

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.26.009

文章编号: 1005-8982(2017)26-0045-07

循环型 microRNA-26a 及其靶基因 *PTEN* 与系统性红斑狼疮的相关性研究

崔丹瑜, 朱丁季, 任昊, 林静丽, 赖伟男, 黄琴, 赵进军, 杨敏
(南方医科大学附属南方医院 风湿免疫科, 广东 广州 510515)

摘要:目的 探讨循环型 microRNA-26a(miR-26a)及靶基因 *PTEN* 在系统性红斑狼疮(SLE)的表达,以及在 SLE 发生、发展中可能发挥的作用。**方法** 选取 36 例 SLE 和 10 例健康体检者血液标本,实时荧光定量聚合酶链反应检测血清 miR-26a、外周血单个核细胞(PBMC)中 *PTEN* 的表达,统计分析 miR-26a、*PTEN* 与 SLE 临床资料的相关性,利用双荧光素酶报告系统验证 *PTEN* 是否为 miR-26a 的靶基因。**结果** SLE 患者血清 miR-26a mRNA 的表达高于健康人群 ($P < 0.05$),PBMC 中 *PTEN* mRNA 的表达低于健康人群 ($P < 0.05$)。SLE 患者 miR-26a、*PTEN* 的表达水平与 C3、抗 ds-DNA、红细胞沉降率、狼疮活动指数相关。miR-26a 转染 BaF3 细胞后,*PTEN* 表达下调,PI3K 表达上调,转染组荧光素酶活性下降 ($P < 0.05$)。**结论** SLE 患者血清中过表达的 miR-26a 可能通过下调靶基因 *PTEN*,上调 PI3K/AKT 信号通路,参与 SLE 的发生、发展。

关键词: 系统性红斑狼疮;循环型 microRNA-26a;*PTEN*;PI3K/AKT

中图分类号: R593.2

文献标识码: A

Association of circulating miR-26a and its target gene *PTEN* with systemic lupus erythematosus

Dan-yu Cui, Ding-ji Zhu, Hao Ren, Jing-li Lin, Wei-nan Lai,
Qin Huang, Jin-jun Zhao, Min Yang

(Department of Rheumatology and Immunology, the Affiliated South Hospital of
Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

Abstract: Objective To explore the expressions of circulating miR-26a and its target gene *PTEN* in systemic lupus erythematosus (SLE) and their possible roles in the occurrence and development of SLE. **Methods** The expressions of circulating miR-26a and *PTEN* in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were detected by qRT-PCR after blood samples were collected from 36 cases of SLE and 10 healthy people. The correlations between miR-26a, *PTEN* and clinical data of SLE were statistically analyzed. Dual luciferase reporter system was used to test whether *PTEN* was the target gene of miR-26a. **Results** The expression of miR-26a mRNA in the serum of the SLE patients was higher than that in the healthy people ($P < 0.05$), and the expression of *PTEN* mRNA in the PBMCs of the SLE patients was lower than that in the PBMCs of the healthy people ($P < 0.05$). The expression levels of miR-26a and *PTEN* in the patients with SLE were correlated with C3, anti-dsDNA, ESR and SLEDAI. After miR-26a was transfected to BaF3 cells, the expression of *PTEN* was down-regulated, and the expression of PI3K was up-regulated, and the luciferase activity of the transfected group was decreased ($P < 0.05$). **Conclusions** The over-expression of circulating miR-26a may participate in the occurrence and development of SLE through down-regulation of its target gene *PTEN* and up-regulation of PI3K/AKT signaling pathway.

Keywords: systemic lupus erythematosus; circulating miR-26a; *PTEN*; PI3K/AKT

收稿日期: 2016-06-02

[通信作者] 杨敏. E-mail: minyanggz@yahoo.com; Tel: 13802911770

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种累及多个器官、系统的慢性自身免疫性疾病,目前认为 SLE 与环境、遗传背景、感染、雌激素等触发的自身免疫反应有关^[1-3]。MicroRNAs 是一种由 20~22 个核苷酸组成的单链非编码 RNA,通过与靶基因 mRNA 的 3'-UTR 结合,调控基因的表达。研究发现,microRNA 与 SLE 的发病机制密切相关^[4-5]。研究发现,循环型 microRNA-26a(miR-26a)与多种自身免疫疾病密切相关^[6-8],但对循环型 miR-26a 在 SLE 中的表达及作用机制研究较少。抑癌基因 *PTEN* 是双特异蛋白磷酸酶家族成员,近年来大量研究证实 *PTEN* 的缺失、突变在肿瘤发生、发展过程中起决定性作用^[9]。有研究表明,*PTEN* 的激活或缺失与多种自身免疫疾病的发生有关^[10]。本研究通过实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction,qRT-PCR)检测 SLE 患者血清 miR-26a 和外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell,PBMC)中 *PTEN* 的表达,分析两者与临床资料的相关性,并利用双荧光素酶报告系统验证 *PTEN* 是 miR-26a 的靶基因。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2014 年 6 月-2015 年 6 月南方医科大学附属南方医院收治的 36 例 SLE 患者的血清,所有患者符合 1997 年美国风湿病学会修订的 SLE 分类标准。36 例 SLE 患者平均年龄(35.2±6.47)岁,其中,男性 2 例,女性 34 例。采用狼疮活动指数(systemic lupus erythematosus disease activity Index,SLEDAI)评分标准评估疾病活动度,平均(12±4)分。选取同期 10 例健康体检者作为对照组,其中男性 2 例,女性 8 例;平均年龄(38.4±6.81)岁,两组年龄($t=1.369$, $P=0.1781$)、性别($\chi^2=2.057$, $P=0.1515$)比较差异无统计学意义。

1.2 主要材料、试剂与仪器

细胞小鼠原 B 细胞株 BaF3,购自上海赛百慷生物技术公司。DMEM 高糖培养基、胎牛血清购自美国 HyClone 公司,Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司),逆转录试剂盒、qRT-PCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,Lipofectamine 2000(美国 Invitrogen 公司),双荧光素酶检测试剂盒(美国 GeneCopoeia 公司),RNeasy Micro Kit 微量 RNA 提取试剂盒(德国 QIAGEN 公司),兔抗鼠 *PTEN* 抗体、兔抗鼠 *PI3K* 抗体

购自美国 Santa Cruz 公司,pMD18-T 载体(日本 TaKaRa 公司),miR-26a、*PTEN*、*PI3K*、 β -actin 引物序列由上海吉玛公司合成(见表 1)。

表 1 PCR 引物序列

基因	引物序列	长度 /bp
miR-26a	正向:5'-GGATCCGCAGAACTCCAGAGA-3'	1 958
	反向:5'-TTGGAGGAAAGACGATTTCCGT-3'	
<i>PTEN</i>	正向:5'-TCCACAAACAGAACAAGATG-3'	78
	反向:5'-CTGGTCCTGGTATGAAGAAT-3'	
<i>PI3K</i>	正向:5'-TGCCTCCACGACCATCATCA-3'	380
	反向:5'-TTCACACACTGGCATGCCGA-3'	
β -actin	正向:5'-AGCCTCGCCTTTGCCGA-3'	174
	反向:5'-CTGGTGCCTGGGGCG-3'	

1.3 方法

1.3.1 qRT-PCR 检测血清 miR-26a mRNA 的表达

收集 EDTA 抗凝的外周血 2 ml,4℃、3 000 r/min 离心 20 min,收集上清液,按照 RNeasy Micro Kit 微量 RNA 提取试剂盒说明书提取血清 RNA。取 5 μ l 血清总 RNA,以 miR-26a 引物为模板,应用逆转录试剂盒将其逆转录为 cDNA,反应条件:42℃ 预变性 10 min,95℃ 变性 5 min,以 cDNA 为模板,进行 qRT-PCR;以 cel-miR-39 为内参照进行扩增,反应条件:95℃ 预变性 10 min,95℃ 变性 15 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 继续延伸 30 s,共 40 个循环。通过 qRT-PCR 仪 ABI Step One Plus 检测,实验重复 3 次,根据公式 $Folds=2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算各检测 miR-26a 的相对表达量, $\Delta\Delta Ct=(C_{miR-26a}-C_{cel-miR-39})_{实验组}-(C_{miR-26a}-C_{cel-miR-39})_{对照组}$ 。

1.3.2 qRT-PCR 检测 PBMC 中 *PTEN* mRNA 的表达

取 EDTA 抗凝的外周血 5 ml,室温条件下 1 500 r/min 离心 10 min,弃上清液,加入 2 倍体积的 PBS 缓冲液,将混合液缓慢加入到含 3 ml 淋巴分离液的 EP 管中,室温 2 500 r/min 离心 20 min,弃上清液,3 ml PBS 缓冲液洗涤沉淀,再次室温 2 500 r/min 离心 20 min,弃上清液。使用 RNA fast 2000 总 RNA 极速抽提试剂盒提取 PBMC 总 RNA,取 5 μ l 总 RNA,应用逆转录试剂盒将 *PTEN* mRNA 逆转录为 cDNA,以 cDNA 为模板, β -actin 为内参照进行扩增,通过 qRT-PCR 仪软件程序分析检测数据结果,实验重复 3 次。

1.3.3 miR-26a 转染与双荧光素酶报告系统检测

将 BaF3 细胞置于 DMEM 高糖培养基+10%胎牛血清中,37℃、5%二氧化碳 CO₂ 条件下培养,将细胞分

为转染组 (miR-26a mimics)、阴性对照组 (Mimics control) 和只加转染试剂的空白对照组。将 BaF3 细胞接种于 6 孔板内,待细胞密度约为 50% 时,取 miR-26a mimics 和 Mimics control 各 100 pmol, 分别与 Lipofectamine 5 μ l 充分混匀,室温孵育 30 min,将转染混合物加入 6 孔板中,培养箱中培养 24 h,提取细胞内总 RNA,以 β -actin 为内参照,qRT-PCR 检测细胞内 miR-26a、PTEN 及 PI3K mRNA 的表达。

① Western blot 检测:取转染 48 h 后的 3 组细胞, RIPA 裂解细胞,提取细胞总蛋白, SDS-PAGE 电泳分离、转膜后,加入兔抗鼠 PTEN 抗体 (1 : 300)、兔抗鼠 PI3K 抗体 (1 : 400), 4 $^{\circ}$ C 过夜,加 HRP 标记的羊抗兔 IgG (1 : 4000), 显色剂显色,应用 Gene Tools 软件分析 PTEN、PI3K 蛋白的表达;② 双荧光素酶报告系统检测:设计 PTEN 基因双向引物序列,并在两端加上 Xba I 和 Not I 酶切位点,正向引物:5'-TCTA GACAGTGCTAAAATTC-3',反向引物:5'-GCGGCCG CTATATATCAATG-3';扩增 PTEN 基因的 3'-UTR,对 pMD18-T 载体和扩增序列进行 Xba I 和 Not I 双酶切,T4 DNA 连接酶切后的 pMD18-T 和 PTEN DNA 片段,转化并提取质粒,取质粒 150 ng 与 miR-26a mimics、Mimics control 各 3 pmol 混合后加入 25 μ l opti-MEM 培养基中,将混合物与含 1 μ l Lipofectamine 的 25 μ l opti-MEM 充分混匀,室温孵育 30 min,加入含 BaF3 细胞的 6 孔板内,培养箱中孵育 24 h,按照美国 Gene Copoeia 公司双荧光素酶检测方法进行检测。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较用两独立样本 t 检验,3 组间比较用单因素方差分析,在方差分

析有意义的基础上,两两比较用 SNK- q 检验,相关分析用 Spearman 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

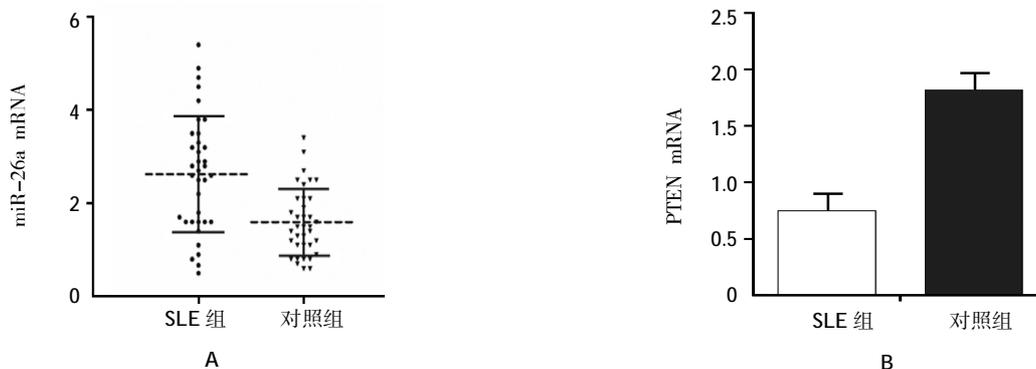
2 结果

2.1 SLE 患者血清 miR-26a、PBMC 中 PTEN mRNA 的表达

36 例 SLE 患者血清 miR-26a mRNA 的相对表达量为 (2.69 ± 0.47),对照组为 (1.34 ± 0.29),经 t 检验,差异有统计学意义 ($t = 8.598, P = 0.000$),SLE 患者血清 miR-26a mRNA 的相对表达量高于对照组。SLE 患者 PBMC 中 PTEN mRNA 的相对表达量为 (0.75 ± 0.14),对照组为 (1.82 ± 0.39),经 t 检验,差异有统计学意义 ($t = 13.85, P = 0.000$),SLE 患者 PBMC 中 PTEN mRNA 的相对表达量低于对照组。见图 1。

2.2 SLE 患者 miR-26a、PTEN 表达与临床资料的关系

分析 SLE 患者 miR-26a、PTEN 的表达与年龄、性别、病情进展、脏器受累等指标的关系。结果显示,女性、SLEDAI 评分高、脏器受累 SLE 患者的血清 miR-26a 的表达水平高于男性、SLEDAI 评分低、无脏器受累患者。SLEDAI 评分高、脏器受累 SLE 患者 PBMC 中 PTEN 的表达水平低于 SLEDAI 评分低、无脏器受累 SLE 患者 (见表 2)。Spearman 法分析 miR-26a、PTEN 与 SLE 临床检测指标 C3、抗 ds-DNA、红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR)、SLEDAI 的相关性,结果显示,miR-26a 与 C3、抗 ds-DNA、ESR、SLEDAI 呈正相关 ($r = 0.735, 0.504, 0.562$ 和 $0.662, P = 0.000, 0.002, 0.000$ 和 0.000) (见图 2)。PTEN 与 C3、抗 ds-DNA、ESR、SLEDAI 呈负相关 ($r = -0.585, -0.469, -0.588$ 和 $-0.521, P = 0.000, 0.004, 0.000$ 和 0.001) (见图 3)。线性回归分析结果显示,



A: 血清 miR-26a mRNA; B: PBMC 中 PTEN mRNA

图 1 SLE 患者和健康人群血清 miR-26a、PBMC 中 PTEN mRNA 的表达 ($\bar{x} \pm s$)

表 2 SLE 患者临床资料与 miR-26a、PTEN 表达的关系

临床资料	例数	miR-26a	t/F 值	P 值	PTEN	t/F 值	P 值
性别							
男	2	1.63 ± 0.88	15.936	0.0032	0.78 ± 0.29	1.052	0.6965
女	34	2.71 ± 0.45			0.73 ± 0.17		
年龄							
<40 岁	26	2.72 ± 0.39	0.953	0.6609	0.74 ± 0.22	0.824	0.8696
≥40 岁	10	2.65 ± 0.51			0.77 ± 0.25		
SLEDAI 评分							
0-4 分	7	1.67 ± 0.26	25.589	0.000	1.43 ± 0.37	33.297	0.000
5-9 分	11	2.34 ± 0.39			1.04 ± 0.35		
10-14 分	13	3.05 ± 0.44			0.55 ± 0.14		
≥15 分	5	3.62 ± 0.61			0.32 ± 0.08		
脏器受累							
无	10	1.38 ± 0.35	29.601	0.000	1.66 ± 0.34	24.720	0.000
肾脏	17	2.73 ± 0.44			0.35 ± 0.09		
神经系统	3	3.14 ± 0.47			0.64 ± 0.15		
心脏	6	2.93 ± 0.55			0.56 ± 0.11		

PTEN 与 miR-26a 呈负相关 ($b=42.271, P=0.001$), 以 PTEN 为因变量, miR-26a 为自变量, 两者符合 $Y(PTEN)=-0.448 \times X(miR-26a)+2.093(t=-6.502, P=0.000)$ (见图 4)。

2.3 miR-26a 转染后 PTEN、PI3K 的表达

miR-26a mimics 转染 BaF3 后, 细胞中 miR-26a mRNA 表达增加, 与阴性对照组和空白对照组比较, 差异有统计学意义 ($F=159.308, P=0.000$); 两两比

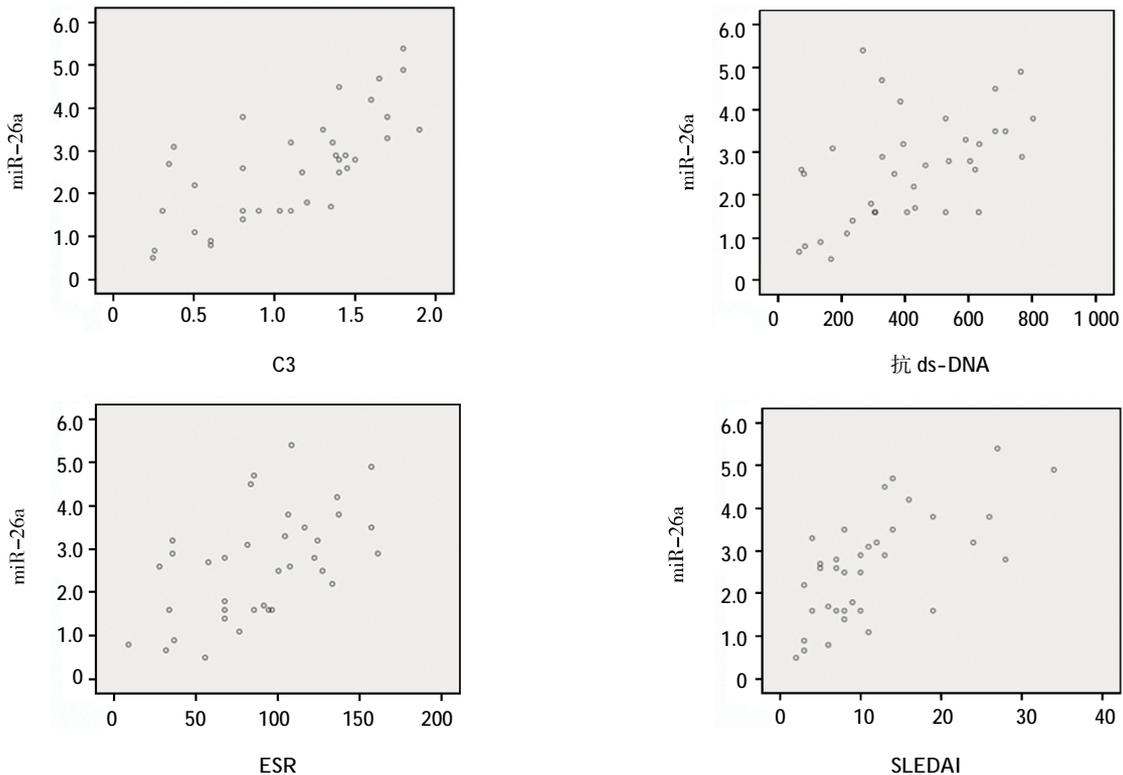


图 2 miR-26a 与 C3、抗 ds-DNA、ESR、SLEDAI 的相关性分析

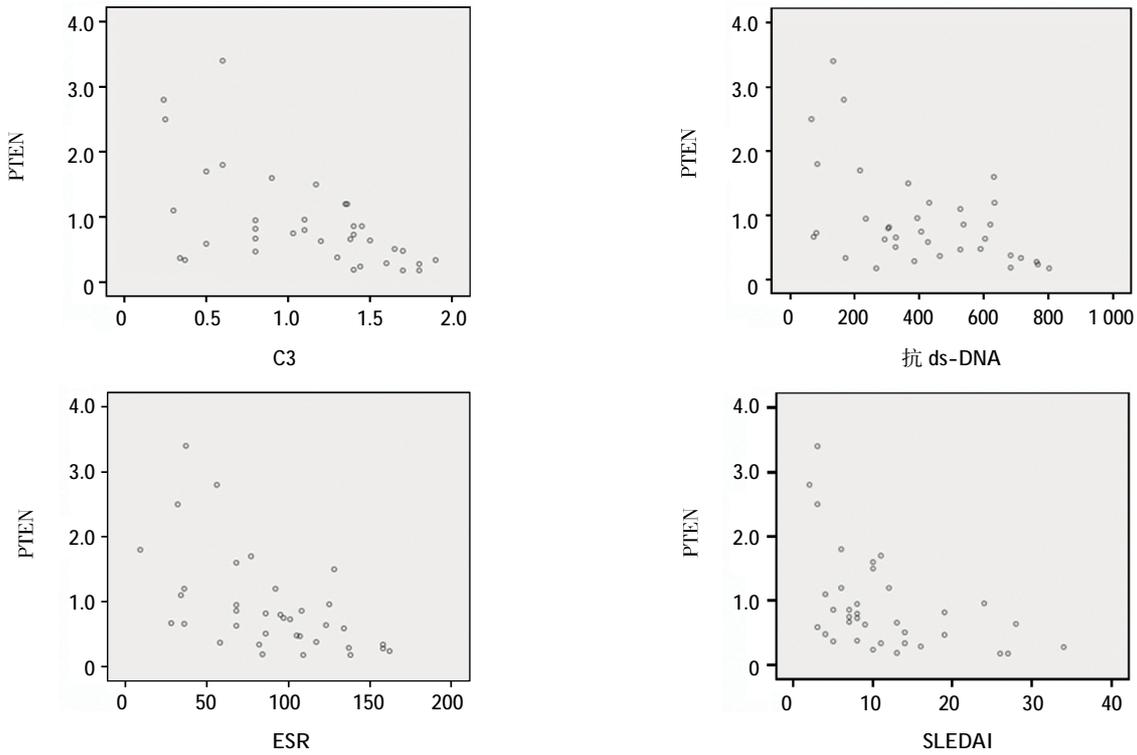


图 3 PTEN 与 C3、抗 ds-DNA、ESR、SLEDAI 的相关性分析

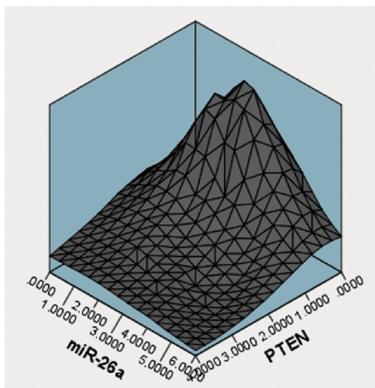
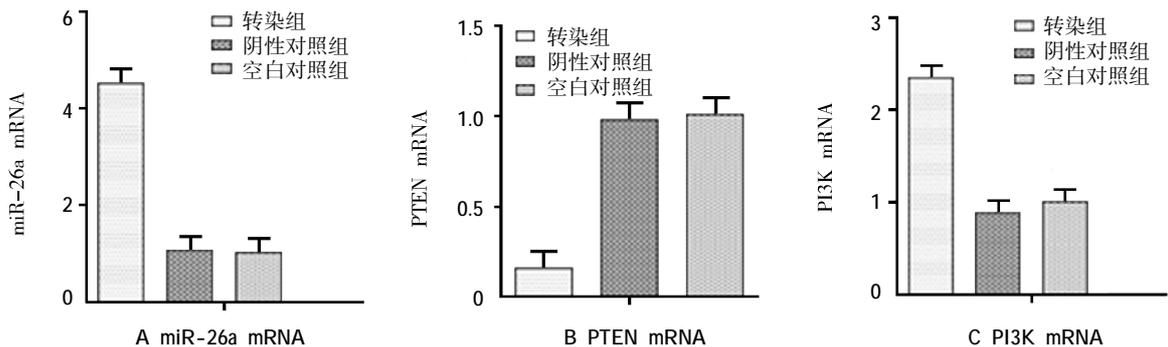


图 4 miR-26a 与 PTEN 的相关性分析

较经 SNK-q 检验,转染组 miR-26a mRNA 高于阴性对照组和空白对照组 ($q=19.337$ 和 22.076 , 均 $P=0.000$),表明 miR-26a 已成功转染至细胞内。转染后,

PTEN mRNA 表达减少,与阴性对照组和空白对照组比较,差异有统计学意义 ($F=162.311, P=0.000$);两两比较经 SNK-q 检验,转染组 PTEN mRNA 表达少于阴性对照组和空白对照组 ($q=36.251$ 和 23.753 , 均 $P=0.000$)。转染后 PI3K mRNA 表达增加,与阴性对照组和空白对照组比较,差异有统计学意义 ($F=28.120, P=0.000$);两两比较经 SNK-q 检验,转染组 PI3K mRNA 表达高于阴性对照组和空白对照组 ($q=26.854$ 和 53.900 , 均 $P=0.000$)。Western blot 检测转染后 PTEN 蛋白表达减少 ($F=8.354, P=0.0036$);两两比较经 SNK-q 检验,转染组 PTEN 蛋白表达少于阴性对照组和空白对照组 ($q=31.769$ 和 87.954 , 均 $P=0.000$)。而 Western blot 检测转染后 PI3K 蛋白表达增加 ($F=27.904, P=0.000$);两两比较经 SNK-q 检



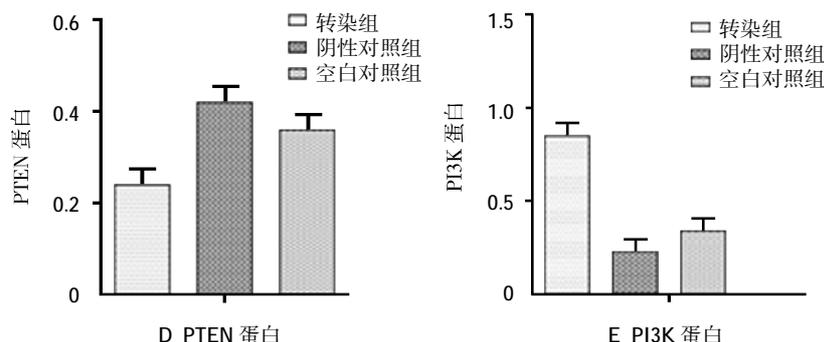


图 5 miR-26a mimics 转染后 3 组 PTEN、PI3K 的表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

验,转染组 PI3K 蛋白表达高于阴性对照组和空白对照组($q=45.856$ 和 39.251 ,均 $P=0.000$)。见图 5、6。

2.4 双荧光素酶报告系统检测结果

miR-26a mimics 转染 BaF3 后,荧光素酶活性下降(0.36 ± 0.08),与阴性对照组、空白对照组比较,差

异有统计学意义($F=59.630$, $P=0.000$);两两比较经 SNK- q 检验,转染组荧光素酶活性低于阴性对照组和空白对照组($q=45.159$ 和 61.132 ,均 $P=0.000$)。表明 miR-26a 通过靶向 PTEN 的 3'-UTR,负向调控 PTEN 的表达。见图 7。

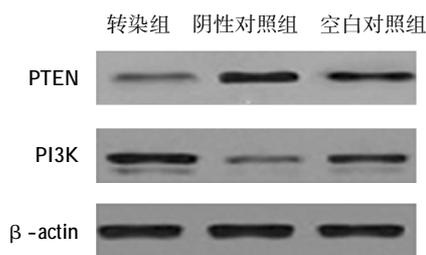


图 6 miR-26a mimics 转染后 PTEN、PI3K 蛋白的变化

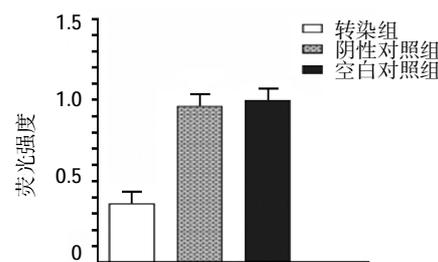


图 7 miR-26a mimics 转染后荧光强度的变化 ($\bar{x} \pm s$)

3 讨论

文献报道我国 SLE 患病率约为 70~100/10 万人,男、女比例为 1:10^[11]。SLE 患者体内存在抗 ds-DNA 等多种自身抗体,导致细胞和体液免疫功能紊乱,同时累及肾脏、皮肤、关节等多个器官和组织损伤。目前尚不清楚 SLE 具体的发病机制,免疫细胞、DNA 甲基化、组蛋白修饰、环境等因素被认为是 SLE 主要病因。近年来,microRNA 的生物学功能研究引起广泛关注。研究发现,microRNA 参与肿瘤、自身免疫疾病等多种疾病的发生、发展^[12-14]。国内学者发现 miR-155、miR-125a、miR-146a,以及循环型 miR-189、miR-31 等参与 SLE 发生、发展^[15]。血清、血浆、尿液等体液中存在一类耐 RNA 酶的细胞外游离型 microRNA,称循环型 microRNA,疾病特异性的循环型 miRNA 表达谱对疾病的诊断、预后评估有着非常重要的价值^[16]。

miR-26a(NC_005107.4)是 miR-26 家族成员之一,女性表达量高于男性^[17]。本研究发现,SLE 患者

血清 miR-26a 表达水平高于健康人群,而且女性 SLE 患者血清 miR-26a 表达水平高于男性,活动期和病变累及脏器的 SLE 患者的 miR-26a 表达水平高于稳定期、无脏器受累的 SLE 患者,表明血清 miR-26a 上调可能与 SLE 的发生、发展有关。为进一步明确血清 miR-26a 与 SLE 疾病活动度的关系,本研究对 miR-26a 与 C3、抗 ds-DNA、ESR、SLEDAI 进行相关性分析,结果显示 miR-26a 与 C3、抗 ds-DNA、ESR、SLEDAI 存在相关性,进一步说明血清 miR-26a 的过表达与 SLE 的发展相关。既往研究发现,miR-26a 在不同疾病的发病过程中扮演迥异的双重角色,在“抑制疾病”、“促进疾病”2 种角色间的转换,表明 miR-26a 可能通过靶向不同的基因从而参与疾病的发生或转归。miR-26a 通过靶向 EZH2、CDK6、PLAP-1 等基因参与肝癌、NK/T 细胞淋巴瘤的发病过程,然而,对 miR-26a 通过何种靶基因参与 SLE 发病过程的研究却鲜有报道。

PTEN 基因定位于 10q23.3,是双特异蛋白磷酸酶家族成员之一,PTEN 磷酸酶区域的突变导致多

种疾病的发生。microRNA、乙酰化、泛素化等调控 PTEN 的表达。通过 TARGETSCAN、MIRANDA 等 microRNA 数据库预测 PTEN 可能是 miR-26a 的靶基因,本研究通过 miR-26a mimics、双荧光素酶报告系统加以验证,结果显示,miR-26a mimics 转染 BaF3 后,PTEN mRNA 和蛋白表达降低,荧光素酶活性下降,表明 miR-26a 通过与 PTEN 的 3'-UTR 序列结合,在转录后水平负向调控 PTEN 的表达。通过线性回归分析 PTEN、miR-26a 的相关性,结果显示,PTEN 与 miR-26a 呈负相关,进一步证实 PTEN 是 miR-26a 的靶基因,而 SLE 患者 PBMC 中 PTEN 的表达水平低于健康人群的原因,可能与血清 miR-26a 在两组人群的表达差异有关。PTEN 是天然的 PI3K/Akt 信号通路负向调控因子,PTEN 通过磷酸化 PIP3,下调 PI3K/Akt 参与免疫功能的调节。吴湘妮等^[4]研究发现,miR-7、miR-21、miR-22 表达增加,导致 PTEN 表达降低,通过上调 PI3K/Akt 信号通路导致 SLE 患者 B 细胞的高反应性,而且 PTEN 的下降程度与 SLE 的活动度、严重程度相关。本研究结果也证实该点,SLE 患者 PBMC 中 PTEN 的表达水平与 C3、抗 ds-DNA、ESR、SLEDAI 有关,病变累及脏器的 SLE 患者 PTEN 的表达水平低于未累及脏器患者。miR-26a mimics 转染 BaF3 后,通过与 PTEN 的 3'-UTR 序列结合,抑制 PTEN 的表达,导致 PI3K/Akt 信号通路失去 PTEN 这个关键的负向调控因子,因此 PI3K 表达上调,而上调的 PI3K 通过何种途径对免疫细胞产生影响,仍有待进一步的研究。

本研究结果显示,SLE 患者血清 miR-26a 呈高表达状态,miR-26a 表达水平与 SLE 的活动度、严重程度存有相关性,双荧光素酶报告系统结果表明,PTEN 是 miR-26a 的靶基因,miR-26a 可能通过与 PTEN 的 3'-UTR 序列结合,抑制 PTEN 的表达,从而上调 PI3K/AKT 信号通路参与 SLE 的发生、发展。

参 考 文 献:

- [1] RAHMAN A, ISENBERG D A. Systemic lupus erythematosus[J]. *New England Journal of Medicine*, 2008, 358(9): 929-939.
- [2] MURPHY G, LISNEVSKAIA L, ISENBERG D. Systemic lupus erythematosus and other autoimmune rheumatic diseases: challenges to treatment[J]. *Lancet*, 2013, 382(9894): 809-818.
- [3] LIU A, LA C A. Epigenetic dysregulation in systemic lupus erythematosus[J]. *Autoimmunity*, 2014, 47(4): 215-219.
- [4] CERIBELLI A, YAO B, DOMINGUEZ-GUTIERREZ P R, et al. MicroRNAs in systemic rheumatic diseases[J]. *Arthritis Research Therapy*, 2011, 13(4): 1-10.
- [5] QU B, SHEN N. miRNAs in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus[J]. *Netherlands Journal of Medicine*, 2015, 16(5): 9557-9572.
- [6] ICHII O, OTSUKA-KANAZAWA S, HORINO T, et al. Decreased miR-26a expression correlates with the progression of podocyte injury in autoimmune glomerulonephritis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): DOI: 10.1371/journal.pone.0110383.
- [7] MURATA K, FURU M, YOSHITOMI H, et al. Comprehensive microRNA analysis identifies miR-24 and miR-125a-5p as plasma biomarkers for rheumatoid arthritis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): 295-298.
- [8] HONARDOOST M A, KIANI-ESFAHANI A, GHAEDI K, et al. miR-326 and miR-26a, two potential markers for diagnosis of relapse and remission phases in patient with relapsing-remitting multiple sclerosis[J]. *Gene*, 2014, 544(544): 128-133.
- [9] LONGACRE M, SNYDER N A, HOUSMAN G, et al. A Comparative analysis of genetic and epigenetic events of breast and ovarian cancer related to tumorigenesis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(5): 759.
- [10] BLÜML S, SAHIN E, SAFERDING V, et al. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) in antigen-presenting cells controls Th17-mediated autoimmune arthritis[J]. *Arthritis Research Therapy*, 2015, 17(1): 1-11.
- [11] ZHANG S, SU J, LI X, et al. Chinese SLE treatment and research group (CSTAR) registry: V gender impact on Chinese patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2015, 24(12): 1267.
- [12] 辛倩. miR-155 通过调控 S1pr1 参与系统性红斑狼疮发生、发展的作用机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [13] 刘佳婧, 江峰, 付朝伟, 等. miRNA-146a 基因多态性与长江以南女性汉族人群系统性红斑狼疮(SLE)的病例对照研究[J]. *复旦学报: 医学版*, 2014, 41(6): 747-754.
- [14] 范薇, 唐元家, 曲波, 等. 系统性红斑狼疮患者外周血细胞 miR-31 的表达[J]. *上海交通大学学报: 医学版*, 2011, 31(1): 39-42.
- [15] 陈士伟. 循环 miR-189 对系统性红斑狼疮的临床诊断价值和意义[D]. 上海: 第二军医大学, 2011.
- [16] GRIFFITHS-JONES S, SAINI H K, VAN D S, et al. miRBase: tools for microRNA genomics[J]. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36(1): 154-158.
- [17] JI J, SHI J, BUDHU A, et al. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer[J]. *New England Journal of Medicine*, 2009, 361(15): 1437-1447.

(童颖丹 编辑)