

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2025.04.005
文章编号: 1005-8982 (2025) 04-0022-08

实验研究·论著

马钱子苷通过LncRNA MALAT1靶向microRNA-155-5p促进雪旺细胞增殖和迁移的机制研究*

赵飞¹, 姚忠军¹, 方兴刚², 张弥³

[十堰市太和医院(湖北医药学院附属医院) 1. 骨Ⅱ科, 2. 中西医结合科, 湖北 十堰 442000; 3. 湖北医药学院附属人民医院 皮肤科, 湖北 十堰 442000]

摘要: **目的** 探究马钱子苷(Loganin)通过LncRNA MALAT1靶向microRNA-155-5p(miR-155-5p)促进雪旺细胞增殖和迁移的机制研究。**方法** 以小鼠雪旺细胞为研究对象,实验设置对照组(oe-NC组、si-NC组、Control组)、LncRNA MALAT1过表达组(oe-MALAT1组)、LncRNA MALAT1干扰组(si-MALAT1组)、共转染oe-MALAT1+mimic NC组或oe-MALAT1+miR mimic(miR-155-5p过表达)组;用50、100和200 μmol/L浓度的Loganin处理细胞,分为Loganin(50 μmol/L)组、Loganin(100 μmol/L)组、Loganin(200 μmol/L)组;细胞转染si-NC或si-MALAT1后用100 μmol/L Loganin处理,分为Loganin(100 μmol/L)+si-NC组和Loganin(100 μmol/L)+si-MALAT1组。通过实时荧光聚合酶链反应(qRT-PCR)检测雪旺细胞中LncRNA MALAT1和miR-155-5p的表达;利用CCK-8实验和Transwell实验检测oe-NC组、oe-MALAT1组、oe-MALAT1+mimic NC组及oe-MALAT1+miR mimic组雪旺细胞增殖和迁移能力。通过荧光素酶报告实验验证LncRNA MALAT1与miR-155-5p的靶向关系。qRT-PCR检测不同浓度的Loganin(50、100和200 μmol/L)对雪旺细胞中LncRNA MALAT1表达的影响。通过CCK-8实验和Transwell实验检测不同浓度的Loganin组、Loganin(100 μmol/L)+si-NC组和Loganin(100 μmol/L)+si-MALAT1组中雪旺细胞增殖和迁移的能力。**结果** 与oe-NC组比较,oe-MALAT1组中LncRNA MALAT1水平升高($P<0.05$);且oe-MALAT1组雪旺细胞的增殖和迁移能力增强($P<0.05$)。荧光素酶报告实验证实LncRNA MALAT1靶向负调节miR-155-5p,抑制MALAT1的水平可促进miR-155-5p的表达($P<0.05$)。与oe-MALAT1+mimic NC组比较,oe-MALAT1+miR mimic组雪旺细胞增殖和迁移能力减弱($P<0.05$)。与Control组比较,不同浓度的Loganin促进雪旺细胞增殖和迁移($P<0.05$),且具有浓度效应。此外,Loganin显著促进LncRNA MALAT1的表达($P<0.05$)。相对于Loganin(100 μmol/L)+si-NC组,Loganin(100 μmol/L)+si-MALAT1组雪旺细胞的增殖和迁移能力被抑制($P<0.05$)。**结论** Loganin通过上调LncRNA MALAT1而抑制miR-155-5p的表达,促进雪旺细胞的增殖和迁移,为坐骨神经损伤的治疗提供了新的方向。

关键词: 马钱子苷;雪旺细胞;LncRNA MALAT1;microRNA-155-5p;增殖;迁移

中图分类号: R446.6

文献标识码: A

Loganin promotes Schwann cell proliferation and migration by targeting microRNA-155-5p through lncRNA MALAT1*

Zhao Fei¹, Yao Zhong-jun¹, Fang Xing-gang², Zhang Mi³

(1. Department of Orthopaedics II, Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China; 2. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China; 3. Department of Dermatology, People's Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China)

收稿日期: 2024-08-15

* 基金项目: 湖北省卫健委青年人才项目(No: WJ2021F032)

Abstract: Objective To explore the whether loganin promotes Schwann cell proliferation and migration by targeting microRNA-155-5p through lncRNA MALAT1. **Methods** Using mouse Schwann cells as the research model, the experiment was designed with the following groups: control groups (oe-NC and si-NC groups), lncRNA MALAT1 overexpression group (oe-MALAT1 group), lncRNA MALAT1 interference group (si-MALAT1 group), oe-MALAT1 + mimic NC co-transfection group (oe-MALAT1 + mimic NC group) and oe-MALAT1 + miR mimic co-transfection group (miR-155-5p overexpression group). Cells were treated with different concentrations of loganin (50, 100, and 200 $\mu\text{mol/L}$) and divided into loganin (50 $\mu\text{mol/L}$), loganin (100 $\mu\text{mol/L}$), and loganin (200 $\mu\text{mol/L}$) groups, and cells transfected with si-NC or si-MALAT1 were treated with 100 $\mu\text{mol/L}$ loganin and divided into loganin (100 $\mu\text{mol/L}$) + si-NC group and loganin (100 $\mu\text{mol/L}$) + si-MALAT1 group. The expression levels of lncRNA MALAT1 and miR-155-5p in Schwann cells were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR), and the proliferation and migration abilities of Schwann cells in the oe-NC group, the oe-MALAT1 group, the oe-MALAT1 + mimic NC group, and the oe-MALAT1 + miR mimic group were determined using the CCK-8 assay and the Transwell assay. The targeting relationship between lncRNA MALAT1 and miR-155-5p was verified by luciferase reporter assay. The qRT-PCR was performed to detect the effects of different concentrations of loganin (50, 100, and 200 $\mu\text{mol/L}$) on the expression of lncRNA MALAT1 in Schwann cells. The ability of Schwann cells to proliferate and migrate in different concentrations of loganin, and that in the loganin (100 $\mu\text{mol/L}$) + si-NC group and the loganin (100 $\mu\text{mol/L}$) + si-MALAT1 group, were detected using the CCK-8 assay and the Transwell assay. **Results** Compared with the oe-NC group, the level of lncRNA MALAT1 in the oe-MALAT1 group increased significantly ($P < 0.05$). Moreover, the proliferation and migration abilities of Schwann cells in the oe-MALAT1 group were significantly enhanced ($P < 0.05$). The luciferase reporter assay confirmed that lncRNA MALAT1 targeted and negatively regulated miR-155-5p, and inhibiting the level of MALAT1 significantly promoted the expression of miR-155-5p ($P < 0.05$). Compared with the oe-MALAT1 + mimic NC group, the proliferation and migration abilities of Schwann cells in the oe-MALAT1 + miR mimic group were weakened ($P < 0.05$). Compared with the control group, different concentrations of loganin significantly promoted the proliferation and migration of Schwann cells ($P < 0.05$), exhibiting a dose-dependent effect. In addition, loganin significantly promoted the expression of lncRNA MALAT1 ($P < 0.05$). Compared with the loganin (100 $\mu\text{mol/L}$) + si-NC group, the proliferation and migration of Schwann cells in the loganin (100 $\mu\text{mol/L}$) + si-MALAT1 group were significantly inhibited ($P < 0.05$). **Conclusions** By up-regulating lncRNA MALAT1, loganin inhibits the expression of miR-155-5p and promotes the proliferation and migration of Schwann cells, providing a novel insight for the treatment of sciatic nerve injury.

Keywords: loganin; Schwann cells; lncRNA MALAT1; miR-155-5p; proliferation; migration

神经性疼痛是由周围神经系统或中枢神经系统损伤引起的一种不愉快的躯体感觉^[1]。来自不同神经性疼痛动物模型的证据表明,中枢神经系统中的小胶质细胞、周围神经系统中的雪旺细胞对神经损伤引起的疼痛反应很重要,可能是未来治疗的目标^[2]。雪旺细胞是周围神经系统中特有的胶质细胞,激活的雪旺氏细胞对坐骨神经损伤做出反应,发生显著变化,包括增殖、迁移、表型调节和神经营养因子的分泌,最终触发神经再生^[3]。了解雪旺细胞对神经性疼痛的调节机制,对于开发修复周围神经病所致神经损伤和改善慢性疼痛的新型药物具有重要意义。

长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)作为长度> 200 nt的非编码RNA的特定亚群,在各

种中枢神经系统疾病的神经炎症中起着不可忽视的中介作用^[4],其参与神经性疼痛调控过程,通过调控疼痛通路中关键lncRNA的表达,可有效预防和/或治疗神经性疼痛^[5]。lncRNA MALAT1在周围神经损伤小鼠中表达增加,过表达MALAT1促进雪旺细胞的增殖和迁移,是周围神经再生的重要调节因子^[6]。lncRNA通过调控microRNA(miRNA)参与神经炎症反应^[7]。笔者前期研究发现,microRNA-155-5p(miR-155-5p)可通过调控Nrf2通路活化,抑制雪旺细胞的增殖和迁移,从而调控大鼠坐骨神经损伤引起的病理性疼痛和炎症反应^[8]。lncRNA MALAT1是否可作为miR-155-5p的海绵RNA介导Nrf2的表达,进而调控雪旺细胞增殖和迁移能力,目前尚未见研究报道。

从山茱萸中提取的马钱子苷(Loganin)被认为可以降低血糖、氧化应激、细胞凋亡和高血糖引起的炎症^[9]。有研究报道,在神经损伤大鼠中,Loganin通过NLRP3炎症小体防止CXCL12/CXCR4介导的神经性疼痛^[10]。其可通过降低肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)/白细胞介素- 1β 介导的NF- κ B活化和雪旺细胞脱髓鞘来预防慢性压迫性神经损伤引起的神经性疼痛^[11]。然而,Loganin调节雪旺细胞增殖和迁移能力的机制尚无文献报道。因此,本研究旨在探讨Loganin是否通过介导LncRNA MALAT1/miR-155-5p轴对雪旺细胞生物学活性产生影响,为坐骨神经损伤的治疗提供新的治疗靶点及科学依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株

小鼠雪旺细胞(批号:SNP-M031)购自武汉尚恩生物技术有限公司,人胚肾细胞HEK-293T(货号:CL-0005)购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.2 主要试剂

Loganin(货号:ab143653)购自美国Abcam公司,小鼠雪旺细胞完全培养基(批号:SNPM-M031)购自武汉尚恩生物技术有限公司,MEM培养基(货号:PM150411B)购自武汉普诺赛生命科技有限公司,oe-MALAT1、si-MALAT1、miR-155-5p mimic及其相应对照试剂(oe-NC、si-NC等)均购自上海GenePharma公司,Lipofectamine™ 2000转染试剂盒(货号:11668030)、TRIzol™试剂(货号:15596026)、逆转录试剂盒(货号:18091050)和SYBR Green PCR Master Mix试剂盒(批号:AK1301)均购自美国Thermo Fisher Scientific公司,CCK-8试剂盒(批号:C0037)、4%多聚甲醛(批号:P0099)、结晶紫染色液(批号:C0121)均购自上海碧云天生物技术有限公司,Transwell小室(货号:CLS3407-24EA)购自美国默克公司,双荧光素酶报告基因检测试剂盒(货号:ab287865)购自美国Abcam公司。

1.3 主要仪器

PCR仪(CFX96™型)购自美国Bio-Rad公司,酶标仪(ELx808型)购自美国Biotek公司,显微镜购自日本奥林巴斯株式会社,高速冷冻型微量台式离心机(D1524R型)购自大龙兴创实验仪器(北京)股

份公司,二氧化碳培养箱(HF90型)购自力新仪器(上海)有限公司。

1.4 细胞培养与药物处理

小鼠雪旺细胞使用小鼠雪旺细胞完全培养基,在37℃、5%二氧化碳恒温培养箱中培养,1周更换2~3次培养基。选用传代第3代的细胞用不同浓度(50、100、200 μmol/L)的Loganin处理2 h后,将细胞命名为Control组、Loganin(50 μmol/L)组、Loganin(100 μmol/L)组、Loganin(200 μmol/L)组。Loganin溶剂为无菌的生理盐水。收集细胞进行后续实验。

1.5 细胞转染与分组

取第3代小鼠雪旺细胞进行培养,待细胞达到80%融合时,使用Lipofectamine™ 2000试剂盒,按照厂商说明书进行转染。转染后,细胞继续在培养基中培养48 h并收集。此外,笔者使用100 μmol/L的Loganin处理si-NC和si-MALAT1细胞,以评估Loganin在不同基因沉默背景下的作用。根据细胞实验需求分为oe-NC组、oe-MALAT1组、si-NC组、si-MALAT1组、oe-MALAT1 + mimic NC组、oe-MALAT1 + miR mimic组、Loganin(100 μmol/L) + si-NC组和Loganin(100 μmol/L) + si-MALAT1组。oe-NC组:转染了对照质粒(oe-NC)的细胞,用于控制实验中LncRNA MALAT1的过表达影响。oe-MALAT1组:转染LncRNA MALAT1过表达质粒(oe-MALAT1)的细胞,用于评估其对雪旺细胞的影响。si-NC组:转染对照siRNA(si-NC)的细胞,用于控制实验中LncRNA MALAT1的沉默效果。si-MALAT1组:转染LncRNA MALAT1沉默siRNA(si-MALAT1)的细胞,用于评估其对雪旺细胞的影响。oe-MALAT1+mimic NC组:共转染oe-MALAT1和miR-155-5p对照mimic(mimic NC)的细胞,用于评估LncRNA MALAT1与miR-155-5p联合作用。oe-MALAT1 + miR mimic组:共转染oe-MALAT1和miR-155-5p mimic的细胞,用于探讨两者相互作用对雪旺细胞的影响。Loganin(100 μmol/L) + si-NC组:转染了si-NC的细胞同时使用100 μmol/L的Loganin处理2 h,用于评估Loganin与LncRNA MALAT1联合作用。Loganin(100 μmol/L) + si-MALAT1组:转染si-MALAT1的细胞同时使用100 μmol/L的Loganin处理2 h,用于探究Loganin介导LncRNA MALAT1对雪旺细胞的影响。

1.6 实时荧光定量聚合酶链反应检测 LncRNA MALAT1、miR-155-5p mRNA 相对表达量

使用 TRIzol™ 试剂从 oe-NC 组、oe-MALAT1 组、si-NC 组、si-MALAT1 组、oe-MALAT1 + mimic NC 组、oe-MALAT1 + miR mimic 组、Control 组、Loganin (50 μmol/L) 组、Loganin (100 μmol/L) 组和 Loganin (200 μmol/L) 组的雪旺细胞中提取总 RNA。随后使用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为互补 DNA。采用 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒进行实时荧光定量聚合酶链反应,反应条件:95 °C 预变性 10 s,60 °C 退火 30 s,共 40 个循环。所有反应引物由北京金唯智生物科技有限公司合成。LncRNA MALAT1 以 GAPDH 为内参,miR-155-5p 以 U6 为内参。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 LncRNA MALAT1、miR-155-5p mRNA 相对表达量。

表 1 引物序列

基因	引物序列	长度/ bp
LncRNA MALAT1	正向: 5'-GGCCAGCTGCAAACATTCAA-3' 反向: 5'-TGCAGTGTGCCAATGTTTCG-3'	211
miR-155-5p	正向: 5'-AATGCTAATTGTGATAGGGG-3' 反向: 5'-GAACATGTCTGCGTATCTC-3'	185
U6	正向: 5'-CTCAACTGGTCTCCTGGAGTCGGCA-3' 反向: 5'-ACACTCCAGCTGGGCGCTGCTGGGTG-3'	103
GAPDH	正向: 5'-TGAAATGTGCACGCACCAAG-3' 反向: 5'-GGGAAGCAGCATTCAGGTCT-3'	197

1.7 CCK-8 法检测细胞增殖能力

将 oe-NC 组、oe-MALAT1 组、oe-MALAT1 + mimic NC 组和 oe-MALAT1 + miR mimic 组细胞以 2×10^3 个/孔的细胞密度接种到含雪旺细胞完全培养基的孔中。同时,笔者将不同浓度 Loganin (50、100 和 200 μmol/L) 试验组和 si-NC 组、si-MALAT1 组细胞在含 100 μmol/L Loganin 培养基中进行培养。在 37 °C、5% 二氧化碳环境下,分别于 0、24、48 和 72 h 使用 CCK-8 试剂盒检测细胞增殖活性。向每个孔中添加 10 μL CCK-8 溶液,继续孵育 2 h,随后使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度值,以评估细胞的增殖能力。

1.8 Transwell 实验检测细胞迁移能力

选取 oe-NC 组、oe-MALAT1 组、oe-MALAT1 +

mimic NC 组和 oe-MALAT1 + miR mimic 组细胞,每组取 1×10^4 个细胞悬浮于 200 μL 无血清培养基中,加入上室。将选取不同浓度 Loganin (50、100 和 200 μmol/L) 试验组和 si-NC 组、si-MALAT1 组,每组取 1×10^4 个细胞悬浮于含有 100 μmol/L Loganin 的 200 μL 无血清培养基中,同样加入上室。下室则添加 500 μL 完全培养基以诱导细胞迁移。在 37 °C、5% 二氧化碳条件下培养 24 h,移除未迁移的细胞,使用 4% 多聚甲醛固定残留在膜上的细胞 30 min。随后,细胞以 0.1% 结晶紫染色 10 min,室温下处理。使用光学显微镜随机选择 3 个视野,统计迁移过滤膜的细胞数。

1.9 荧光素酶活性检测

通过 Starbase 软件确定 LncRNA MALAT1 和 miR-155-5p 结合的靶位点,根据预测结果,设计 MALAT1 和 miR-155-5p 结合位点的野生序列和突变序列。将野生序列和突变序列片段克隆并与 pmirGLO 载体结合,命名为 WT-MALAT1 和 MUT-MALAT1。将 WT-MALAT1 或 MUT-MALAT1 和 mimic NC 或 miR mimic 使用 Lipofectamine™ 2000 共转染到 HEK-293T 细胞中,在含有 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素溶液的 MEM 培养基中培养。转染 48 h 后,使用双荧光素酶双报告基因试剂盒进行荧光素酶活性检测。

1.10 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,比较用 *t* 检验、单因素方差分析或重复测量设计的方差分析。方差分析的两两比较使用 Tukey HSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 过表达 LncRNA MALAT1 对雪旺细胞增殖和迁移的影响

oe-NC 组与 oe-MALAT1 组 LncRNA MALAT1 mRNA 相对表达量分别为 (1.00 ± 0.08) 、 (2.43 ± 0.16) ,经 *t* 检验,差异有统计学意义 ($t = 23.792$, $P = 0.000$)。oe-MALAT1 组高于 oe-NC 组。

oe-NC 组与 oe-MALAT1 组 0、24、48 和 72 h 吸光度值比较,经重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点的吸光度值比较,差异有统计学意义 ($F =$

187.500, $P=0.000$), 随着时间的延长, 吸光度值显著增加, 表明细胞增殖活性增强; ②两组吸光度值比较, 差异有统计学意义 ($F=49.190, P=0.000$), oe-MALAT1 组高于 oe-NC 组, 表明 MALAT1 的过量表达显著促进了雪旺细胞的增殖; ③两组吸光度值变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F=10.270, P=0.001$)。结果表明不同组别在不同时间点的增殖反应存在显著差异, 这可能与 MALAT1 对细胞增殖机制的特异性调控有关。见表 2。

表 2 两组细胞不同时间点吸光度值比较 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
oe-NC 组	0.35 ± 0.03	0.48 ± 0.03	0.66 ± 0.05	0.98 ± 0.07
oe-MALAT1 组	0.37 ± 0.03	0.59 ± 0.04	0.93 ± 0.08	1.45 ± 0.12

oe-NC 组、oe-MALAT1 组细胞迁移数分别为 (280 ± 18)、(528 ± 35) 个/HP, 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=10.860, P=0.000$), oe-MALAT1 组高于 oe-NC 组 ($P<0.05$)。见图 1。

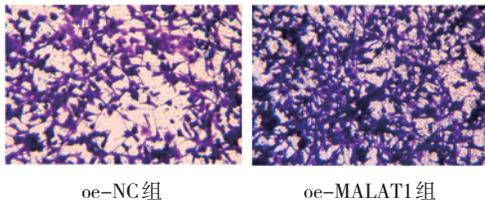


图 1 两组细胞迁移数比较 (结晶紫染色 × 100)

2.2 LncRNA MALAT1 对 miR-155-5p 的调节作用

本研究利用在线预测工具 Starbase, 确认 LncRNA MALAT1 与 miR-155-5p 之间的潜在结合位点 (见图 2)。在荧光素酶报告质粒实验中, mimic NC 组、miR mimic 组在 WT-MALAT1 的荧光素酶相对活性分别为 (1.00 ± 0.11)、(0.36 ± 0.05), 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=16.393, P=0.000$)。而 mimic NC

组、miR mimic 组在 MUT-MALAT1 的荧光素酶相对活性分别为 (1.01 ± 0.07)、(1.04 ± 0.08), 经 t 检验, 差异无统计学意义 ($t=0.317, P=0.764$)。

另外, 通过转染 si-MALAT1 抑制 LncRNA MALAT1 的表达, 在雪旺细胞中观察到 si-NC 组、si-MALAT1 组 LncRNA MALAT1 的相对表达量分别为 (1.00 ± 0.09)、(0.31 ± 0.02), 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=18.335, P=0.000$), si-MALAT1 组低于 si-NC 组。si-NC 组、si-MALAT1 组 miR-155-5p 相对表达量分别为 (1.00 ± 0.11)、(2.07 ± 0.16), 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=21.408, P=0.000$), si-MALAT1 组高于 si-NC 组。

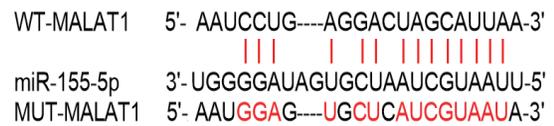


图 2 Starbase 预测 LncRNA MALAT1 和 miR-155-5p 的靶向调控位点

2.3 过表达 miR-155-5p 对 LncRNA MALAT1 高表达的逆转作用

oe-MALAT1 + mimic NC 组、oe-MALAT1 + miR mimic 组 0、24、48 和 72 h 吸光度值比较, 经重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的吸光度值比较, 差异有统计学意义 ($F=246.400, P=0.000$), 表明随着时间的推移, 细胞吸光度值显著增加, 反映细胞增殖的增长; ②两组吸光度值比较, 差异有统计学意义 ($F=24.100, P=0.000$), oe-MALAT1 + miR mimic 组在 24、48 和 72 h 吸光度值低于 oe-MALAT1 + mimic NC 组, 说明 miR mimic 对 MALAT1 过表达细胞的增殖有显著的抑制作用; ③两组吸光度值变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F=7.019, P=0.003$), 表明 miR mimic 在调节 MALAT1 表达及其对细胞增殖影响的时间依赖性。见表 3。

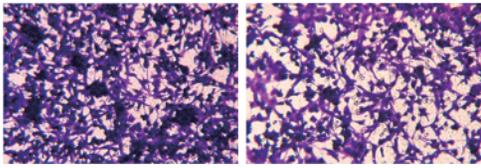
表 3 两组细胞不同时间点吸光度值比较 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
oe-MALAT1 + mimic NC 组	0.34 ± 0.03	0.60 ± 0.04	0.92 ± 0.07	1.51 ± 0.13
oe-MALAT1 + miR mimic 组	0.36 ± 0.02	0.53 ± 0.04	0.75 ± 0.06	1.19 ± 0.08

oe-MALAT1 + mimic NC 组、oe-MALAT1 + miR mimic 组细胞迁移数分别为 (531 ± 38)、(375 ± 26)

个/HP, 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=5.856, P=0.004$), oe-MALAT1 + miR mimic 组低于 oe-MALAT1

+ mimic NC组。见图3。



oe-MALAT1 + mimic NC组 oe-MALAT1 + miR mimic组
图3 两组细胞迁移数比较 (结晶紫染色 × 100)

2.4 Loganin对雪旺细胞增殖和迁移的影响

Control组、Loganin(50 μmol/L)组、Loganin(100 μmol/L)组、Loganin(200 μmol/L)组0、24、48、72 h吸光度值比较,经重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点吸光度值比较,差异有统计学意义($F=578.700, P=0.000$),吸光度值随时间的增加而升高;②各组吸光度值比较,差异有统计学意义($F=$

66.030, $P=0.000$),随着Loganin浓度的增加,吸光度值呈上升趋势,显示出剂量依赖性;③两组吸光度值变化趋势比较,差异有统计学意义($F=14.580, P=0.000$),表明随着Loganin浓度的增加,细胞的增殖活性增强。见表4。

Transwell实验结果显示,Control组、Loganin(50 μmol/L)组、Loganin(100 μmol/L)组、Loganin(200 μmol/L)组细胞迁移数分别为(275 ± 16)、(414 ± 29)、(602 ± 39)、(633 ± 42)个/HP,经单因素方差分析,差异有统计学意义($F=76.850, P=0.000$),Loganin(50 μmol/L)组较Control组增加($P<0.05$),Loganin(100 μmol/L)组较Loganin(50 μmol/L)组增加($P<0.05$),Loganin(200 μmol/L)组与Loganin(100 μmol/L)组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),表明100 μmol/L是最适浓度。见图4。

表4 各组不同时间点吸光度值比较 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
Control组	0.31 ± 0.02	0.42 ± 0.03	0.62 ± 0.04	0.95 ± 0.04
Loganin(50 μmol/L)组	0.34 ± 0.03	0.54 ± 0.02	0.79 ± 0.05	1.17 ± 0.04
Loganin(100 μmol/L)组	0.33 ± 0.03	0.59 ± 0.04	0.88 ± 0.07	1.32 ± 0.05
Loganin(200 μmol/L)组	0.35 ± 0.03	0.65 ± 0.05	0.97 ± 0.09	1.48 ± 0.06

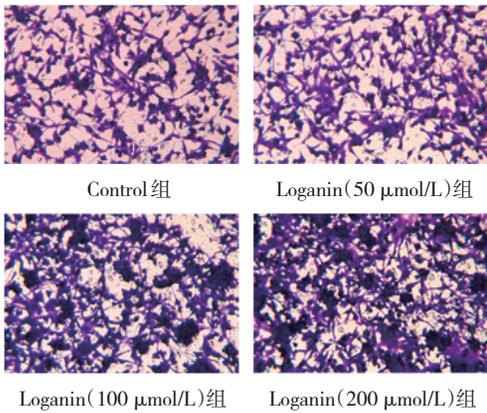


图4 不同浓度Loganin处理细胞后细胞迁移数比较 (结晶紫染色 × 100)

2.5 Loganin处理对雪旺细胞中LncRNA MALAT1表达的影响

Control组、Loganin(50 μmol/L)组、Loganin(100 μmol/L)组、Loganin(200 μmol/L)组LncRNA MALAT1相对表达量分别为(1.00 ± 0.07)、(1.56 ± 0.11)、(2.08 ± 0.13)、(2.39 ± 0.17),经单因素方差分析,差异有统计学意义($F=71.145, P=0.000$),不同浓度的

Loganin组较Control组增加。

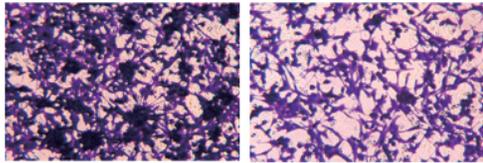
2.6 抑制LncRNA MALAT1表达对Loganin作用的影响

Loganin(100 μmol/L) + si-NC组与Loganin(100 μmol/L) + si-MALAT1组0、24、48和72 h的吸光度值比较,经重复测量设计的方差分析,结果:①各时间点吸光度值比较,差异有统计学意义($F=176.500, P=0.000$),吸光度值随时间的增加而升高;②两组吸光度值比较,差异有统计学意义($F=23.880, P=0.000$);③两组吸光度值变化趋势比较,差异有统计学意义($F=4.155, P=0.024$),进一步确认MALAT1干扰对细胞增殖的影响。见表5。

Transwell结果显示,Loganin(100 μmol/L) + si-NC组与Loganin(100 μmol/L) + si-MALAT1组细胞迁移数分别为(610 ± 39)、(366 ± 25)个/HP,经t检验,差异有统计学意义($t=9.138, P=0.001$),Loganin(100 μmol/L) + si-MALAT1组低于Loganin(100 μmol/L) + si-NC组。见图5。

表 5 两组细胞不同时间点吸光度值比较 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
Loganin(100 $\mu\text{mol/L}$)+ si-NC组	0.34 \pm 0.02	0.56 \pm 0.04	0.83 \pm 0.06	1.34 \pm 0.12
Loganin(100 $\mu\text{mol/L}$)+ si-MALAT1组	0.32 \pm 0.03	0.47 \pm 0.05	0.68 \pm 0.05	1.05 \pm 0.11



Loganin(100 $\mu\text{mol/L}$) + si-NC组 Loganin(100 $\mu\text{mol/L}$) + si-MALAT1组

图 5 两组细胞迁移数比较 (结晶紫染色 $\times 100$)

3 讨论

中枢神经系统损伤后,其修复能力非常有限,而周围神经系统具有较强的再生能力,而这种能力在很大程度上是由雪旺细胞的可塑性造成的^[12],是创伤和周围神经病变后周围神经再生的关键特征^[13]。周围神经损伤后,雪旺细胞增殖和迁移促进轴突生长和功能恢复^[14]。增强雪旺细胞的增殖和迁移能力可以为周围神经损伤的治疗提供新方向^[15]。大量研究表明,lncRNAs在细胞增殖、自噬、有氧糖酵解、迁移、干细胞、分化和免疫反应中起着至关重要的作用^[16-17]。研究发现,Loganin通过抑制活性氧生成和NLRP3炎症体的激活,减轻高糖诱导的雪旺细胞焦亡^[18]。本研究发现LncRNA MALAT1促进雪旺细胞增殖和迁移,过表达miR-155-5p可部分逆转oe-MALAT1对雪旺细胞增殖和迁移能力的促进作用。此外,进一步实验研究表明,Loganin促进雪旺细胞增殖和迁移,并且促进LncRNA MALAT1的表达,而抑制LncRNA MALAT1的表达会减弱Loganin对雪旺细胞增殖和迁移能力的促进作用。因此,笔者得到以下结论:Loganin通过LncRNA MALAT1调控miR-155-5p表达,促进雪旺细胞增殖和迁移。

有研究发现,许多lncRNAs在周围神经损伤后差异表达,并在周围神经再生中发挥重要作用^[19]。YU等^[20]研究表明,lncRNAs可以作用于雪旺细胞促进其再生。LIU等^[21]证实,过表达LncRNA NEAT1促进雪旺细胞的增殖和迁移,促进背根神经元轴突的生长。在哺乳动物的神经系统中发现了许多miRNA,例如大脑、脊髓和背根神经节,其在神经元生理和病理生理过程中起关键作用^[22]。前期研究表

明,miR-155-5p敲除小鼠显示神经变性增加和小胶质细胞增生,表明miR-155-5p在神经元损伤中的神经保护作用^[23]。QIAN等^[24]研究表明,miR-148b-3p通过在体外直接靶向Cand1而促进雪旺细胞的迁移。结合之前的研究:发现miR-155-5p可通过调控Nrf2通路活化,抑制雪旺细胞的增殖和迁移。在本研究中得到类似的结果,LncRNA MALAT1通过抑制miR-155-5p的水平而促进Nrf2的表达,使雪旺细胞增殖和迁移能力增强。

TSENG等^[25]发现Loganin还通过增强神经营养因子来减轻中脑神经元凋亡、轴突损伤和氧化应激。此外,Loganin已被证明可以通过阻断TNF- α 诱导的Smad2信号传导对雪旺细胞起有益作用^[26]。CHU等^[11]研究表明Loganin通过显著减少促炎细胞因子的释放、炎症蛋白的上调、衔接蛋白的过度表达、雪旺细胞脱髓鞘和轴突变性,可以预防周围神经损伤引起的神经源性炎症和神经细胞损伤。Loganin对lncRNAs的作用还未有过相关报道。本研究发现Loganin处理促进雪旺细胞增殖和迁移,并激活LncRNA MALAT1的表达,而抑制LncRNA MALAT1的表达会减弱Loganin对雪旺细胞增殖和迁移能力的促进作用。

综上所述,Loganin可能通过促进LncRNA MALAT1表达,进而抑制miR-155-5p的表达,促进雪旺细胞的增殖和迁移。本研究有助于加深对Loganin和LncRNA MALAT1在周围神经修复和再生中的生物学功能的理解,为坐骨神经损伤的治疗提供科学依据。

参 考 文 献 :

- [1] BALZANI E, FANELLI A, MALAFOGLIA V, et al. A review of the clinical and therapeutic implications of neuropathic pain[J]. Biomedicines, 2021, 9(9): 1239.
- [2] GUAN Z H, KUHN J A, WANG X D, et al. Injured sensory neuron-derived CSF1 induces microglial proliferation and DAP12-dependent pain[J]. Nat Neurosci, 2016, 19(1): 94-101.
- [3] WEI Z Y, FEI Y, SU W F, et al. Emerging role of Schwann cells in neuropathic pain: receptors, glial mediators and myelination[J].

- Front Cell Neurosci, 2019, 13: 116.
- [4] CHEN Z H, WU H Y, ZHANG M Q. Long non-coding RNA: an underlying bridge linking neuroinflammation and central nervous system diseases[J]. *Neurochem Int*, 2021, 148: 105101.
- [5] WU S G, BONO J, TAO Y X. Long noncoding RNA (lncRNA): a target in neuropathic pain[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(1): 15-20.
- [6] WU G Z, LI X Y, LI M Y, et al. Long non-coding RNA MALAT1 promotes the proliferation and migration of Schwann cells by elevating BDNF through sponging miR-129-5p[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 390(1): 111937.
- [7] WENG J, DING T, CHEN Y H, et al. LncRNA-Meg3 promotes Nlrp3-mediated microglial inflammation by targeting miR-7a-5p[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 90: 107141.
- [8] 赵飞, 张弥, 姚忠军, 等. miR-155通过Nrf2通路调控CCI大鼠坐骨神经病理疼痛和炎症反应[J]. *免疫学杂志*, 2021, 37(10): 845-853.
- [9] PARK C H, TANAKA T, KIM J H, et al. Hepato-protective effects of loganin, iridoid glycoside from *Corni Fructus*, against hyperglycemia-activated signaling pathway in liver of type 2 diabetic db/db mice[J]. *Toxicology*, 2011, 290(1): 14-21.
- [10] CHENG K I, CHEN S L, HSU J H, et al. Loganin prevents CXCL12/CXCR4-regulated neuropathic pain via the NLRP3 inflammasome axis in nerve-injured rats[J]. *Phytomedicine*, 2021, 92: 153734.
- [11] CHU L W, CHENG K I, CHEN J Y, et al. Loganin prevents chronic constriction injury-provoked neuropathic pain by reducing TNF- α /IL-1 β -mediated NF- κ B activation and Schwann cell demyelination[J]. *Phytomedicine*, 2020, 67: 153166.
- [12] JESSEN K R, ARTHUR-FARRAJ P. Repair Schwann cell update: adaptive reprogramming, EMT, and stemness in regenerating nerves[J]. *Glia*, 2019, 67(3): 421-437.
- [13] NOCERA G, JACOB C. Mechanisms of Schwann cell plasticity involved in peripheral nerve repair after injury[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(20): 3977-3989.
- [14] YILDIRAN H, MACIT M S, ÖZATA UYAR G. New approach to peripheral nerve injury: nutritional therapy[J]. *Nutr Neurosci*, 2020, 23(10): 744-755.
- [15] MOTTA C M M, ENDRES K J, WESDEMIOTIS C, et al. Enhancing Schwann cell migration using concentration gradients of laminin-derived peptides[J]. *Biomaterials*, 2019, 218: 119335.
- [16] HUA Q, JIN M M, MI B M, et al. LINC01123, a c-Myc-activated long non-coding RNA, promotes proliferation and aerobic glycolysis of non-small cell lung cancer through miR-199a-5p/c-Myc axis[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 91.
- [17] LI P, HE J, YANG Z, et al. ZNNT1 long noncoding RNA induces autophagy to inhibit tumorigenesis of uveal melanoma by regulating key autophagy gene expression[J]. *Autophagy*, 2020, 16(7): 1186-1199.
- [18] CHENG Y C, CHU L W, CHEN J Y, et al. Loganin attenuates high glucose-induced Schwann cells pyroptosis by inhibiting ROS generation and NLRP3 inflammasome activation[J]. *Cells*, 2020, 9(9): 1948.
- [19] YAO C, CHEN Y P, WANG J, et al. LncRNA BC088259 promotes Schwann cell migration through Vimentin following peripheral nerve injury[J]. *Glia*, 2020, 68(3): 670-679.
- [20] YU B, ZHOU S L, YI S, et al. The regulatory roles of non-coding RNAs in nerve injury and regeneration[J]. *Prog Neurobiol*, 2015, 134: 122-139.
- [21] LIU X Y, YU X Y, HE Y C, et al. Long noncoding RNA nuclear enriched abundant transcript 1 promotes the proliferation and migration of Schwann cells by regulating the miR-34a/Satb1 axis [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(9): 16357-16366.
- [22] WANG T Y, LI B, WANG Z J, et al. Sorafenib promotes sensory conduction function recovery via miR-142-3p/AC9/cAMP axis post dorsal column injury[J]. *Neuropharmacology*, 2019, 148: 347-357.
- [23] HARRISON E B, EMANUEL K, LAMBERTY B G, et al. Induction of miR-155 after brain injury promotes type 1 interferon and has a neuroprotective effect[J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 228.
- [24] QIAN T M, ZHAO L L, WANG J, et al. miR-148b-3p promotes migration of Schwann cells by targeting cullin-associated and neddylation-dissociated 1[J]. *Neural Regen Res*, 2016, 11(6): 1001-1005.
- [25] TSENG Y T, LIN W J, CHANG W H, et al. The novel protective effects of loganin against 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced neurotoxicity: Enhancement of neurotrophic signaling, activation of IGF-1R/GLP-1R, and inhibition of RhoA/ROCK pathway[J]. *Phytother Res*, 2019, 33(3): 690-701.
- [26] CHAO G, TIAN X N, ZHANG W T, et al. Blocking Smad2 signalling with loganin attenuates SW10 cell cycle arrest induced by TNF- α [J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0176965.

(李科 编辑)

本文引用格式: 赵飞, 姚忠军, 方兴刚, 等. 马钱子苷通过LncRNA MALAT1靶向microRNA-155-5p促进雪旺细胞增殖和迁移的机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2025, 35(4): 22-29.

Cite this article as: ZHAO F, YAO Z J, FANG X G, et al. Loganin promotes Schwann cell proliferation and migration by targeting microRNA-155-5p through lncRNA MALAT1[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2025, 35(4): 22-29.