

# 小鼠骨髓间充质干细胞通过miR-130b调控 上皮钠通道的机制研究

张红蕾 周祉好 侯亚鹏 刘宏飞 王琳 丁炎 聂宏光\*

(中国医科大学基础医学院干细胞与再生医学研究室, 沈阳 110122)

**摘要** 该研究旨在探讨小鼠骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)通过miR-130b对上皮钠通道(epithelial sodium channel, ENaC)的影响。将分离与培养的小鼠BMSCs接种到Transwell小室中, 然后与H441细胞进行共培养。利用CCK-8试剂盒检测BMSCs对H441细胞生存能力的影响; 采用 Western blot技术检测BMSCs对共培养的H441细胞中 $\gamma$ -ENaC蛋白水平的影响; qRT-PCR技术检测与BMSCs共培养的H441细胞中miR-130b表达情况, 然后将此microRNA转染到普通培养的H441细胞中, 在蛋白水平进一步验证其对H441细胞中 $\gamma$ -ENaC的影响。实验结果表明, BMSCs能够增强H441细胞的生存能力; 同时BMSCs能分别增加共培养的H441细胞中 $\gamma$ -ENaC的蛋白水平以及miR-130b的转录水平; Western blot实验进一步证实, miR-130b转染至H441细胞后能够增加其 $\gamma$ -ENaC的蛋白表达。由此我们推测, BMSCs能够增强H441细胞的生存能力并且可能通过miR-130b发挥其对 $\gamma$ -ENaC的蛋白水平调控作用。

**关键词** 骨髓间充质干细胞; 上皮钠通道; microRNA

## Mechanism of Mouse Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Regulating Epithelial Sodium Channel via miR-130b

ZHANG Honglei, ZHOU Zhiyu, HOU Yapeng, LIU Hongfei, WANG Lin, DING Yan, NIE Hongguang\*

(Department of Stem Cells and Regenerative Medicine, China Medical University, Shenyang 110122, China)

**Abstract** The aim of this study was to investigate the effects of mouse BMSCs (bone marrow mesenchymal stem cells) on ENaC (epithelial sodium channel) via miR-130b. The isolated and cultured mouse BMSCs were seeded onto the transwell inserts and then co-cultured with H441 cells. The effect of BMSCs on the viability of H441 cells was detected by CCK-8 reagent. The effect of BMSCs on the level of  $\gamma$ -ENaC protein in co-cultured H441 cells was detected by Western blot. The expression of miR-130b in H441 cells co-cultured with BMSCs was detected by qRT-PCR. The microRNA was then transfected into normal cultured H441 cells, and its effect on  $\gamma$ -ENaC in H441 cells was further verified at the protein level. The results showed that BMSCs could enhance the viability of H441 cells. BMSCs could increase the protein level of  $\gamma$ -ENaC and the transcription level of miR-130b in co-cultured H441 cells respectively. Western blot analysis further confirmed that miR-130b could increase the protein expression of  $\gamma$ -ENaC after transfection into H441 cells. Thus, we speculate that BMSCs can enhance the viability

收稿日期: 2019-06-27

接受日期: 2019-11-06

国家自然科学基金(批准号: 81670010)和辽宁省重点研发计划指导计划项目(批准号: 2018225077)资助的课题

\*通信作者。Tel: 024-23256666-6028, E-mail: hgnie@cmu.edu.cn

Received: June 27, 2019

Accepted: November 6, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81670010) and Liaoning Provincial Key Research and Development Program Guidance Project (Grant No.2018225077)

\*Corresponding author. Tel: +86-24-23256666-6028, E-mail: hgnie@cmu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5156>

of H441 cells and may exert its regulation of  $\gamma$ -ENaC protein level through miR-130b.

**Keywords** bone marrow mesenchymal stem cells; epithelial sodium channel; microRNA

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是一种临床综合征, 主要特征之一为严重的肺水肿<sup>[1]</sup>。肺上皮细胞中的上皮钠通道(epithelial sodium channel, ENaC)在肺泡液体清除过程中具有重要的作用, 而肺泡液体清除有助于减轻肺水肿病情<sup>[2]</sup>。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是目前研究最为广泛的成体干细胞, MSCs来源广泛, 其趋化性和增殖潜力大, 并且能够分化成多种类型的细胞<sup>[3]</sup>, 其在再生医学的研究领域中具有较高的研究价值<sup>[4]</sup>。MSCs的治疗作用已在许多肺部疾病中被证实, 其中包括ALI<sup>[5]</sup>。MSCs可释放由多种miRNA(microRNA)组成的外泌体/微泡, 这些miRNA可能参与多种肺部疾病<sup>[5-7]</sup>。miRNA参与生命过程中一系列的重要进程, 在细胞增殖、免疫反应、炎症和细胞凋亡中起重要作用<sup>[8]</sup>。已有研究发现, miRNA可以调节ENaC<sup>[9]</sup>, 我们推测, MSCs可能通过其分泌的一种或多种miRNA对ENaC产生调控作用。本研究中, 我们首先应用Miranda和TargetScan等多个预测软件进行预测, 筛选出可能对ENaC有调控作用的miR-130b。我们进一步应用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)建立体外ALI模型, 旨在探讨小鼠骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)对H441细胞生存能力和ENaC表达的影响, 由此推测MSCs可能通过miR-130b对ENaC发挥调控作用, 进而影响肺泡液体清除, 在临床上缓解水肿型ALI<sup>[10]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

SPF级雄性C57小鼠, 3周龄, 体质量为9~10 g, 由中国医科大学动物部提供, 动物合格证书编号为SYXK(辽)2018-0008; H441细胞株购自美国模式培养物集存库; DMEM/F12培养基、RPMI-1640培养基和胎牛血清购自HyClone公司; 重组小鼠碱性成纤维细胞生长因子购自PeproTech公司; CCK-8购自上海碧云天生物技术有限公司; 小鼠抗 $\gamma$ -ENaC单克隆抗体购自Abcam公司; 小鼠抗 $\beta$ -actin单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG和羊抗鼠IgG购自Santa Cruz公司; ECL试剂盒购自Thermo Fisher公司; 逆转录试剂盒和实时定量PCR试剂盒购自TaKaRa公司;

转染试剂siRNA-mate和miRNAs NC/mimics/抑制剂NC/抑制剂购自Genepharma公司。

### 1.2 分离与培养小鼠BMSCs

本实验遵循中国医科大学伦理委员会制定的相关规定(理审批号: 14026M)。C57雄性小鼠处死后, 于75%乙醇中浸泡10 min, 将其转移至超净台10 cm直径培养皿中对小鼠进行解剖, 分离出小鼠的两根股骨, 放置在提前预冷的PBS中, 剔除肌肉和筋膜, 转移至干净的预冷的PBS中。用装有2 mL含有重组小鼠碱性成纤维细胞生长因子(10 ng/mL)、10%胎牛血清、1%青霉素/链霉素的DMEM/F12培养基的5 mL注射器, 从小鼠股骨一端注入培养基冲洗股骨至6孔板中, 将所有骨髓完全冲洗干净, 然后于37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h后换液, 此后隔天换液, 当细胞融合达80%左右进行传代。当给细胞进行第2次传代时, 将细胞传至6孔Transwell小室中或24孔Transwell小室中, 培养24 h后进行与H441细胞的共培养。

### 1.3 检测BMSCs对H441细胞生存能力的影响

将H441细胞接种于24孔板中, 用含10%胎牛血清、1%青霉素/链霉素的RPMI-1640培养基于37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h。吸去培养基, 用PBS清洗细胞3次, 加入无血清的DMEM/F12培养基培养24 h, 将细胞随机分为4组: 第1组为无血清DMEM/F12培养基对照组(Control组, CON); 第2组用无血清DMEM/F12培养基预处理12 h后加入LPS(5~10  $\mu$ g/mL)继续培养12 h(LPS组); 第3组加入已接种了BMSCs的Transwell小室(Co-culture组, CO); 第4组加入已接种了BMSCs的Transwell小室12 h后再加入LPS继续培养12 h(Co-culture+LPS组, CO+LPS)。培养结束后, 吸去各组培养基, 加入含10% CCK-8的DMEM/F12培养基, 避光孵育1 h, 获取反应后的溶液用酶标仪于450 nm测定D值, 计算细胞存活率。

### 1.4 Western blot分析

按1.3中分组培养细胞, 24 h后用细胞裂解液提取细胞中的蛋白, 于恒温金属浴95 °C加热10 min使蛋白变性, 然后在-20 °C冰箱中保存。加入等量蛋白样品, 用10%聚丙烯酰胺凝胶进行SDS-PAGE分析, 然后将样品转到PVDF膜上。用5%小牛血清白蛋白于室温孵育1 h后, 加入一抗(1:2 000稀释), 于4 °C下

孵育过夜。第2天,加入相应的二抗(1:2 000稀释),室温孵育1 h,应用ECL试剂盒分析图像。

### 1.5 qRT-PCR分析

按1.3中分组培养细胞,24 h后用TRIzol试剂提取总RNA。用紫外分光光度计检测并分析RNA浓度和纯度,选取D260/280、D260/230均在1.8~2.0的RNA样品0.5  $\mu$ g,按miRNA逆转录试剂盒的说明书进行逆转录体系配制和逆转反应,反应完成后,加90  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O进行稀释,将样品保存在-80℃。应用SYBR Premix Ex Taq II kit试剂盒进行qRT-PCR反应。反应条件为预变性95℃ 30 s,单循环;95℃ 5 s,60℃ 34 s,40个循环。以U6表达作为内参标定miR-130b的表达量,并对结果进行比较分析,得出各组的miR-130b的表达情况。

### 1.6 miR-130b的转染

将H441细胞接种于6孔板中,待细胞密度达到50%~60%时,弃掉培养液,用PBS清洗细胞3次,换成无血清培养液。将实验分成4组:第1组为NC(negative control)组、第2组为Mimic(miR-130b mimic)组、第3组为IN+NC(miR-130b inhibitor negative control)组、第4组为Inhibitor(miR-130b inhibitor)组。首先进行转染复合物的配制,向无菌的EP管中加入200  $\mu$ L的无血清的RPMI-1640培养基,分别向其中加入转染试剂siRNA-mate 4  $\mu$ L以及上述分组物质3  $\mu$ L,快速混匀,放置20 min,待形成转染复合物后,将各组混合物点加到6孔板中,于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养6 h后,弃掉液体,换成含有血清的培养液培养72 h,收集细胞,用Western blot技术检测miR-130b对 $\gamma$ -ENaC蛋白表达的影响。

### 1.7 统计学处理

用 $\bar{x} \pm s$ 表示实验结果,组间比较采用 $t$ 检验。应用ImageJ软件对Western blot结果进行数据分析,应用Origin 8.0软件对数据进行统计分析, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

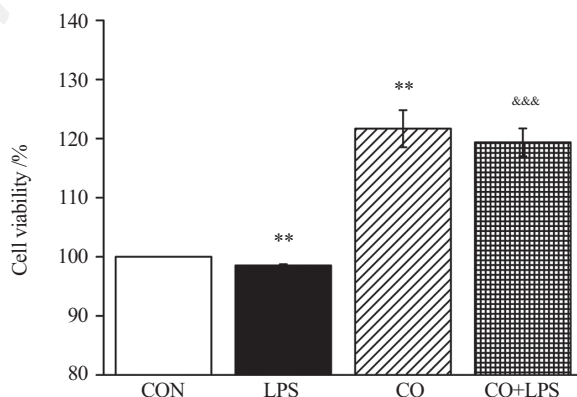
## 2 结果

### 2.1 BMSCs对H441细胞生存能力的影响

通过CCK-8实验我们检测了BMSCs对H441细胞生存能力的影响。如图1所示,细胞生存能力以相对存活率(与对照组100%相比)表示。通过LPS刺激的H441细胞生存能力为(98.53 $\pm$ 0.20)%,与对照组(CON)相比,LPS刺激使H441细胞生存能力明显降低( $P < 0.01$ );将BMSCs与H441细胞共培养24 h后,测得共培养(CO)组细胞的生存能力为(121.67 $\pm$ 3.13)%,与对照组相比,共培养组H441细胞有更好的生存能力,差异有明显统计学意义( $P < 0.01$ );将给予LPS的H441细胞与BMSCs共培养(CO+LPS)后,H441细胞的生存能力显著增强( $P < 0.001$ )。以上结果表明,BMSCs能够增加H441细胞生理及在ALI病理条件下的生存能力。

### 2.2 BMSCs对H441细胞中 $\gamma$ -ENaC蛋白表达水平的影响

如图2所示,LPS组与对照(CON)组相比较,H441细胞中 $\gamma$ -ENaC蛋白表达降低( $P < 0.05$ );将BMSCs与H441细胞共培养(CO)能提高 $\gamma$ -ENaC蛋白表达水平,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );并且我们还发现,将LPS预处理的H441细胞与BMSCs共



\*\* $P < 0.01$ , 与CON组比较; \*\*\* $P < 0.001$ , 与LPS组比较;  $n = 3$ 。

\*\* $P < 0.01$  compared with CON group; \*\*\* $P < 0.001$  compared with LPS group;  $n = 3$ 。

图1 BMSCs对H441细胞生存能力的影响

Fig.1 Effect of BMSCs on the viability of H441 cells



培养(CO+LPS), 与单独应用LPS组相比, BMSCs能使 $\gamma$ -ENaC蛋白表达升高( $P<0.05$ )。上述结果表明, BMSCs能增加H441中 $\gamma$ -ENaC的蛋白表达水平。

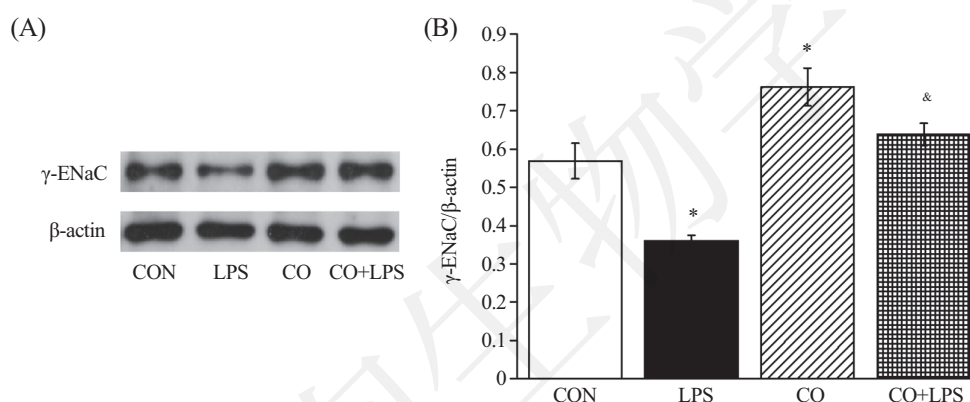
### 2.3 BMSCs对H441中miR-130b表达情况的影响

图3为qRT-PCR技术检测BMSCs与H441细胞共培养后, H441细胞中miR-130b的表达情况。与对照组(CON) 100%相比, LPS组miR-130b的表达量降低( $P<0.05$ ), 而共培养(CO)后可以增加miR-130b的表达( $P<0.05$ ), 其表达量升高至 $(145.18\pm 21.16)\%$ ; 将LPS预处理的细胞与BMSCs共培养(CO+LPS), 与单独应用LPS处理组相比, miR-130b的表达升高至 $(132.47\pm 5.19)\%$ , 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结果

表明, BMSCs增加了H441中miR-130b的表达, 由此我们推测, miR-130b可能参与上述BMSCs对ENaC的调控作用。

### 2.4 miR-130b对H441细胞中 $\gamma$ -ENaC蛋白表达水平的影响

图4为将miR-130b模拟物与其抑制剂分别转染到H441细胞中, 通过Western blot技术检测的miR-130b对H441细胞 $\gamma$ -ENaC蛋白表达的影响。与阴性对照(NC)组相比, miR-130b模拟物(Mimic)组中的H441细胞中 $\gamma$ -ENaC蛋白表达明显升高( $P<0.01$ ); miR-130b抑制剂组(inhibitor)与其对照(IN+NC)相比, H441细胞中 $\gamma$ -ENaC蛋白表达降低, 差异具有统计学

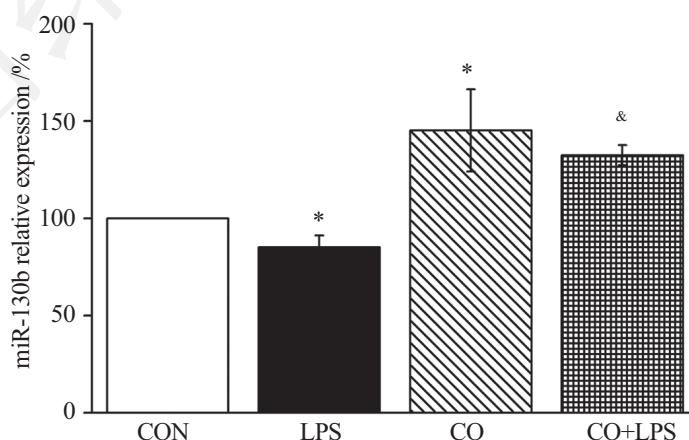


A: Western blot技术检测BMSCs对H441细胞中 $\gamma$ -ENaC蛋白表达水平影响的条带图; B: 相应的统计图; \* $P<0.05$ , 与CON组比较; & $P<0.05$ , 与LPS组比较;  $n=3$ 。

A: the band diagram of Western blot to analyze the effect of BMSCs on the expression of  $\gamma$ -ENaC protein in H441 cells; B: statistical analysis; \* $P<0.05$  compared with CON group; & $P<0.05$  compared with LPS group;  $n=3$ 。

图2 BMSCs对H441细胞中 $\gamma$ -ENaC蛋白表达水平的影响

Fig.2 Effect of BMSCs on the expression of  $\gamma$ -ENaC protein in H441 cells

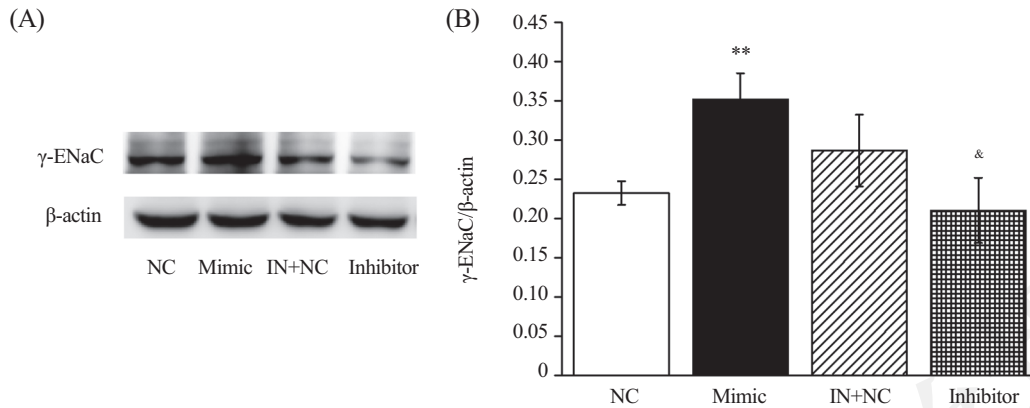


qRT-PCR技术检测BMSCs对H441中miR-130b表达影响的统计图。\* $P<0.05$ , 与CON组比较; & $P<0.05$ , 与LPS组比较;  $n=4$ 。

Statistical analysis of the effect of BMSCs on the expression of miR-130b in H441 by qRT-PCR. \* $P<0.05$  compared with CON group; & $P<0.05$  compared with LPS group;  $n=4$ 。

图3 BMSCs对H441细胞中miR-130b表达情况的影响

Fig.3 Effect of BMSCs on the expression of miR-130b in H441 cells



A: Western blot技术检测miR-130b对H441细胞中 $\gamma$ -ENaC蛋白表达水平影响的条带图; B: 相应的统计图; \*\* $P<0.01$ , 与NC组比较; \* $P<0.05$ , 与IN+NC组比较;  $n=4$ 。

A: the band diagram of Western blot to analyze the effect of miR-130b on the expression of  $\gamma$ -ENaC protein in H441 cells; B: statistical analysis; \*\* $P<0.01$  compared with the NC group; \* $P<0.05$  compared with the IN+NC group;  $n=4$ .

图4 miR-130b对H441细胞中 $\gamma$ -ENaC蛋白表达水平的影响

Fig.4 Effect of miR-130b on the expression of  $\gamma$ -ENaC protein in H441 cells

意义( $P<0.05$ )。以上结果显示, miR-130b能够上调 $\gamma$ -ENaC蛋白表达水平。

### 3 讨论

ALI是一种临床综合征,表现为炎症反应、肺水肿、肺内皮和上皮损伤导致的急性呼吸衰竭,其中严重的肺水肿是ALI的主要特征<sup>[11]</sup>。ENaC主要生理功能为跨紧密连接上皮进行单向转运钠离子,从而调节水和离子转运,在肺泡液体清除过程中具有的重要作用。人体中的ENaC由四种亚基组成: $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 和 $\delta$ <sup>[12]</sup>,其中 $\gamma$ -ENaC对维持正常的肺泡液清除至关重要<sup>[13-16]</sup>。尽管支持治疗(肺保护性通气和保守的液体治疗)得到改善,但ALI的总体死亡率仍然很高<sup>[17]</sup>,因此对新型治疗策略有很高的需求。近年来,MSCs在许多领域已被证实有很好的治疗效果,已经成为包括ALI在内的多种肺部疾病潜在的治疗方式,有研究已经证明,气管内或静脉内给予MSCs对ALI是有益的<sup>[18]</sup>。本实验应用LPS构建了ALI模型,将BMSCs与H441细胞进行了共培养,通过CCK-8实验证实了BMSCs能够增加H441的生存能力,进一步通过Western blot技术验证了BMSCs能够增强H441细胞中 $\gamma$ -ENaC的蛋白表达水平。

MSCs可通过旁分泌作用释放许多物质,包括多种可溶性因子、外泌体以及miRNA等参与ALI。miRNA是一类由内源基因编码的长度约为20~24个核苷酸的非编码单链RNA分子,它通过与其目标mRNA分子的3'端非编码区域互补匹配导致该

mRNA分子的翻译受到抑制<sup>[19]</sup>,有研究发现,miRNA可以调控ENaC<sup>[9]</sup>。我们推测, MSCs与H441细胞进行共培养, MSCs可能通过分泌某些miRNA对H441细胞中的ENaC产生影响,进而对水肿性ALI起保护作用。

在本实验中,我们首先应用Miranda和TargetScan等多个预测软件对miRNA进行了预测,筛选出可能与ENaC相关的miRNA<sup>[10]</sup>,并且结合有关报道我们选取了一种既存在于MSCs中又可能对ENaC有调节作用的miRNA即miR-130b进行了相关研究<sup>[20]</sup>。首先我们检测了共培养后H441细胞中miR-130b的表达情况,结果表明, BMSCs可增加H441细胞miR-130b的表达,我们推测, BMSCs可能通过miR-130b调节ENaC。接下来我们进行了miR-130b及其抑制剂的转染实验,用Western blot实验证实miR-130b能够上调 $\gamma$ -ENaC的蛋白表达水平。由此我们推测, BMSCs能够增强生理及ALI条件下H441细胞的生存能力并且可增加上述条件下 $\gamma$ -ENaC的蛋白表达水平,其可能通过miR-130b发挥对ENaC的调控作用。研究表明, MSCs可以发挥植入、分化和免疫调节等多种功能<sup>[21]</sup>,在多种肺部疾病的治疗中发挥着很大的潜能。同时miRNA参与生命过程中一系列的重要进程,在体内代谢过程中起到多种调控作用<sup>[8]</sup>。既往研究表明, miR-130b能够靶向作用于十号染色体上缺失的磷酸酶与张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)<sup>[22-23]</sup>,也有文献报道发现, PI3K/Akt通路可以上调ENaC<sup>[24-26]</sup>,而PTEN在PI3K/Akt通路中起着负调节因子的作用,因

此我们推测 miR-130b 可能通过靶向作用于 PTEN 进而间接调节 ENaC, 我们将在未来的实验中对此机制进行证实, 同时我们还将应用相关在体实验进一步验证上述推测。本研究结果对在临床上应用 MSCs 及 miRNA 治疗水肿性 ALI 提供了一定的理论基础及借鉴意义。

### 参考文献 (References)

- [1] ZHAI Y, ZHOU X, DAI Q, et al. Hydrogen-rich saline ameliorates lung injury associated with cecal ligation and puncture-induced sepsis in rats [J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 98(2): 268-76.
- [2] DENG J, WANG D X, LIANG A L, et al. Effects of baicalin on alveolar fluid clearance and  $\alpha$ -ENaC expression in rats with LPS-induced acute lung injury [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2016, 95(2): 122.
- [3] XU T, ZHANG Y, CHANG P, et al. Mesenchymal stem cell-based therapy for radiation-induced lung injury [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 18.
- [4] CHAMBERS D C, ENEVER D, LAWRENCE S, et al. Mesenchymal stromal cell therapy for chronic lung allograft dysfunction: results of a first in man study [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(4): 1152-7.
- [5] DANCHUK S, YLOSTALO J H, HOSSAIN F, et al. Human multipotent stromal cells attenuate lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice via secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced protein 6 [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2011, 2(3): 27.
- [6] ZHOU Y, LI P, GOODWIN A J, et al. Exosomes from endothelial progenitor cells improve outcomes of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury [J]. *Critical Care*, 2019, 23(1): 44.
- [7] ZHU YG, FENG XM, ABBOTT J, et al. Human mesenchymal stem cell microvesicles for treatment of Escherichia coli endotoxin-induced acute lung injury in mice [J]. *Stem Cells*, 2014, 32(1): 116-25.
- [8] MOOK L S, HYUNSOO C, GEUMJIN Y, et al. microRNAs mediate oleic acid-induced acute lung injury in rats using an alternative injury mechanism [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1): 292-300.
- [9] QIN K, ZHONG X, WANG D. MicroRNA-7-5p regulates human alveolar epithelial sodium channels by targeting the mTORC2/SGK-1 signaling pathway [J]. *Exp Lung Res*, 2016, 42(5): 237-44.
- [10] DENG J, WANG D X, DENG W, et al. Regulation of alveolar fluid clearance and ENaC expression in lung by exogenous angiotensin II [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2012, 181(1): 53-61.
- [11] KARDIA E, ZAKARIA N, WIDERA D, et al. The use of mesenchymal stromal cells in treatment of lung disorders [J]. *Regen Med*, 2017, 12(2): 203-16.
- [12] CA D, DQ T, LH K, et al. Correction: Ethanol alters alveolar fluid balance via NADPH oxidase (NOX) signaling to epithelial sodium channels (ENaC) in the lung [J]. *Plos One*, 2013, 8(1): e54750.
- [13] QI W, LI H, CAI X H, et al. Lipoxin A4 activates alveolar epithelial sodium channel gamma via the microRNA-21/PTEN/AKT pathway in lipopolysaccharide-induced inflammatory lung injury [J]. *Lab Invest*, 2015, 95(11): 1258-68.
- [14] ELIAS N, RAFII B M, OTULAKOWSKI G, et al. The role of alpha-, beta-, and gamma-ENaC subunits in distal lung epithelial fluid absorption induced by pulmonary edema fluid [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 293(3): 537-45.
- [15] AMPAWONG S, CHAISRI U, VIRIYAVEJAKUL P, et al. A potential role for interleukin-33 and  $\gamma$ -epithelium sodium channel in the pathogenesis of human malaria associated lung injury [J]. *Malar J*, 2015, 14(1): 389.
- [16] LU K, CHEN X, ZHU W, et al. Terbutaline alleviates the lung injury in the neonatal rats exposed to endotoxin: Potential roles of epithelial sodium channels [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2019, 54(3): 280-88.
- [17] MOKRA D, KOSUTOVA P. Biomarkers in acute lung injury [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2015, 209(4): 52-58.
- [18] YANG C, JIANG J, YANG X, et al. Stem/progenitor cells in endogenous repairing responses: new toolbox for the treatment of acute lung injury [J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1): 47.
- [19] LI W, MA K, ZHANG S, et al. Pulmonary microRNA expression profiling in an immature piglet model of cardiopulmonary bypass-induced acute lung injury [J]. *Artif Organs*, 2015, 39(4): 327-35.
- [20] SHENG C T, RUENN CHAI L, MAY MAY L, et al. Mesenchymal stem cell secretes microparticles enriched in pre-microRNAs [J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 38(1): 215-24.
- [21] JIWEI L, SHA H, YAN W, et al. Paracrine factors from mesenchymal stem cells: a proposed therapeutic tool for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome [J]. *Int Wound J*, 2014, 11(2): 114-21.
- [22] LU Q, LIU T, FENG H, et al. Circular RNA circSLC8A1 acts as a sponge of miR-130b/miR-494 in suppressing bladder cancer progression via regulating PTEN [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 111.
- [23] YE L, WANG Y, NIE L, et al. MiR-130 exerts tumor suppressive function on the tumorigenesis of human non-small cell lung cancer by targeting PTEN [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(4): 1856-65.
- [24] ZHANG J L, ZHUO X J, LIN J, et al. Maresin1 stimulates alveolar fluid clearance through the alveolar epithelial sodium channel Na,K-ATPase via the ALX/PI3K/Nedd4-2 pathway [J]. *Lab Invest*, 2017, 97(5): 543-54.
- [25] QI D, HE J, WANG D, et al. 17 $\beta$ -estradiol suppresses lipopolysaccharide-induced acute lung injury through PI3K/Akt/SGK1 mediated up-regulation of epithelial sodium channel (ENaC) in vivo and in vitro [J]. *Respir Res*, 2014, 15(1): 159.
- [26] SALKER M S, STEEL J H, HOSSEINZADEH Z, et al. Activation of SGK1 in endometrial epithelial cells in response to PI3K/AKT inhibition impairs embryo implantation [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(5): 2077-87.