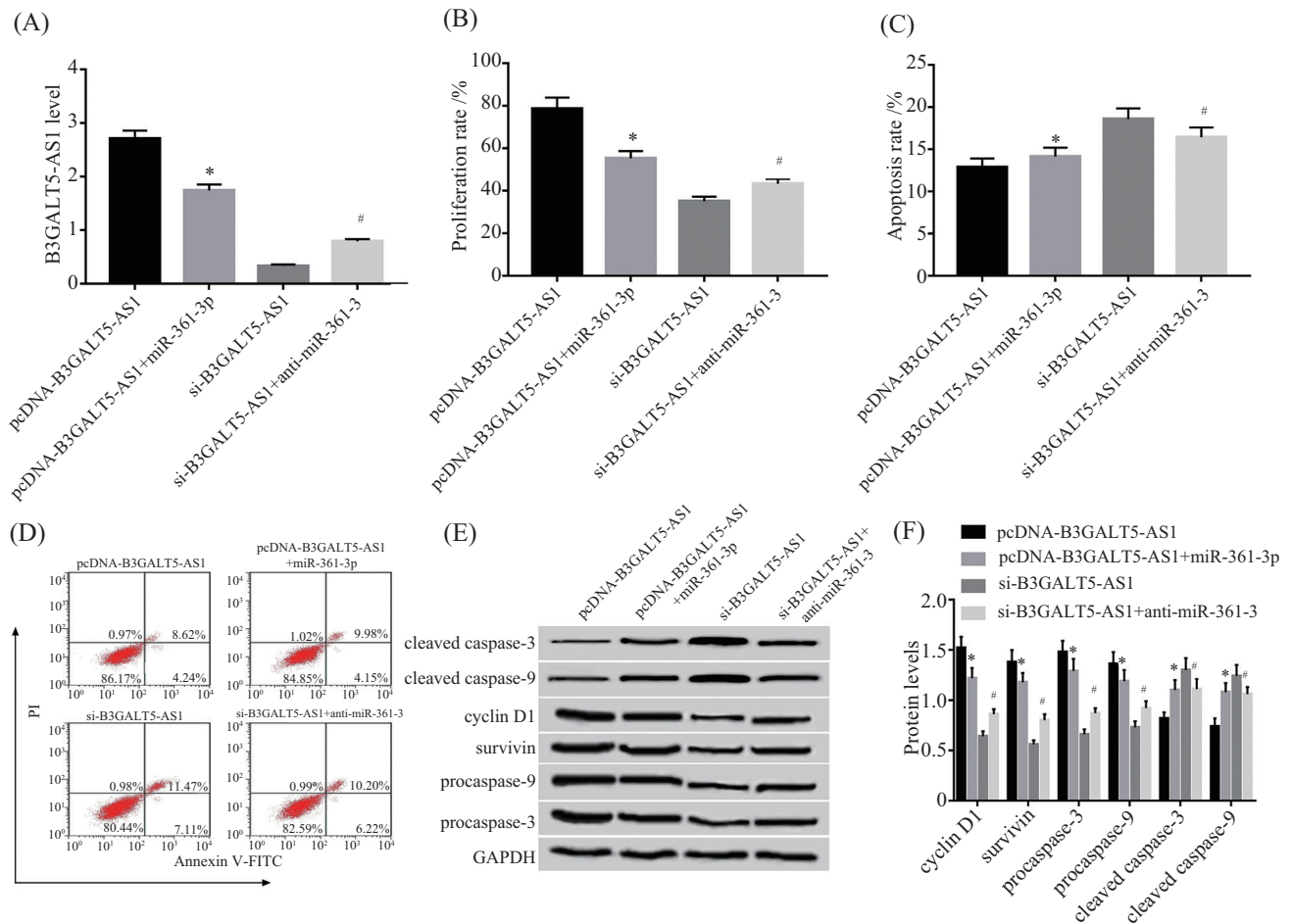


A: miR-361-3p水平比较; B: 细胞增殖率比较; C: 细胞凋亡率比较; D: 流式细胞术检测细胞凋亡结果; E: cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9、cleaved caspase-3、cleaved caspase-9蛋白电泳图; F: cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9、cleaved caspase-3、cleaved caspase-9蛋白水平比较。* $P<0.05$, 与模型组相比。

A: comparison of miR-361-3p levels; B: comparison of cell proliferation rates; C: comparison of apoptosis rates; D: results of apoptosis detected by flow cytometry; E: cyclin D1, survivin, procaspase-3, procaspase-9, cleaved caspase-3, cleaved caspase-9 protein electrophoresis; F: cyclin D1, survivin, procaspase-3, procaspase-9, cleaved caspase-3, cleaved caspase-9 protein level comparison. * $P<0.05$ compared with the model group.

图4 上调或下调miR-361-3p对雨蛙素条件下胰腺腺泡细胞增殖、凋亡和cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9、cleaved caspase-3、cleaved caspase-9蛋白表达影响

Fig.4 The effects of up-regulation or down-regulation of miR-361-3p on pancreatic acinar cell proliferation, apoptosis and cyclin D1, survivin, procaspase-3, procaspase-9, cleaved caspase-3, cleaved caspase-9 protein expression



A: miR-361-3p水平比较; B: 细胞增殖率比较; C: 细胞凋亡率比较; D: 流式细胞术检测细胞凋亡结果; E: cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9、cleaved caspase-3、cleaved caspase-9蛋白电泳图; F: cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9、cleaved caspase-3、cleaved caspase-9蛋白水平比较。* $P < 0.05$, 与pcDNA-B3GALT5-AS1组相比; # $P < 0.05$, 与si-B3GALT5-AS1组相比。

A: comparison of miR-361-3p levels; B: comparison of cell proliferation rates; C: comparison of apoptosis rates; D: results of apoptosis detected by flow cytometry; E: cyclin D1, survivin, procaspase-3, procaspase-9, cleaved caspase-3, cleaved caspase-9 protein electrophoresis; F: comparison of cyclin D1, survivin, procaspase-3, procaspase-9, cleaved caspase-3, cleaved caspase-9 protein levels. * $P < 0.05$ compared with pcDNA-B3GALT5-AS1 group; # $P < 0.05$ compared with si-B3GALT5-AS1 group.

图6 miR-361-3p对B3GALT5-AS1调控雨蛙素条件下胰腺腺泡细胞增殖、凋亡和cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9、cleaved caspase-3、cleaved caspase-9蛋白表达影响

Fig.6 The effects of miR-361-3p on the proliferation and apoptosis of pancreatic acinar cells and the expression of cyclin D1, survivin, procaspase-3, procaspase-9, cleaved caspase-3, and cleaved caspase-9 protein under the condition of B3GALT5-AS1 regulating caerulein

胞B3GALT5-AS1表达显著降低, 细胞增殖率显著降低, 细胞凋亡率明显升高, cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9的蛋白表达均降低($P < 0.05$); 与si-B3GALT5-AS1组相比, si-B3GALT5-AS1+anti-miR-361-3p组模型细胞中B3GALT5-AS1表达异常升高, 细胞增殖率升高, 细胞凋亡率降低, cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9的蛋白表达均升高($P < 0.05$)。miR-361-3p可以逆转B3GALT5-AS1对雨蛙素影响的胰腺腺泡细胞增殖、凋亡作用。

3 讨论

lncRNA是一类缺乏蛋白质编码能力、长度超过200个核苷酸的RNA转录本。越来越多的证据表明, lncRNA通常在许多病理状态下差异表达, 并在不同的病理过程中发挥重要作用^[10]。近期有研究报道, B3GALT5-AS1在结肠癌组织中的表达异常降低, 可抑制结肠癌细胞的增殖, 但不抑制癌细胞的迁移和侵袭, 其作用机制为靶向miR-203/EMT信号通路^[8]。还有研究显示, B3GALT5-AS1参与胃癌进展, 在胃癌组织中高表达, 并且B3GALT5-AS1表达改变

与胃癌患者的TNM分期等有关^[9]。WANG等^[11]在研究中发现, B3GALT5-AS1在雨蛙素诱导的AR42J细胞损伤中的表达异常降低, 过表达B3GALT5-AS1后能够减轻细胞的损伤程度, 其潜在的作用机制为调节miR-203/白介素3调节核因子通路并抑制核转录因子 κ B通路的活性。本研究用雨蛙素处理AR42J细胞后, 细胞的增殖率降低, 凋亡率升高, 致炎因子TNF- α 和IL-6的表达升高, 这也验证了雨蛙素在急性胰腺炎体外研究模型制作中的重要地位。进一步研究发现, B3GALT5-AS1在雨蛙素诱导的AR42J细胞损伤中的表达下降, 过表达B3GALT5-AS1可促进受损AR42J细胞增殖, 抑制凋亡, 并上调cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9的表达水平, 而抑制B3GALT5-AS1则具有相反的作用, 这与WANG的实验结果相一致, 再次证实了B3GALT5-AS1具有潜在的治疗急性胰腺炎的价值。深入探索其作用机制, 通过双荧光素酶报告实验和RIP实验验证B3GALT5-AS1可靶向结合miR-361-3p, 这可能与B3GALT5-AS1调控急性胰腺炎胰腺损伤有关。

miRNA也属于非编码RNA, 其在人类各种疾病的病理进程中的作用也得到国内外研究的认可^[12-13]。据报道, miR-361-3p在皮肤性利什曼病病灶中的表达异常上升, 并与该病的治疗失败、治愈时间延长密切相关^[14]。在高甘油三酯血症诱发的急性胰腺炎患者血清发生失调的miRNA中, miR-361-5p的表达异常上调, 显示出较高的敏感性, 具有生物诊断标志的潜力^[15]。本研究发现, miR-361-5p在雨蛙素诱导的AR42J细胞损伤中的表达异常升高, 这与前人的研究结果一致。进一步研究发现, 过表达miR-361-5p可抑制受损AR42J细胞的增殖, 促进凋亡, 并下调cyclin D1、survivin、procaspase-3、procaspase-9的表达水平, 而抑制miR-361-5p具有相反的调控作用。此外, 过表达miR-361-5p还可减弱过表达B3GALT5-AS1对受损AR42J细胞的增殖、凋亡的调控作用; 抑制miR-361-5p也可减弱抑制B3GALT5-AS1对受损AR42J细胞的增殖、凋亡的作用。这揭示了miR-361-5p能够恢复B3GALT5-AS1在急性胰腺炎中的功能。

综上所述, lncRNA B3GALT5-AS1在雨蛙素诱导的AR42J细胞中表达下调, 其能够通过靶向miR-

361-5p促进受损细胞的增殖, 抑制凋亡, 为急性胰腺炎的治疗提供新的研究方向。

参考文献 (References)

- [1] ELISABETTA M, RAHUL K, AJAY P B, et al. Pharmacological interventions for acute pancreatitis[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 2017(4): CD011384.
- [2] MAXIM S P, DHIRAJ Y. Global epidemiology and holistic prevention of pancreatitis [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(3): 175-84.
- [3] NING S, LI X. Non-coding RNA resources [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1094(1): 1-7.
- [4] PENG Y, CALIN G A. Crucial role of non-coding RNAs in disease [J]. *Cancer Lett*, 2018, 420(4): 127-8.
- [5] CHEN L, ZHOU Y, LI H. LncRNA, miRNA and lncRNA-miRNA interaction in viral infection [J]. *Virus Res*, 2018, 257(9): 25-32.
- [6] BALLANTYNE M D, MCDONALD R A, BAKER A H. lncRNA/MicroRNA interactions in the vasculature [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2016, 99(5): 494-501.
- [7] LI M, DUAN L, LI Y, et al. Long noncoding RNA/circular noncoding RNA-miRNA-mRNA axes in cardiovascular diseases [J]. *Life Sci*, 2019, 233(9): 116440.
- [8] WANG L, WEI Z, WU K, et al. Long noncoding RNA B3GALT5-AS1 suppresses colon cancer liver metastasis via repressing microRNA-203 [J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(12): 3662-82.
- [9] FENG W, ZONG W, LI Y, et al. Abnormally expressed long non-coding RNA B3GALT5-AS1 may serve as a biomarker for the diagnostic and prognostic of gastric cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(1): 557-65.
- [10] JATHAR S, KUMAR V, SRIVASTAVA J, et al. Technological developments in lncRNA biology [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 1008(1): 283-323.
- [11] WANG L, ZHAO X, WANG Y. The pivotal role and mechanism of long non-coding RNA B3GALT5-AS1 in the diagnosis of acute pancreatitis [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 2307-15.
- [12] LU T X, ROTHENBERG M E. MicroRNA [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(4): 1202-7.
- [13] VISHNOI A, RANI S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases: an overview [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1509(11): 1-10.
- [14] LAGO T S, SILVA J A, LAGO E L, et al. The miRNA 361-3p, a regulator of GZMB and TNF is associated with therapeutic failure and longer time healing of cutaneous leishmaniasis caused by *L. (viannia) braziliensis* [J]. *Front Immunol*, 2018, 9(11): 2621-30.
- [15] AN F, ZHAN Q, XIA M, et al. From moderately severe to severe hypertriglyceridemia induced acute pancreatitis: circulating miRNAs play role as potential biomarkers [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): 1-10.