

# miR-455-3p 靶向调控 VEGF-C 对矽肺淋巴管增生的影响

王静思<sup>1</sup>, 张梦璐<sup>1</sup>, 崔洁<sup>1</sup>, 何海兰<sup>1</sup>, 刘艺<sup>1</sup>, 郭灵丽<sup>1,2</sup>, 郝小惠<sup>1,2</sup>, 刘和亮<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的 探究微小 RNA-455-3p(miR-455-3p)在大鼠矽肺模型淋巴管增生中的调控作用,并探讨 miR-455-3p 靶向血管内皮生长因子-C(VEGF-C)对人淋巴内皮细胞(HLECs)管状结构形成的影响。方法 将大鼠随机分为矽肺模型组和正常对照组,矽肺模型组气管内滴注二氧化硅(SiO<sub>2</sub>)悬浊液,对照组滴注等量 0.9% 氯化钠溶液,采用 HE、Masson、免疫组织化学染色观察肺组织病理改变及淋巴管增生情况,实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)和 Western blot 检测大鼠肺组织内 miR-455-3p、VEGF-C 表达水平;将 miR-455-3p 抑制剂(Inhibitors)及其阴性对照(NC)转染至 HLECs 中,RT-qPCR 和 Western blot 检测细胞内 miR-455-3p、VEGF-C 表达水平,划痕实验检测 HLECs 迁移能力,基质胶管形成实验检测管状结构形成能力,双荧光素酶报告基因验证 miR-455-3p 和 VEGF-C 的靶向关系。结果 与正常对照组比较,大鼠矽肺模型组肺间质内大量炎性细胞聚集,胶原逐渐沉积,且肺内淋巴管增生,肺组织内 miR-455-3p 表达水平低于对照组,VEGF-C 表达水平高于对照组;HLECs 转染后,与 NC 组比较,Inhibitors 组细胞内 miR-455-3p 表达水平降低,VEGF-C 水平升高,细胞迁移能力及管状结构形成能力增强( $P < 0.05$ );双荧光素酶报告基因证实 VEGF-C 为 miR-455-3p 的靶基因。结论 miR-455-3p 可通过靶向调控 VEGF-C 表达从而影响 HLECs 的管状结构形成能力,调节淋巴管增生。

**关键词** miR-455-3p; VEGF-C; 矽肺; 淋巴管增生

**中图分类号** R 135.2

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2023)09-1529-06  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.09.015

矽肺是一种由于长期吸入游离二氧化硅(silicon dioxide, SiO<sub>2</sub>)粉尘引起的肺部疾病。粉尘颗粒吸入肺内引发组织炎性水肿,进而导致纤维化,损害患者的肺功能<sup>[1]</sup>。研究发现,残留在矽肺患者肺间质的粉尘大约占总吸入量的 1%,而大部分沉积在

淋巴结内,进一步研究也证实其肺内淋巴管增生能够促进淋巴循环,进而将体内的 SiO<sub>2</sub> 粉尘重吸收,并随血液循环清除至体外<sup>[2,3]</sup>。课题组前期研究发现,在大鼠矽肺模型早期出现淋巴管增生,且其管状结构对于肺内粉尘清除、调控矽肺进展具有重要作用<sup>[4]</sup>。此外,血管内皮生长因子-C(vascular endothelial growth factor C, VEGF-C)是调控淋巴管增生的关键因子<sup>[5]</sup>。在多种癌症和炎症模型中,微小 RNA(miRNAs)可通过调控 VEGF-C 进而影响淋巴管增生,但 miRNAs 对矽肺模型中淋巴管增生的调控作用尚不清楚。该研究旨在识别 miR-455-3p、VEGF-C 在矽肺大鼠模型中的差异表达,并探讨 miR-455-3p 通过靶向 VEGF-C 对人淋巴内皮细胞(human lymphatic endothelial cells, HLECs)管状结构形成的调控作用。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 成年 SD 雄性大鼠(北京华阜康实验动物技术有限公司),SiO<sub>2</sub>(美国 Sigma 公司),人淋巴内皮细胞、内皮细胞培养基(美国 Science Cell 公司),HE 染液、Masson 三色染液(珠海贝索生物技术有限公司),免疫组织化学染色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),miR-455-3p 抑制剂(Inhibitors)及阴性对照(Negative Control, NC)、miR-455-3p 及 U6 引物、VEGF-C 基因 mRNA 野生型 3'UTR、突变型 3'UTR 的双荧光素酶报告基因及空白质粒(上海吉玛制药技术有限公司),HighGene 转染试剂(武汉爱博泰克生物科技有限公司),cDNA 合成试剂盒、PCR 试剂盒(日本 Takara 公司),基质胶(美国 Corning 公司),双荧光素酶报告基因检测试剂盒(美国 Promega 公司),兔单抗 VEGF-C(美国 Affinity Biosciences 公司),山羊抗兔 IgG(上海碧云天生物技术有限公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 动物分组及处理** 将 SD 大鼠随机分为 2 组,3 只/组,矽肺模型组大鼠予以一次性气管滴注 1 ml 0.9% 氯化钠溶液溶解的 SiO<sub>2</sub> 悬液(50 mg/只),对照组给予等剂量的 0.9% 氯化钠溶液,饲养 14 d

2023-08-13 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81673119);河北省自然科学基金(编号:H2022209039);河北省重点研发计划项目(编号:192777129D)

作者单位:<sup>1</sup> 华北理工大学公共卫生学院,唐山 063210

<sup>2</sup> 河北省器官纤维化重点实验室,唐山 063210

作者简介:王静思,女,硕士研究生;

刘和亮,男,博士,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: tsuoshui@163.com

后处死,取肺部组织。

**1.2.2 细胞分组及处理** HLECs 在含 10% 血清的内皮细胞培养基中培养。实验分为 2 组,miR-455-3p Inhibitors 组、NC 组,转染后 6 h 后半量更换含 2% 血清的内皮细胞培养基,转染 24 h 后收集细胞并检测相关指标,实验重复 3 次。

**1.2.3 RT-qPCR** 提取大鼠肺组织和 HLECs 总 RNA,逆转录为 cDNA 后进行扩增,具体反应体系及反应程序参照试剂盒说明书,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 miR-455-3p 和 VEGF-C 的相对表达量。

**1.2.4 Western blot** 提取大鼠肺组织和细胞中的蛋白,检测肺组织内和细胞内 VEGF-C 的蛋白表达水平。

**1.2.5 划痕实验** 将 HLECs 接种于 6 孔板,细胞贴壁后,将 200  $\mu$ l 枪头垂直于孔板进行划痕,磷酸缓冲盐溶液冲洗 3 次后,每孔加入 2 ml 相应培养基,培养 6 h 后于倒置显微镜下在划痕区域选取 2 个随机视野拍照,使用 Image J 软件计算细胞迁移面积,将迁移面积比作为反映细胞迁移能力的指标,迁移面积比越大即细胞的迁移能力越强。迁移面积百分比 = (0 h 划痕区域面积 - 6 h 划痕区域面积) / 0 h 划痕区域面积  $\times$  100%,实验重复 3 次。

**1.2.6 基质胶管状结构形成实验** 将 24 孔板置于冰上,每孔加入 200  $\mu$ l 基质胶,在细胞培养箱内聚合 40 min 后,将不同处理组 HLECs 接种于 24 孔板中,培养 6 h 后于倒置显微镜下选取 2 个随机视野

拍照,使用 Image J 软件分析管状结构形成情况,实验重复 3 次。

**1.2.7 双荧光素酶基因报告** 将细胞接种于 12 孔板,加入含有 10% 血清的内皮细胞培养基,培养至细胞密度达到 60% 左右时,将双荧光素酶基因报告质粒、miR-455-3p Mimics 及 NC 共同转染至细胞内,每组设 3 个复孔,转染 6 h 后半量更换培养基,36 h 后按照检测试剂盒进行相应处理,检测荧光素酶活性。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,所有实验结果数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组数据间的比较采用 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 miR-455-3p 和 VEGF-C 在大鼠矽肺模型肺组织中的差异表达情况** HE 染色结果:正常对照组大鼠肺组织肺泡结构完整,矽肺模型组肺间质内大量炎性细胞聚集,可见巨噬细胞性结节;Masson 染色结果:显微镜下肺组织蓝色部分为胶原纤维,红色部分为肌纤维,与对照组比较,矽肺模型组肺间质内蓝色胶原逐渐沉积;对各组大鼠进行免疫组织化学染色,采用淋巴管内皮细胞透明质酸受体-1 (lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor-1, LYVE-1) 特异性标记淋巴管,结果表明,矽肺模型组大鼠肺内存在淋巴管的增生。见图 1。

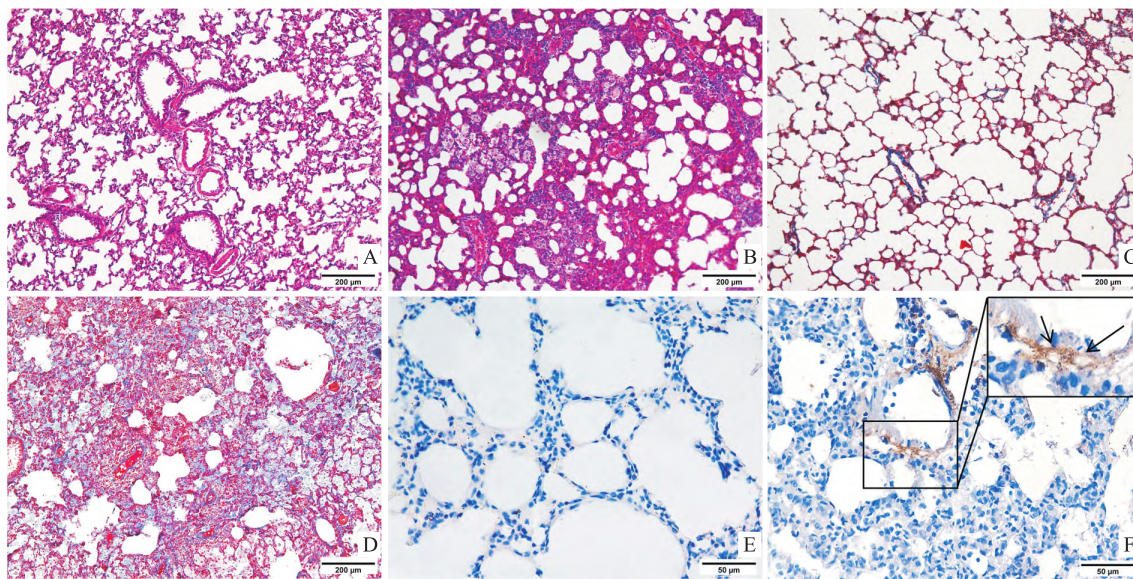


图 1 大鼠肺组织 HE、Masson、免疫组织化学染色结果

A:正常对照组 HE 染色  $\times 100$ ;B:矽肺模型组 HE 染色  $\times 100$ ;C:正常对照组 Masson 染色  $\times 100$ ;D:矽肺模型组 Masson 染色  $\times 100$ ;E:正常对照组免疫组织化学染色 LYVE-1  $\times 400$ ;F:矽肺模型组免疫组织化学染色 LYVE-1  $\times 400$



对两组大鼠肺组织内淋巴管增生标志物 VEGF-C 进行定量分析,RT-qPCR 和 Western blot 结果显示,与对照组比较,矽肺模型组 VEGF-C mRNA 及蛋白表达量增加。将大鼠矽肺模型测序数据中 55 个差异表达的 miRNAs 与 Targetscan (<https://www.targetscan.org/>), miRDB (<https://mirdb.org/>), miR-code (<http://www.mircode.org/index.php>) 三个生物信息学数据库中显示与 VEGF-C 存在靶向结合位点的 miRNA 进行筛选并取交集,在大鼠这个物种中筛选出 8 个候选 miRNA,由于本实验后续在 HLECs 中进行验证,而上述 8 个候选 miRNAs 中仅有 miR-455-3p 在 Targetscan 及 miRDB 数据库中显示在人这个物种中与 VEGF-C 存在靶向结合位点,因此本研究选择 miR-455-3p 作为研究对象,筛选过程见图 2。对两组大鼠肺组织内 miR-455-3p 进行定量分析,发现与对照组比较,矽肺模型组 miR-455-3p 表达量降低,差异均有统计学意义。见图 2 及表 1。

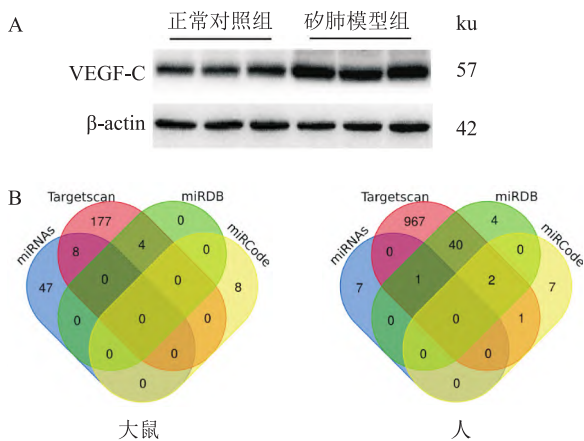


图 2 大鼠肺组织内 VEGF-C 的蛋白表达及 miR-455-3p 的生物信息学筛选过程

A: Western blot 检测肺组织内 VEGF-C 的蛋白表达; B: miR-455-3p 生物信息学筛选过程

表 1 大鼠肺组织内 VEGF-C 及 miR-455-3p 的表达量 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	miR-455-3p 表达量	VEGF-C mRNA 表达量	VEGF-C 蛋白表达量
正常对照组	1.01 ± 0.17	1.00 ± 0.07	0.82 ± 0.03
矽肺模型组	0.27 ± 0.14 *	2.42 ± 0.10 *	1.24 ± 0.14 *
t 值	5.879	19.290	4.877
P 值	0.004 2	<0.000 1	0.008 2

与正常对照组比较: \*  $P < 0.05$

**2.2 转染后 HLECs 内 miR-455-3p、VEGF-C 的表达水平比较** 转染后 Inhibitors 组的 miR-455-3p 表达水平明显低于 NC 组,而 VEGF-C 的 mRNA 及蛋

白水平呈现与之相反的趋势,差异均具有统计学意义。见图 3 及表 2。

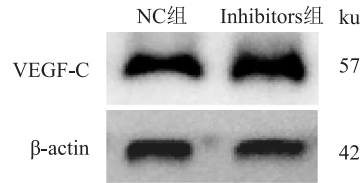


图 3 转染后 HLECs 内 VEGF-C 的蛋白表达量

表 2 转染后 HLECs 内 VEGF-C 及 miR-455-3p 的表达量 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	miR-455-3p 表达量	VEGF-C mRNA 表达量	VEGF-C 蛋白表达量
NC 组	1.01 ± 0.13	1.02 ± 0.05	0.91 ± 0.07
Inhibitors 组	0.17 ± 0.07 *	12.39 ± 2.05 *	1.22 ± 0.17 *
t 值	10.020	9.609	2.888
P 值	0.000 6	0.000 7	0.044 6

与 NC 组比较: \*  $P < 0.05$

**2.3 转染后 HLECs 的迁移能力和管状结构形成能力的比较** 转染后对两组细胞进行划痕实验发现,Inhibitors 组细胞的迁移面积百分比明显高于 NC 组,迁移能力增强。转染后对两组细胞进行管结构形成能力检测发现,与 NC 组比较,Inhibitors 组细胞的管腔数量、管分支总长度明显增加,差异有统计学意义。见图 4 及图 5。

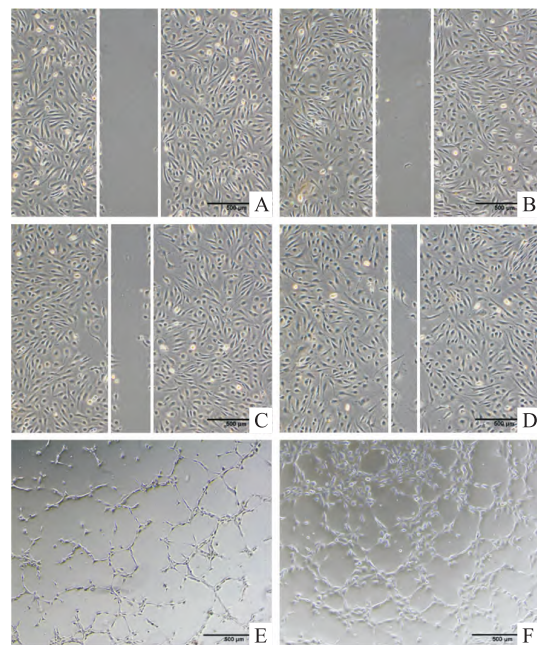


图 4 转染后 HLECs 迁移能力、管状结构形成的变化 ×40

A: NC 组划痕后 0 h; B: Inhibitors 组划痕后 0 h; C: NC 组划痕后 6 h; D: Inhibitors 组划痕后 6 h; E: NC 组管状结构形成情况; F: Inhibitors 组管状结构形成情况

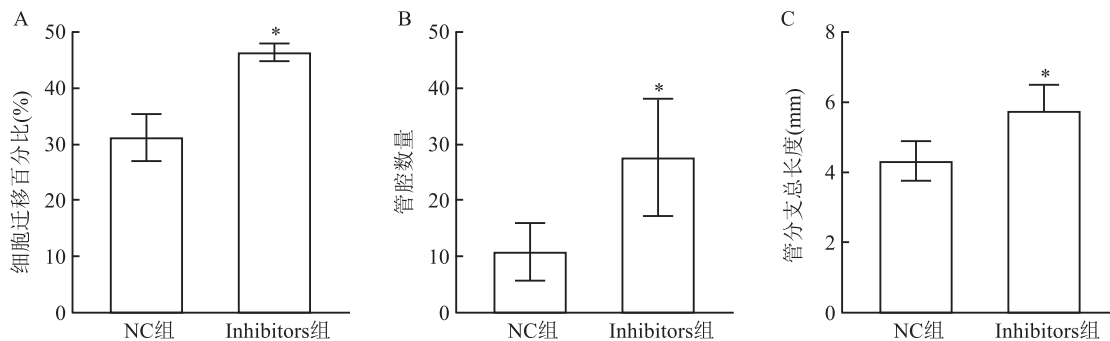


图5 转染后 HLECs 迁移能力、管状结构形成的变化

A: 划痕后 6 h 细胞迁移面积百分比; B: 处理 6 h 后细胞的管腔数量; C: 处理 6 h 后细胞管分支总长度; 与 NC 组比较: \*  $P < 0.05$

**2.4 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-455-3p 和 VEGF-C 的靶向关系** 在 Targetscan 网站预测发现 VEGF-C 基因 mRNA 3'UTR 上存在 miR-455-3p 的结合位点, 通过双荧光素酶报告基因实验验证二者的靶向关系。结果显示, 与 miR-NC 组比较, miR-455-3p 组 VEGF-C 基因 mRNA 野生型 3'UTR 荧光素酶活性低于对照组, 差异有统计学意义, 突变型 3'UTR 荧光素酶活性无明显变化。见图 6。

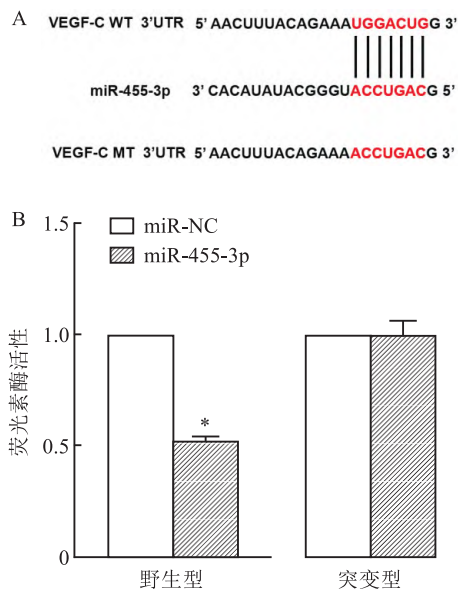


图6 miR-455-3p 靶向 VEGF-C mRNA 3'UTR

A: 生物信息学预测 miR-455-3p 靶向 VEGF-C mRNA 3'UTR; B: 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-455-3p 靶向 VEGF-C mRNA 3'UTR; 与 miR-NC 组比较: \*  $P < 0.05$

### 3 讨论

矽肺是一种病程长、危害大的职业性呼吸系统疾病, 主要致病因素是游离的  $\text{SiO}_2$  粉尘, 因此  $\text{SiO}_2$  粉尘的清除对于矽肺的治疗有重要意义。淋巴系统

是体内重要的循环系统, 淋巴管具有物质运输、免疫调节、维持内环境平衡的作用<sup>[6,7]</sup>。课题组前期研究表明: 在大鼠矽肺模型中有新生淋巴管出现, 且药物促进增生后可缓解病程进展, 结扎胸导管后淋巴循环受阻加速肺损伤<sup>[4,8]</sup>, 这表明, 淋巴管增生对于肺内粉尘清除、缓解炎症及延缓纤维化进程有积极作用。此外, 淋巴内皮细胞管结构的形成是淋巴管增生的生物学基础, 因此探究淋巴内皮细胞管结构形成的关键调控分子及机制有助于发现新的矽肺治疗靶点。

课题组前期研究发现,  $\text{SiO}_2$  诱导巨噬细胞活化后所分泌的 VEGF-C 可以诱导 HLECs 增殖、迁移及管状结构形成<sup>[9]</sup>, 其通过作用于受体 VEGF-R3 促进淋巴管增生<sup>[10,11]</sup>。而 miRNAs 通过结合靶基因 mRNA 3'非编码区(3'UTR), 影响靶向 mRNA 的稳定性进而调节基因的表达<sup>[12,13]</sup>。关于 miRNAs 是否能直接调节 VEGF-C 的表达, 从而调控淋巴管增生, 很多学者都开展了相关研究。有研究<sup>[14]</sup>表明, 在结肠癌细胞中, miR-182-5p 对 VEGF-C 有负调控作用, miR-182-5p 诱导的 VEGF-C 的下调抑制了 ERK 和 AKT 信号通路的激活, 可阻断淋巴管增生和淋巴结转移, 但 miRNAs 对矽肺早期淋巴管增生的调控机制尚不清楚。因此筛选出矽肺大鼠模型中靶向调控淋巴管增生因子 VEGF-C 的上游 miRNA 是本研究的第一步。Targetscan 网站显示, VEGF-C mRNA 3'UTR 上存在 miR-455-3p 的结合位点, 随后检测发现大鼠矽肺模型中 miR-455-3p 表达下调, VEGF-C 表达上调, 因此猜测二者之间存在潜在的调控关系。

本研究观察到 miR-455-3p 与 VEGF-C 之间存在可能的负反馈靶向调控机制后, 接下来在 HLECs 上进一步验证, 通过转染 miR-455-3p Inhibitors 来抑制 miR-455-3p 的表达, 随后检测了 VEGF-C 的表达

水平。结果显示与 NC 组比较, Inhibitors 组的 VEGF-C 的 mRNA 及蛋白表达增加, 说明抑制 miR-455-3p 后可促进 VEGF-C 的表达。加之前期研究发现, 采用 VEGF-C 人重组蛋白刺激 HLECs 后, 细胞的增殖、迁移以及成管能力显著增强。本研究采用划痕实验表明 Inhibitors 组细胞的迁移能力高于 NC 组; 基质胶管状结构形成实验中, Inhibitors 组细胞的管腔数量和管分支总长度明显高于 NC 组; 以上研究结果表明抑制 miR-455-3p 后, 细胞的迁移和管状结构发生的改变是由于 VEGF-C 的表达上调而引起的。双荧光素酶报告基因实验显示: 在转染 miR-455-3p 后, VEGFC mRNA 野生型 3'UTR 的荧光素酶活性降低, 而突变型的荧光素酶活性无明显变化, 这与此前在网站上的预测结果一致, 也进一步说明了 miR-455-3p 对 HLECs 的管状结构形成的影响与靶向结合 VEGF-C 有关。

本研究重点对调控矽肺淋巴管增生的关键因子 VEGF-C 的上游分子机制进行探究, 并在 HLECs 上进行验证, 得出结论: miR-455-3p 低表达可通过靶向调控 VEGF-C 上调从而促进 HLECs 的管状结构形成能力, 影响淋巴管增生。这为今后在分子层面通过促进淋巴管增生进而缓解炎症纤维化奠定了实验基础, 也为矽肺病的靶向治疗提供了新的思路。但该分子机制在体内模型中的作用仍需进一步探讨。

### 参考文献

- [1] Hoy R F, Chambers D C. Silica-related diseases in the modern world[J]. *Allergy*, 2020, 75(11): 2805-17.
- [2] Cox-Ganser J M, Burchfiel C M, Fekedulegn D, et al. Silicosis in lymph nodes: the canary in the miner? [J]. *J Occup Environ Med*, 2009, 51(2): 164-9.
- [3] Verma D K, Ritchie A C, Muir D C F. Dust content of lungs and

- its relationships to pathology, radiology and occupational exposure in Ontario hardrock miners[J]. *Am J Ind Med*, 2008, 51(7): 524-31.
- [4] 崔洁. VEGFR-3 调控矽肺大鼠早期肺淋巴管增生的作用研究[D]. 唐山: 华北理工大学, 2019.
  - [5] Varricchi G, Loffredo S, Galdiero M R, et al. Innate effector cells in angiogenesis and lymphangiogenesis[J]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 53: 152-60.
  - [6] Meinecke A-K, Nagy N, Lago G D A, et al. Aberrant mural cell recruitment to lymphatic vessels and impaired lymphatic drainage in a murine model of pulmonary fibrosis[J]. *Blood*, 2012, 119(24): 5931-42.
  - [7] Stephenson M D, McQueen D, Winter M, et al. Luteal start vaginal micronized progesterone improves pregnancy success in women with recurrent pregnancy loss[J]. *Fertil Steril*, 2017, 107(3): 684-90. e2.
  - [8] 崔洁, 陈紫莺, 王宏丽, 等. 肺淋巴循环障碍对矽肺发病进程的影响研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(6): 972-6.
  - [9] 张劲松. VEGF-C 通过 Src/eNOS 通路介导矽肺淋巴管生成分子机制研究[D]. 唐山: 华北理工大学, 2021.
  - [10] Wang J, Huang Y, Zhang J, et al. Pathway-related molecules of VEGFC/D-VEGFR3/NRP2 axis in tumor lymphangiogenesis and lymphatic metastasis[J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 461: 165-71.
  - [11] Zhang H F, Wang Y L, Tan Y Z, et al. Enhancement of cardiac lymphangiogenesis by transplantation of CD34 + VEGFR-3 + endothelial progenitor cells and sustained release of VEGF-C[J]. *Basic Res Cardiol*, 2019, 114(6): 43.
  - [12] Hernández-Romero I A, Guerra-Calderas L, Salgado-Albarrán M, et al. The regulatory roles of non-coding RNAs in angiogenesis and neovascularization from an epigenetic perspective[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1091.
  - [13] Peschansky V J, Wahlestedt C. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation [J]. *Epigenetics*, 2014, 9(1): 3-12.
  - [14] Yan S, Wang H, Chen X, et al. miR-182-5p inhibits colon cancer tumorigenesis, angiogenesis, and lymphangiogenesis by directly downregulating VEGF-C[J]. *Cancer Lett*, 2020, 488: 18-26.

## Effect of miR-455-3p targeting regulation of VEGF-C on lymphangiogenesis in silicosis

Wang Jingsi<sup>1</sup>, Zhang Menglu<sup>1</sup>, Cui Jie<sup>1</sup>, He Hailan<sup>1</sup>, Liu Yi<sup>1</sup>, Guo Lingli<sup>1,2</sup>, Hao Xiaohui<sup>1,2</sup>, Liu Heliang<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>School of Public Health, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210;

<sup>2</sup>Hebei Key Laboratory of Organ Fibrosis, Tangshan 063210)

**Abstract Objective** To explore the regulatory role of microRNA-455-3p (miR-455-3p) in lymphangiogenesis of rat silicosis model, and to investigate the effect of miR-455-3p targeted regulation of vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) on the tubular structure formation of human lymphatic endothelial cells (HLECs). **Methods** The rats were randomly divided into the silicosis model group and the normal control group. The silicosis model



# miR-148b-3p 调控瘢痕疙瘩来源的成纤维细胞增殖的机制研究

李心怡,李茜,张伟,李小静

**摘要** **目的** 分析 miR-148b-3p 对瘢痕疙瘩来源的成纤维细胞增殖的影响。**方法** 通过 Real-time PCR 分析人瘢痕疙瘩来源成纤维细胞 (HKF) 和正常人成纤维细胞 (NFs) 中 miR-148b-3p 和 SPARC 的表达水平。通过 Western blot 检测细胞中富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白 (SPARC) 蛋白表达水平。利用细胞计数试剂盒 8 (CCK-8) 法和平板克隆形成分析 miR-148b-3p 和 SPARC 对 HKF 增殖的影响。使用在线分析软件预测 miR-148b-3p 的靶基因,随后构建荧光素酶报告基因质粒,通过荧光素酶报告基因法分析 miR-148b-3p 与靶基因的靶向结合位点。**结果** miR-148b-3p 在 HKF 中低表达, SPARC 在 HKF 中高表达。在 HKF 细胞中转染 miR-148b-3p 能够下调 SPARC 的表达,并抑制细胞增殖。在线分析软件预测 miR-148b-3p 能够靶向结合 SPARC 的 3'-UTR; 双荧光素酶报告基因的结果进一步证实 miR-148b-3p 能够靶向作用于 SPARC 的 3'-UTR。在转染 miR-148b-3p 的 HKF 中再转染 SPARC 真核表达质粒,能够抵消 miR-148b-3p 的作用,

恢复细胞增殖能力。**结论** miR-148b-3p 通过靶向作用于 SPARC 的 3'-UTR,抑制其表达,抑制 HKF 增殖。

**关键词** 病理性瘢痕;miR-148b-3p;富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白;增殖

**中图分类号** R 619.6

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2023)09-1534-06  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.09.016

病理性瘢痕是皮肤损伤过度愈合的结果,可导致美学受损或皮肤功能减退以及心理障碍,包括自卑和焦虑。瘢痕主要由成纤维细胞增生和以胶原蛋白为主的细胞外基质的过度沉积引起。富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白 (secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC) 是一种胶原结合蛋白,能够通过影响转化生长因子-β (TGF-β) 活性参与组织纤维化及瘢痕的形成<sup>[1]</sup>。先前的研究显示 SPARC 能够促进人瘢痕疙瘩来源的成纤维细胞 (HKF) 和正常人成纤维细胞 (NFs) 增殖,下调 HKF 中 SPARC 表达能够抑制细胞的增殖<sup>[2,3]</sup>。微小 RNA (miRNAs) 是一类小的非编码 RNA 分子,参与调节多种生物学过程,如细胞增殖和组织再生等,也参与瘢痕的发生发

2023-08-13 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1908085QH327)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院整形外科,合肥 230022

作者简介:李心怡,女,博士研究生,主治医师;

李小静,女,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail:lixiaojing5@163.com

group were injected with silicon dioxide (SiO<sub>2</sub>) dust suspension, and the control group was injected with the same amount of normal saline. HE, Masson and immunohistochemistry staining were used to observe the pathological changes and lymphangiogenesis of lung tissue. The expression levels of miR-455-3p and VEGF-C in lung tissues of rats were detected by Quantitative real-time PCR (RT-qPCR) and Western blot; The miR-455-3p inhibitors and negative controls (NC) were transfected into HLECs, and the expression levels of miR-455-3p and VEGF-C in cells were detected by RT-qPCR and Western blot. The migration ability of HLECs was detected by scratch test, the ability of tubular structure formation was detected by matrigel tube formation test, and dual luciferase experiments were used to verify the targeting relationship between miR-455-3p and VEGF-C. **Results** Compared with the normal control group, in the silicosis model group, a large number of inflammatory cells gathered and collagen gradually deposited in the pulmonary interstitium, and there was lymphatic hyperplasia in the lung. The expression of miR-455-3p in the lung tissue was lower than that in the control group, and the expression of VEGF-C was higher than that in the control group; After transfection with HLECs, compared with the NC group, the expression of miR-455-3p in the cells of the Inhibitors group decreased, the expression of VEGF-C increased, and the ability of cell migration and tubular structure formation increased ( $P < 0.05$ ); VEGF-C was confirmed as a target gene of miR-455-3p by the dual luciferase experiments. **Conclusion** miR-455-3p can affect the tubular structure formation ability of HLECs and regulate lymphangiogenesis by targeting the expression of VEGF-C.

**Keywords** miR-455-3p; VEGF-C; silicosis; lymphangiogenesis