

长链非编码 RNA 在脂多糖诱导人巨噬细胞炎症反应中的表达变化

邓桢 姚芳苾 叶建青 徐建青 卿城 罗清 黄自坤

330006 江西南昌,南昌大学第一附属医院检验科(邓桢、叶建青、徐建青、罗清、黄自坤),重症医学科(卿城);330006 江西南昌,江西省血液中心检验科(姚芳苾)

通讯作者:黄自坤,Email:yfyzk@163.com

DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2017.04.004

【摘要】 目的 分析长链非编码 RNA (lncRNA) 在脂多糖 (LPS) 诱导人巨噬细胞炎症反应中的表达差异。方法 分离健康者外周血单个核细胞,采用贴壁法培养纯化为巨噬细胞并分为空白对照组和 LPS 刺激组。用 1 mg/L LPS 刺激巨噬细胞 12 h 后收集细胞及其培养上清液,采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测细胞培养上清液中白细胞介素 (IL-1 β 、IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量;利用 lncRNA 基因芯片检测两组细胞中 lncRNA 表达谱的变化,筛选出差异表达 lncRNA 分子并进行分析。采用实时荧光定量反转录-聚合酶链反应 (qRT-PCR) 对部分差异表达 lncRNA 分子进行验证;并以 NR_028034 为研究对象,检测 LPS 诱导巨噬细胞炎症反应中 NR_028034 的动态表达变化。**结果** ① 与空白对照组相比, LPS 诱导巨噬细胞 12 h 后上清液中炎性细胞因子含量均明显升高 [IL-1 β (ng/L): 562.93 \pm 61.17 比 59.74 \pm 15.68, IL-6 (ng/L): 702.46 \pm 92.31 比 71.66 \pm 18.25, TNF- α (ng/L): 794.50 \pm 63.89 比 85.12 \pm 22.07, 均 $P < 0.01$],证实巨噬细胞炎症反应模型构建成功。② 以 LPS 刺激组与空白对照组表达比值 ≥ 2 倍且 $P < 0.05$ 作为差异表达 lncRNA。LPS 刺激巨噬细胞后差异表达 lncRNA 有 1 479 条,上调 2 倍以上的 lncRNA 共 953 条,其中上调 5 倍以上的 lncRNA 有 49 条;下调 2 倍以上的 lncRNA 共 526 条,其中下调 5 倍以上的 lncRNA 有 35 条。③ 用 qRT-PCR 对部分 lncRNA 进行验证的结果与 lncRNA 芯片检测结果一致。④ LPS 刺激巨噬细胞后 3、6、12 h, NR_028034 表达水平较空白对照组分别上调了 (4.41 \pm 0.65)、(11.56 \pm 2.04)、(18.58 \pm 1.36) 倍 (均 $P < 0.01$)。**结论** LPS 诱导人巨噬细胞炎症反应后, lncRNA 表达谱发生显著变化, lncRNA 可能参与调控了巨噬细胞炎症反应。

【关键词】 长链非编码 RNA; 脂多糖; 巨噬细胞; 炎症反应

基金项目: 国家自然科学基金 (81560001); 江西省科技支撑计划项目 (20151BBG70208)

Differential expression profile of long non-coding RNA in the lipopolysaccharide-induced inflammation of monocyte-derived macrophages Deng Zhen, Yao Fangyi, Ye Jianqing, Xu Jianqing, Qing Cheng, Luo Qing, Huang Zikun

Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China (Deng Z, Ye JQ, Xu JQ, Luo Q, Huang ZK); Department of Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China (Qing C); Department of Clinical Laboratory, Jiangxi Province Blood Center, Nanchang 330006, Jiangxi, China (Yao FY)

Corresponding author: Huang Zikun, Email: yfyzk@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the expression profile of long non-coding RNA (lncRNA) in the lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation of monocyte-derived macrophages. **Methods** Peripheral blood mononuclear cells were derived from healthy donor and induced into macrophages. The macrophages were divided into blank control group and LPS (1 mg/L) stimulated 12 hours group. Culture supernatants and cell pellets were harvested in each group, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to assay the production changes of interleukins (IL-1 β and IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the supernatant. The technique of lncRNA microarray was used to test the lncRNA expression profile in LPS-induced inflammation of macrophages and control macrophages. The raw data of lncRNA were pretreated for normalization. Five lncRNA expressions were validated by real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR). Furthermore, qRT-PCR was used to detect the expression of NR_028034 in macrophages after LPS-induced inflammation. **Results** ① The contents of IL-1 β (ng/L: 562.93 \pm 61.17 vs. 59.74 \pm 15.68), IL-6 (ng/L: 702.46 \pm 92.31 vs. 71.66 \pm 18.25) and TNF- α (ng/L: 794.50 \pm 63.89 vs. 85.12 \pm 22.07) in the LPS group were significantly higher than those in the blank control group (all $P < 0.01$). These results indicated that the inflammatory model of human macrophages was constructed successfully. ② Compared with blank control group, and 1 479 lncRNA which have more than 2 folds variation and significant difference ($P < 0.05$) by statistical analysis was defined as lncRNA with differential expression. Among these lncRNA, LPS group showed 953 up-regulated and 526 down-regulated genes by 2 folds and 49 up-regulated and 35 down-regulated genes by 5 folds. ③ qRT-PCR results were generally consistent with the microarray data. ④ The expression of NR_028034 was

increased by (4.41 ± 0.65) , (11.56 ± 2.04) , (18.58 ± 1.36) folds compared with blank control group at 3, 6, 12 hours after LPS stimulation (all $P < 0.01$). **Conclusions** These data show a significantly altered lncRNA expression profile in the LPS-induced inflammation of monocyte-derived macrophages, suggesting that lncRNA may be involved in regulation of macrophages inflammatory response.

【Key words】 Long non-coding RNA; Lipopolysaccharide; Macrophages; Inflammatory response

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81560001); Science and Technology Plan Project of Jiangxi Province (20151BBG70208)

炎症反应是机体免疫系统对入侵病原相关因素产生的保护性应激反应。巨噬细胞作为机体重要的天然免疫细胞和抗原呈递细胞,在炎症反应中具有重要的调节作用^[1]。当巨噬细胞表面的 Toll 样受体 4 (TLR4) 识别革兰阴性 (G^-) 菌细胞壁成分脂多糖 (LPS) 后,会激活核转录因子 κ B (NF- κ B) 信号通路,启动一系列炎性细胞因子如白细胞介素 (IL-1 β 、IL-6) 及肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 等的表达,促进炎症反应的发生^[2]。研究发现,适度的炎症反应可促进机体内病原体的清除,而过度的炎症反应则可能导致机体组织损伤,甚至发生脓毒症及多器官功能障碍综合征 (MODS),因此,机体的炎症反应必须受到精确的调控^[3]。

长链非编码 RNA (lncRNA) 是一类长度超过 200 核苷酸的 RNA 分子,不编码蛋白质^[4]。近年来研究表明, lncRNA 广泛参与了机体内各种生理功能的调节,然而在免疫调控过程中, lncRNA 对巨噬细胞炎症反应的调节作用和机制研究甚少^[5-6]。本研究以外周血单个核细胞来源的人巨噬细胞为研究对象,分析 LPS 诱导巨噬细胞与对照巨噬细胞间 lncRNA 的表达谱差异,筛选出与巨噬细胞炎症反应相关的 lncRNA; 并以细胞 NR_028034 为研究对象,观察其在 LPS 诱导巨噬细胞炎症反应中的动态变化,以期为临床治疗巨噬细胞炎症反应相关疾病提供新的理论依据和有效靶点。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料: 人血清、淋巴细胞分离液及 LPS (Sigma-Aldrich, 美国); SYBR 实时荧光定量试剂盒和 PrimeScript 反转录试剂盒 (TaKaRa, 大连); TRIzol 试剂 (Invitrogen, 美国); RNA 纯化试剂盒 (Qiagen, 美国); RPMI 1640 培养基 (Hyclone, 美国); 人 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 (ebioscience, 美国); 实时荧光定量反转录-聚合酶链反应 (qRT-PCR) 引物 (上海生工生物工程技术有限公司)。人 lncRNA 基因芯片 (Arraystar, 美国)。

1.2 人巨噬细胞分离与培养: 经医院伦理委员会

审批,在南昌大学第一附属医院招募健康成人志愿者 15 名,每位志愿者采集 50 mL 外周血样本。细胞培养用品均去热源处理,按常规方法用淋巴细胞分离液提取外周血单个核细胞,调整细胞密度至 1×10^6 /mL 加入 12 孔板,每孔 1 mL,用含 10% 人血清的 RPMI 1640 培养基培养 24 h 后,吸去悬浮细胞,磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗 2 次,将贴壁细胞用含 10% 人血清的 RPMI 1640 培养基继续培养 7 d,此时单核细胞变为梭形或长出突触后,进行巨噬细胞鉴定。

1.3 巨噬细胞分组及处理: 按 5×10^5 /mL 接种巨噬细胞于 12 孔培养板中,每孔 1 mL,随机分为 LPS 刺激组和空白对照组。LPS 刺激组将终浓度 1 mg/L 的 LPS 加入细胞培养基中;培养 12 h 后收集巨噬细胞及细胞培养上清液备检。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 细胞培养上清液中细胞因子水平测定: 按照 ELISA 试剂盒说明书步骤检测各组细胞培养上清液中 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的含量。

1.4.2 细胞总 RNA 提取: 用 TRIzol 法提取各组细胞总 RNA,按 RNA 纯化试剂盒步骤纯化总 RNA,使用分光光度仪及核酸测定仪对总 RNA 进行定量和质量分析。

1.4.3 lncRNA 表达谱分析: lncRNA 表达谱芯片由上海康成生物有限公司完成。首先将总 RNA 反转录为 cDNA,并将其转录合成 cRNA;然后以 cRNA 为模板,采用 T7 Oligo (dT) 引物进行反转录,用荧光标记物标记反转录产物;最后用 3.0 版本的人 lncRNA 基因芯片进行杂交并扫描。采用生物信息学软件进行数据分析,差异 lncRNA 的标准为 LPS 刺激组与空白对照组表达比值 ≥ 2 倍且 $P < 0.05$ 。

1.4.4 qRT-PCR 验证: 在基因芯片筛选出的差异表达 lncRNA 分子中,挑选差异变化明显的 lncRNA 分子,以 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 作为内参,采用 SYBR Green 法进行 qRT-PCR 验证。提取细胞总 RNA,焦碳酸二乙酯 (DEPC) 水溶解后,取 1 μ L RNA 反转录为 cDNA。取 20 μ L 反应体系进行检测,PCR 引物序列由上海生工生物工程技术有限公司

公司合成。反应体系：反转录产物 1 μL、2×SYBR 荧光染料试剂 10 μL，上、下游引物 (10 μmol/L) 各 0.8 μL，50×ROX 染料 0.4 μL，无核酶水 7 μL。PCR 反应条件：95 °C 10 min，95 °C 15 s，60 °C 1 min，72 °C 30 s，40 个扩增循环。所有样品做 3 个复孔。根据待测标本的 Ct 值，用相对定量法对 qRT-PCR 结果进行分析，计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

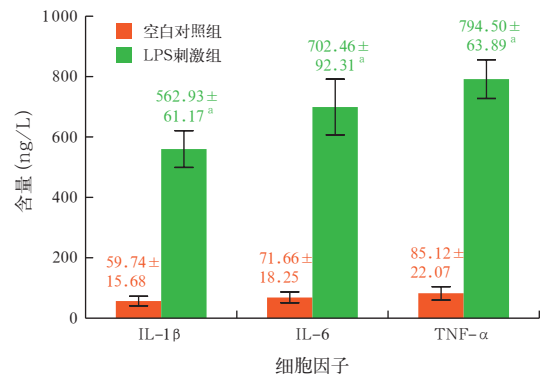
1.4.5 细胞 NR_028034 表达量测定：用 1 mg/L LPS 刺激巨噬细胞，分别于 3、6、12 h 收集巨噬细胞，提取细胞总 RNA，以 GAPDH 作为内参，采用 SYBR 荧光染料掺入相对定量法检测 NR_028034 表达。

1.5 统计学处理：使用 SPSS 17.0 软件进行数据分析，计量数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，两样本比较采用独立样本 *t* 检验，方差不齐时采用近似 *t* 检验，*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS 诱导巨噬细胞炎症反应模型的构建(图 1)：与空白对照组比较，LPS 刺激巨噬细胞 12 h 后，细胞培养上清液中 IL-1β、IL-6、TNF-α 含量均显著升高 (均 *P* < 0.01)，表明 LPS 诱导巨噬细胞炎症反应模型构建成功。

2.2 RNA 的纯化及检测：凝胶电泳检测显示，提取的总 RNA 中 18S 和 28S 条带清晰。空白对照组和 LPS 刺激组 $A_{260/280}$ 值分别为 1.84 和 1.89，提示总 RNA 质量符合要求，可进行基因芯片检测。



注：LPS 为脂多糖，IL-1β 为白细胞介素 -1β，IL-6 为白细胞介素 -6，TNF-α 为肿瘤坏死因子 -α；与空白对照组比较，^a*P* < 0.01

图 1 LPS 诱导人巨噬细胞 12 h 后细胞培养上清液中炎症细胞因子水平

2.3 LPS 刺激巨噬细胞后 lncRNA 表达变化(表 1；图 2)：与空白对照组比较，LPS 刺激组差异表达 lncRNA 有 1479 条，上调 2 倍以上的 lncRNA 共 953 条，其中上调 5 倍以上的 lncRNA 有 49 条；下调 2 倍以上的 lncRNA 共 526 条，其中下调 5 倍以上的 lncRNA 有 35 条。

2.4 qRT-PCR 验证部分差异表达 lncRNA(图 3)：为了验证 lncRNA 芯片的准确性，随机挑选 5 条 lncRNA 进行 qRT-PCR 验证，结果显示，LPS 诱导巨噬细胞后 NEAT1、ENST00000555403、uc002ttr.3 表达明显上调，THRIL、ENST00000521622 表达明显下调，与芯片结果基本一致。

表 1 脂多糖(LPS)诱导人巨噬细胞炎症反应中前 20 位差异表达长链非编码 RNA (lncRNA)

序列名称	上调 lncRNA			序列名称	下调 lncRNA		
	上调倍数	长度 (bp)	染色体		下调倍数	长度 (bp)	染色体
NR_028034	45.31	2445	chr10	ENST00000437721	35.30	6852	chr13
ENST00000585303	38.43	566	chr17	TCONS_00001275	31.52	362	chr1
ENST00000515570	29.60	765	chr5	ENST00000567533	28.20	3208	chr7
NR_024399	21.68	942	chr16	NR_033841	25.34	2274	chr2
TCONS_00008690	18.18	1614	chr4	ENST00000552081	22.51	442	chr12
ENST00000515097	17.90	570	chr11	ENST00000445976	21.95	499	chr1
ENST00000450909	17.21	1762	chr16	uc002ksd.1	18.51	1951	chr18
uc010isf.1	15.53	3158	chr4	ENST00000505718	15.85	470	chr10
NR_045213	14.96	2202	chr1	NR_038277	15.50	2268	chr10
ENST00000414426	14.32	482	chr9	ENST00000561845	13.45	705	chr7
uc010fhx.3	13.95	1722	chr2	ENST00000420546	12.59	429	chr9
NR_033436	13.08	2644	chr7	NR_045123	12.19	1735	chr15
ENST00000449895	12.63	516	chr1	uc002wfp.1	11.86	2808	chr20
TCONS_00001765	12.04	1252	chr1	ENST00000533091	9.21	571	chr11
ENST00000533693	11.30	504	chr11	ENST00000578119	9.14	453	chr18
NR_002832	9.86	2322	chr11	ENST00000547027	8.97	566	chr12
ENST00000559248	9.50	704	chr15	ENST00000573312	8.78	2656	chr17
NEAT1	9.08	480	chr11	ENST00000416809	7.97	622	chr1
ENST00000366105	8.63	1530	chr1	TCONS_00022072	7.25	349	chr13
uc021oub.1	8.45	377	chr1	ENST00000438002	7.14	2520	chr1

注：差异表达 lncRNA 定义为 LPS 刺激人巨噬细胞 lncRNA 表达值较空白对照组上调或下调 ≥ 2 倍且 *P* < 0.05

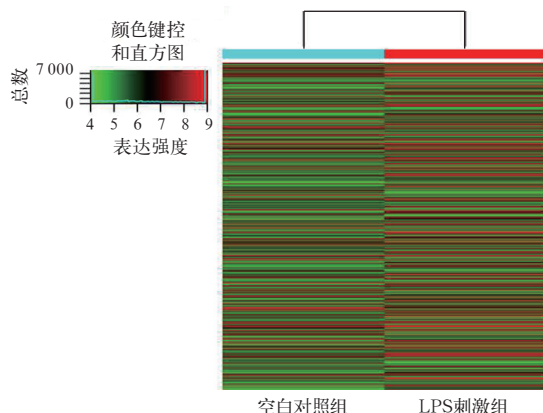
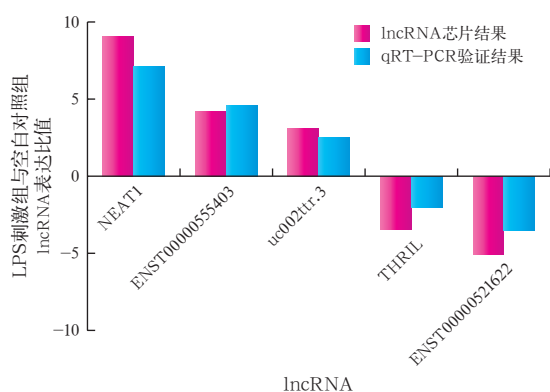


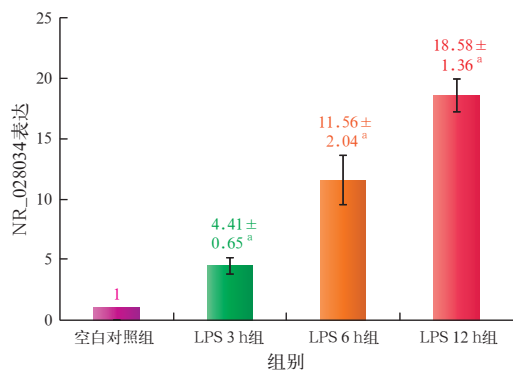
图2 脂多糖(LPS)诱导人巨噬细胞后炎症反应相关长链非编码RNA(lncRNA)聚类分析树状图



注:LPS为脂多糖,lncRNA为长链非编码RNA

图3 实时荧光定量反转录-聚合酶链反应(qRT-PCR)验证差异表达的lncRNA

2.5 LPS刺激巨噬细胞后不同时间点 NR_028034 的表达变化(图4):在芯片中 NR_028034 变化最为显著,故进一步观察其在 LPS 诱导炎症反应中的动态变化,结果显示, LPS 刺激 3、6、12 h, NR_028034 表达水平较空白对照组分别上调了 (4.41 ± 0.65) 、 (11.56 ± 2.04) 、 (18.58 ± 1.36) 倍(均 $P < 0.01$)。表明 LPS 刺激后 3 h 即可上调巨噬细胞中 NR_028034 的表达,并呈逐步上升趋势。



注:LPS为脂多糖,与空白对照组比较,^a $P < 0.01$

图4 LPS刺激人巨噬细胞后不同时间点 NR_028034 表达变化

3 讨论

固有免疫系统是机体抵抗病原体侵袭的第一道防线,炎症反应是固有免疫系统发生的一类重要的保护性反应,早期炎症反应能够提示机体病原体的存在并产生炎性细胞因子抵御侵害,随着病原体被清除以及机体自身启动的反馈抑制作用,炎症反应会逐渐消退^[7]。巨噬细胞可以通过 NF- κ B 信号通路启动细胞炎症反应,从而诱导多种促炎因子的大量表达,但炎性因子生成过度 and 调节失控最终可导致脓毒症的发生^[8]。本研究中采用 LPS 成功诱导了人巨噬细胞炎症反应,并观察到在炎症反应早期 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达明显上调。

近年来对 lncRNA 研究的深入,为巨噬细胞炎症反应的调控提供了新机制。lncRNA 作为基因组中的调节基因,可以参与细胞生物活动的各个环节^[9]。很多证据表明 lncRNA 可通过不同的作用机制在转录调控、表观遗传调控等多种层面上影响基因的表达水平,参与了众多生物学进程,如细胞分化、增殖、凋亡等^[10-11]。目前已发现多种 lncRNA 在心血管系统疾病^[12]、肿瘤^[13]、自身免疫性疾病^[14] 等发生发展过程中发挥着重要的调控作用。

近年研究发现,lncRNA 还参与了免疫调控^[15]。如 lncRNA Lethe 可以阻断 NF- κ B 与染色体 DNA 的结合,从而阻断 NF- κ B 介导的炎症免疫应答^[16]; PACER(p50 辅助的 COX2 基因外 RNA)可调节人 COX2 基因的表达^[17]。Li 等^[18]利用基因芯片技术鉴定了与先天免疫应答有关的基因间 lncRNA,发现在免疫系统激活时,THRIL 可以特异结合不均一核糖核蛋白 L(hnRNPL)从而参与调节 TNF- α 的基因转录。最近,lncRNA 在巨噬细胞中的研究也开始引起人们的关注。Mao 等^[19]用 LPS 刺激小鼠骨髓来源的巨噬细胞后发现,有部分 lncRNA 表达异常;Zhao 等^[20]发现 LPS 可以诱导巨噬细胞高表达肺腺癌转移相关转录本 1(MALAT1);Reddy 等^[21]发现过表达 lncRNA E330013P06 可以抑制巨噬细胞 IL-10 的分泌,诱导高表达诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、IL-6、TNF- α 等炎性基因。这些研究表明,lncRNA 可能在巨噬细胞炎症免疫应答过程中发挥重要作用。

本研究采用 lncRNA 芯片筛查 LPS 诱导人巨噬细胞炎症反应中差异表达的 lncRNA,结果显示,LPS 诱导巨噬细胞后差异表达 lncRNA 有 1479 条,其中上调 5 倍以上的 lncRNA 有 49 条,下调 5 倍以

上的 lncRNA 有 35 条。采用 qRT-PCR 验证部分 lncRNA 分子的结果与 lncRNA 芯片检测结果一致。本研究不仅鉴定出已报道的 THRIL 和 NEAT1, 亦筛选出未见报道的多个差异表达 lncRNA, 为下一步 lncRNA 在巨噬细胞炎症反应中调控机制的研究奠定了基础。

有研究表明, Fas 基因在巨噬细胞炎症反应及凋亡过程中发挥着重要作用^[22], 提示 NR_028034 可能通过调控 Fas 基因影响巨噬细胞炎症反应。本研究以差异最显著的基因 NR_028034 为研究对象, 观察其在 LPS 诱导巨噬细胞炎症反应中的动态变化, 结果显示, LPS 刺激巨噬细胞后 NR_028034 表达显著上调, 且随时间延长呈逐渐升高趋势, 因此我们推测, NR_028034 可能参与调控人巨噬细胞炎症反应, Fas 可能为 NR_028034 的潜在靶基因之一。然而, NR_028034 对巨噬细胞炎症反应的影响及其调控机制尚需进一步研究证实。

综上, 本研究显示, LPS 诱导人巨噬细胞炎症反应后 lncRNA 表达谱发生了显著变化, 表明 lncRNA 可能参与调控了巨噬细胞炎症反应, 但由于大部分 lncRNA 的功能未知, 给研究带来了难度, 在后续研究中, 我们将从前期工作的基础上挑选出部分 lncRNA, 探讨这些 lncRNA 对 Toll 样受体信号介导的巨噬细胞炎症反应的调节作用及其机制, 以期为有效治疗巨噬细胞炎症相关疾病提供新的思路。

参考文献

[1] 刘艳存, 柴艳芬, 姚咏明. 巨噬细胞在脓毒症发病机制中的作用研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25 (4): 247-250. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.04.020.
Liu YC, Chai YF, Yao YM. Advance in the study of the role of macrophages in the pathogenesis of sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2013, 25 (4): 247-250. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.04.020.

[2] 刘千萍. 浅谈 Toll 样受体与动脉粥样硬化的关系[J]. 实用检验医师杂志, 2013, 5 (4): 250-252. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2013.04.017.
Liu QP. Brief discussion on the relationship between Toll like receptor and arteriosclerosis [J]. Chin J Lab Path, 2013, 5 (4): 250-252. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2013.04.017.

[3] 贺能英, 严启滔, 郭振辉. 脓毒症的免疫反应与炎症[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (6): 435-438. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.004.
He NY, Yan QT, Guo ZH. Inflammatory and immune responses in the sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (6): 435-438. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.004.

[4] 刘名倬, 朱峰. 长链非编码 RNA 的研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (4): 285-288. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.04.020.
Liu MZ, Zhu F. Research advances in long non-coding RNA [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (4): 285-288. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.04.020.

[5] Huang Z, Luo Q, Yao F, et al. Identification of differentially expressed long non-coding RNAs in polarized macrophages [J]. Sci Rep, 2016, 6: 19705. DOI: 10.1038/srep19705.

[6] Atianand MK, Hu W, Satpathy AT, et al. A long noncoding RNA lincRNA-EPS acts as a transcriptional brake to restrain inflammation [J]. Cell, 2016, 165 (7): 1672-1685. DOI: 10.1016/j.cell.2016.05.075.

[7] 杨霞, 李香琴, 马晓媛, 等. 脓毒症血管内皮损伤及调节策略

的研究进展[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2016, 23 (1): 108-110. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.01.028.
Yang X, Li XQ, Ma XY, et al. Research advances in vascular endothelial injury in sepsis and regulation strategies [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2016, 23 (1): 108-110. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.01.028.

[8] 董天啤, 张桂萍, 董凯, 等. 血必净注射液治疗脓毒症作用机制的研究进展[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2016, 23 (5): 554-557. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.05.031.
Dong TH, Zhang GP, Dong K, et al. Progress in effects mechanism of Xuebijing injection in the treatment of sepsis [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2016, 23 (5): 554-557. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.05.031.

[9] 高原, 惠宁, 刘善荣. 长链非编码 RNA 的研究进展[J]. 第二军医大学学报, 2011, 32 (7): 790-794. DOI: 10.3724/SP.J.1008.2011.00790.
Gao Y, Hui N, Liu SR. Long non-coding RNA: research progress [J]. Acad J Second Mil Med Univ, 2011, 32 (7): 790-794. DOI: 10.3724/SP.J.1008.2011.00790.

[10] 林浩, 赵楚生, 郑永平. 肝硬化和肝癌患者外周血淋巴细胞中 INK4 位点反义非编码 RNA 和肿瘤抑制因子的表达[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (1): 86-89. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.01.021.
Lin H, Zhao CS, Zheng YP. Expressions of antisense non-coding RNA in INK4 locus and tumor suppressors in peripheral blood lymphocytes of patient with cirrhosis and hepatocellular carcinoma [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2015, 22 (1): 86-89. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.01.021.

[11] 熊伟民, 李明峰, 宋佳鸿, 等. 长链非编码 RNA H19 促进肝癌细胞增殖和侵袭[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13 (10): 1945-1948. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2013.10.046.
Xiong WM, Li MF, Song JH, et al. LncRNA H19 promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation and invasion [J]. Prog Mod Biomed, 2013, 13 (10): 1945-1948. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2013.10.046.

[12] 连晓清, 王连生. 长链非编码 RNA 的功能及与心血管病的研究进展[J]. 国际遗传学杂志, 2012, 35 (5): 295-299. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4386.2012.05.010.
Lian XQ, Wang LS. The progress on long non-coding RNA function and the association with cardiovascular disease [J]. Int J Genet, 2012, 35 (5): 295-299. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4386.2012.05.010.

[13] 左君波, 朱阿考, 夏加增. 长链非编码 RNA 与肿瘤的研究进展[J]. 中华医学杂志, 2011, 91 (47): 3380-3382. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2011.47.019.
Zuo JB, Zhu AK, Xia JZ. Advance of long non-coding RNA in cancer research [J]. Natl Med J China, 2011, 91 (47): 3380-3382. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2011.47.019.

[14] Sigdel KR, Cheng A, Wang Y, et al. The emerging functions of long noncoding RNA in immune cells: autoimmune diseases [J]. J Immunol Res, 2015, 2015: 848790. DOI: 10.1155/2015/848790.

[15] 杨敏, 杨再兴. 长链非编码 RNA 在免疫系统中的作用进展[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34 (24): 3373-3375. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.051.
Yang M, Yang ZX. Advance of long non-coding RNA in immune system [J]. Int J Lab Med, 2013, 34 (24): 3373-3375. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.051.

[16] Rapicavoli NA, Qu K, Zhang J, et al. A mammalian pseudogene lncRNA at the interface of inflammation and anti-inflammatory therapeutics [J]. Elife, 2013, 2: e00762. DOI: 10.7554/eLife.00762.

[17] Krawczyk M, Emerson BM. p50-associated COX-2 extragenic RNA (PACER) activates COX-2 gene expression by occluding repressive NF-κB complexes [J]. Elife, 2014, 3: e01776.

[18] Li Z, Chao TC, Chang KY, et al. The long noncoding RNA THRIL regulates TNFα expression through its interaction with hnRNPL [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111 (3): 1002-1007. DOI: 10.1073/pnas.1313768111.

[19] Mao AP, Shen J, Zuo Z. Expression and regulation of long noncoding RNAs in TLR4 signaling in mouse macrophages [J]. BMC Genomics, 2015, 16: 45. DOI: 10.1186/s12864-015-1270-5.

[20] Zhao G, Su Z, Song D, et al. The long noncoding RNA MALAT1 regulates the lipopolysaccharide-induced inflammatory response through its interaction with NF-κB [J]. FEBS Lett, 2016, 590 (17): 2884-2895. DOI: 10.1002/1873-3468.12315.

[21] Reddy MA, Chen Z, Park JT, et al. Regulation of inflammatory phenotype in macrophages by a diabetes-induced long noncoding RNA [J]. Diabetes, 2014, 63 (12): 4249-4261. DOI: 10.2337/db14-0298.

[22] Isayama F, Moore S, Hines IN, et al. Fas regulates macrophage polarization and fibrogenic phenotype in a model of chronic ethanol-induced hepatocellular injury [J]. Am J Pathol, 2016, 186 (6): 1524-1536. DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.02.006.

(收稿日期: 2016-11-21)