

TLR4/RhoA 信号通路调控连续血液滤过治疗引起脓毒症内皮细胞通透性变化的机制

余慧林,王建丰,刘义,刘玉尧,蒋薇,孟承颖,王欢,胡德林

摘要 目的 探讨 Toll 样受体 4(TLR4)/Ras 同源基因家族成员 A(RhoA)信号通路参与调控连续血液滤过前后脓毒症血清对血管内皮细胞通透性影响的分子机制。方法 收集 5 例经连续血液滤过治疗前后的脓毒症患者血清,检测滤过前后血清中炎症细胞因子含量;应用滤过前后血清干预人脐静脉内皮细胞(HUVEC)24 h,检测经连续滤过治疗前后的血清干预对于血管内皮细胞钙黏蛋白(VE-cadherin)、聚合肌动蛋白丝(F-actin)、TLR4 和 RhoA 表达的影响;构建 TLR4 低表达细胞株,检测 TLR4 低表达对血管内皮细胞钙黏蛋白(VE-cadherin)、F-actin 和 RhoA 表达的影响及其对内皮细胞通透性的影响。结果 滤过后血清中 TLR4、RhoA、白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)含量均显著降低;滤过后血清干预组 VE-cadherin、F-actin、TLR4 和 RhoA 的表达水平均显著降低,同时细胞通透性明显降低;TLR4 低表达可明显促进 VE-cadherin 和 F-actin 的表达,抑制 RhoA 蛋白的表达。结论 TLR4/RhoA 信号通路参与了连续血液滤过治疗引起脓毒症血清对血管内皮细胞通透性变化的调节。

关键词 脓毒症;TLR4;RhoA;连续血液滤过治疗;内皮细胞;烧伤

中图分类号 R 644

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)07-1159-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.016

脓毒症是由于机体对感染的反应失调引起的危及生命的多器官功能衰竭^[1]。烧伤患者由于皮肤屏障功能被破坏,以革兰阴性菌为主的病原体更易入侵机体造成感染引发脓毒症^[2]。大部分革兰阴性菌的致病力与其细胞壁最外层的脂多糖相关。目前脓毒症的病理生理机制尚不明确,而内皮细胞屏

障功能障碍在脓毒症的多器官损伤和死亡中起着重要作用^[3]。血管内皮细胞钙黏蛋白(VE-cadherin)的水平与脓毒症病情严重程度有一定相关性^[4]。内皮屏障功能的破坏往往伴随着 VE-cadherin 酪氨酸磷酸化的增加和细胞连接处聚合肌动蛋白丝(F-actin)聚合的减少^[5]。目前脓毒症的治疗主要是通过连续血液滤过清除炎症细胞因子,减轻炎症反应,从而改善预后,尚无针对分子水平的治疗。该研究旨在通过检测连续血液滤过治疗前后炎症细胞因子及内皮通透性相关基因表达变化,探讨脓毒症内皮细胞通透性的调节作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 脓毒症患者血清收集及连续血液滤过处理

根据脓毒症诊断标准,收集 5 例行连续血液滤过治疗前后的脓毒症患者血清,并进行无菌处理,-80℃保存备用。应用 ELISA 法检测滤过前后血清中 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4,TLR4)、Ras 同源基因家族成员 A(Ras homologue A,RhoA)、白细胞介素 1(interleukin-1,IL-1)、白细胞介素 6(interleukin-6,IL-6)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)的水平,严格按照试剂盒说明书操作,应用酶标仪于 450 nm 波长检测各样品吸光度(optical density,OD)值,所得数据进行统计分析。

1.2 主要试剂和仪器

DMEM 细胞培养基、胎牛血清购于 Gibco 公司, RNA 提取试剂盒购于 Invitrogen 公司,反转录试剂盒购于 Thermo Fisher 公司,Real-time PCR 试剂盒购于 TaKaRa 公司,DEPC 水、一抗稀释液购于碧云天生物技术研究所,蛋白提取及定量试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司,Western blot 聚丙烯酰胺凝胶试剂盒购于上海雅酶生物医药有限公司,广谱彩虹预染蛋白 Marker、ECL 超敏发光试剂盒购于 Thermo Fisher 公司,VE-cadherin 抗体、F-actin 抗体购于 Abcam 公司,山羊抗小鼠 IgG(HRP)、山羊抗兔 IgG(HRP)购于 Bioworld 公司,酶标仪 Multiskan GO 1510 购于美国 Thermo Fisher 公司,细胞培养箱 MCO-18AC 购于日本松下公司,普

2023-05-27 接收

基金项目:安徽省重点研究和开发计划项目(编号:1804h08020230);安徽省省级临床重点专科建设项目(编号:060102027)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院烧伤与创面修复外科,合肥 230022

作者简介:余慧林,女,硕士研究生;

胡德林,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail:hdl0522@163.com

通 PCR 仪器 2720 购于美国 ABI 公司, -80 °C 超低温冰箱 8950086A 购于美国 Thermo Fisher 公司, 荧光定量 PCR 仪 7500 购于美国 ABI 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 常规复苏冻存的人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC), 于 DMEM 完全培养基中吹打混匀, 放入 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中进行培养。培养细胞至汇合度为 80% 时, 根据实验设计进行后续实验。应用 10% 的滤过前后血清干预 HUVEC 24 h, 检测脓毒症血清对 HUVEC 通透性的影响; 同时, 应用 Real-time PCR、Western blot 和免疫荧光法分别检测其对 VE-cadherin 和 F-actin mRNA 及蛋白表达的影响。

1.3.2 构建 TLR4 低表达株 根据 TLR4 (NM_138557) 基因序列设计、合成 3 条干扰序列, 干扰序列片段如下, TLR4-RNAi-I: 5'-TATTCAAAGATACACCAGCGG-3'; TLR4-RNAi-II: 5'-ATATTAAGGTAGAGAGGTGGC-3'; TLR4-RNAi-III: 5'-AAATTCTCCAGAACCAAACG-3'。并将其构建至质粒载体 (GV298) 上。Lipofectamine 3000 进行细胞转染, 检测分析各序列的干扰效率。选取干扰效率最高的序列 (shRNA-I), 应用浓度为 1.0 μg/ml 嘌呤霉素筛选 6 周, 构建 TLR4 低表达稳转细胞株 (TLR4-shRNA)。检测 TLR4 低表达对 VE-cadherin、F-actin 和 RhoA 表达的影响及其对血管内皮细胞通透性的影响。

1.3.3 Real-time PCR 检测 VE-cadherin、F-actin 和 TLR4 mRNA 表达变化 遵照 Real-time PCR 试剂盒说明书, 以 cDNA 为模板, 采用 SYBRGreen 染料法进行实时荧光定量 PCR, 检测各目的基因的表达, 见表 1。

表 1 Real-time PCR 引物序列

基因名称	引物序列	长度 (bp)
GAPDH	F:5'-AGAAGGTGGTGAAGCAGGC-3'	182
	R:5'-GCCAAATTCGTTGTCATACCAGG-3'	
TLR4	F:5'-GCCAGGATGATGCTGCCTC-3'	110
	R:5'-TTAGGAACCACCTCCACGC-3'	
VE-cadherin	F:5'-GATACAACCGTCTGGTCAGCCC-3'	144
	R:5'-GAGAAGCAGGCCAGGTATGAG-3'	
F-actin	F:5'-CCACCAGACCACATCCCAA-3'	152
	R:5'-GAGTCAGAACCATCTGGGCTT-3'	

1.3.4 Western blot 法检测 VE-cadherin 和 F-actin、TLR4、RhoA 蛋白表达变化 RIPA 裂解液 (强) 提取细胞总蛋白, 采用 BCA 法测量样品在 562 nm 波长

附近的吸光度值, 测定蛋白浓度, 调整合适后进行蛋白变性处理 (100 °C, 5 min)。根据待检测蛋白分子量制备合适浓度的分离胶 (GAPDH, 10%; TLR4, 7.5%; RhoA, 15%; VE-cadherin, 8%; F-actin, 10%), 经 SDS-PAGE 电泳分离后, 分别进行转膜、封闭、一抗孵育 [TLR4 (1:400), RhoA (1:500), VE-cadherin (1:500), F-actin (1:400)]、二抗孵育 (1:10 000) 及 ECL 发光、显影, 以 GAPDH 为内参, 进行灰度扫描及相对表达量分析。

1.3.5 单层细胞通透性实验 制备单细胞悬液, 细胞计数后调整细胞浓度至 1 × 10⁴/ml, 然后将 100 μl 的 HUVEC 接种于 Transwell 小室, 待单层内皮细胞层形成, 测定跨上皮电阻 (trans-epithelial electrical resistance, TER) 至稳定后, 无牛血清培养基培养 12 h。双层小室的顶室加入 FITC-albumin (溶于 D-Hank 液), 底室加入 D-Hank 液。继续培养 45 min, 吸取双层小室的顶室和底室液体, 应用荧光分光光度计, 设定激发波长 488 nm, 发射波长 525 nm, 检测各样品荧光强度值, 分析细胞通透性系数。

1.4 统计学处理 实验重复 3 次, 所得数据采用 SPSS 11.0 统计软件进行分析, 结果资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较两组是否存在差异时, 采用两独立样本均数比较的 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血液滤过前后血清中相关细胞因子含量变化

ELISA 法检测结果显示: 与滤过前相比, 滤过后血清中 TLR4、RhoA、IL-1、IL-6 和 TNF-α 含量均降低 (*t* = 4.722, *P* < 0.01; *t* = 4.168, *P* < 0.01; *t* = 6.623, *P* < 0.01; *t* = 8.141, *P* < 0.01; *t* = 6.372, *P* < 0.01)。见图 1。

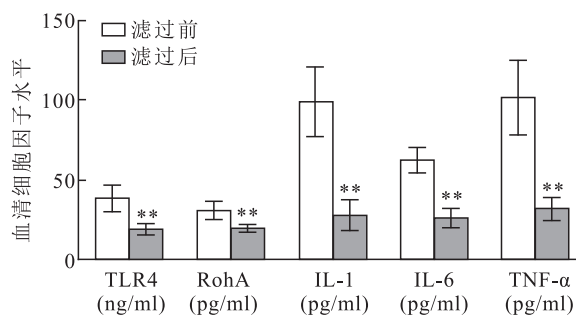


图 1 滤过前后血清中细胞因子含量变化
与同一指标滤过前比较: ** *P* < 0.01

2.2 滤过前后血清干预对细胞通透性的影响 细胞通透性检测分析结果表明,与正常组相比,滤过前血清干预组荧光强度明显增强,单层细胞通透性系数明显升高($t = 6.999, P < 0.01$);与滤过前血清干预组相比,滤过后血清干预组细胞通透性明显降低($t = 5.195, P < 0.01$)。见图2。

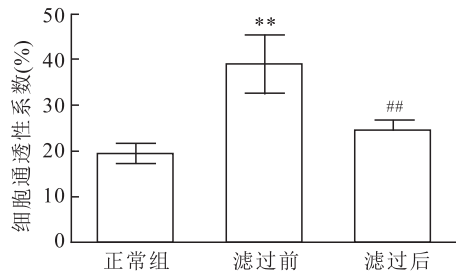


图2 滤过前后血清干预对血管内皮细胞通透性的影响
与正常组比较: ** $P < 0.01$;与滤过前比较: ## $P < 0.01$

2.3 滤过前后血清干预对 VE-cadherin 和 F-actin 表达的影响 分析结果表明,与正常组相比,滤过前血清干预组 VE-cadherin 和 F-actin mRNA 表达水平降低($t = 9.996, P < 0.01$; $t = 9.524, P < 0.01$),同时其蛋白表达也明显降低($t = 6.849, P < 0.01$; $t = 12.340, P < 0.01$)。与滤过前干预组相比,滤过后血清干预组 VE-cadherin 和 F-actin mRNA 表达水平均升高($t = 3.237, P < 0.01$; $t = 4.605, P < 0.01$),见图3。同时其蛋白表达也明显升高($t = 4.744, P < 0.01$; $t = 2.667, P < 0.01$),见图4。

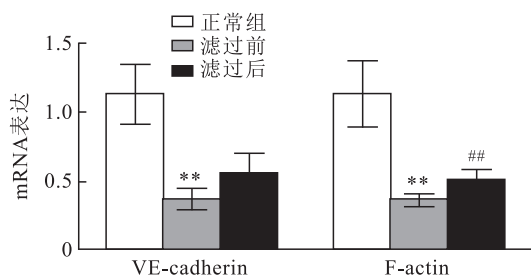


图3 滤过前后血清干预对 VE-cadherin 和 F-actin mRNA 表达的影响

与正常组比较: ** $P < 0.01$;与滤过前比较: ## $P < 0.01$

2.4 滤过前后血清干预对 TLR4 mRNA 表达的影响 与正常组相比,滤过前血清干预组 TLR4 mRNA 表达显著升高($t = 12.110, P < 0.01$);与滤过前血清干预组相比,滤过后血清干预组 TLR4 mRNA 表达显著降低($t = 8.825, P < 0.01$)。见图5。

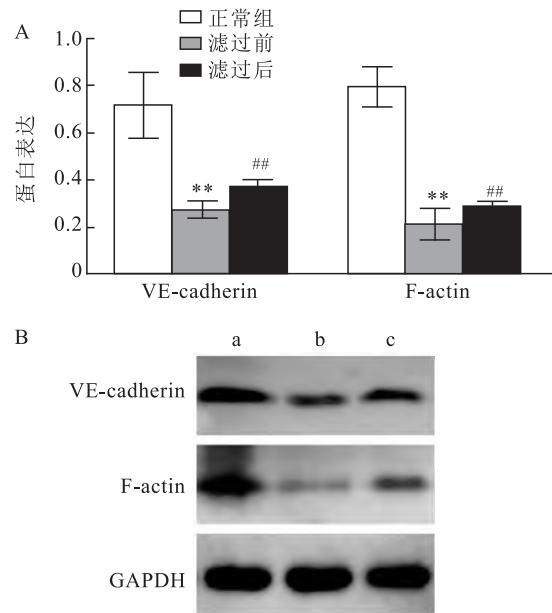


图4 滤过前后血清干预对 VE-cadherin 和 F-actin 蛋白表达的影响

A: 滤过前后血清干预对 VE-cadherin 和 F-actin 蛋白表达的影响; B: 采用 Western blot 法检测 VE-cadherin 和 F-actin 蛋白表达的条带; a: 正常组; b: 滤过前组; c: 滤过后组; 与正常组比较: ** $P < 0.01$; 与滤过前比较: ## $P < 0.01$

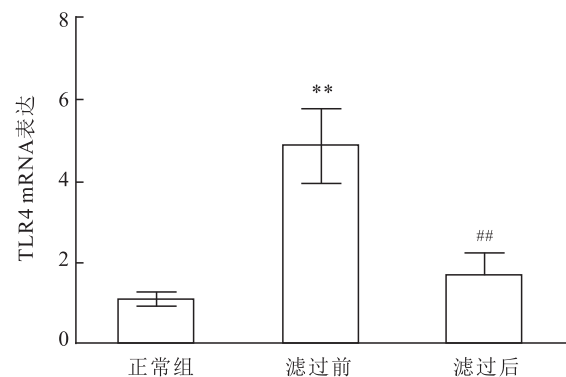


图5 滤过前后血清干预对 TLR4 mRNA 表达的影响
与正常组比较: ** $P < 0.01$;与滤过前比较: ## $P < 0.01$

2.5 滤过前后血清干预对 TLR4 和 RhoA 蛋白表达的影响 与正常组相比,滤过前血清干预组 TLR4 和 RhoA 蛋白表达升高($t = 8.117, P < 0.01$; $t = 6.037, P < 0.01$);与滤过前血清干预组相比,滤过后血清干预组 TLR4 mRNA 表达降低($t = 6.909, P < 0.01$; $t = 3.266, P < 0.01$)。见图6。

2.6 TLR4 低表达对 RhoA 及 VE-cadherin 和 F-actin 表达的影响 Real-time PCR 分析结果表明,TLR4 低表达可明显促进 VE-cadherin 和 F-actin 的 mRNA 表达,与正常组相比,差异有统计学意义($t = 11.590, P < 0.01$; $t = 13.050, P < 0.01$)。同时,

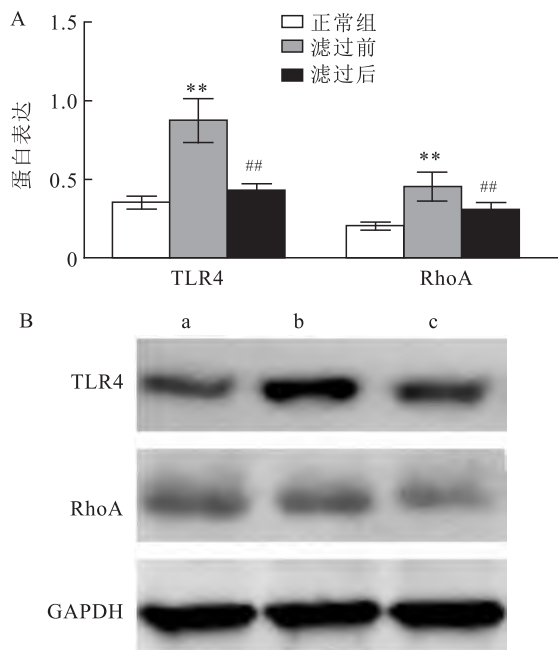


图6 滤过前后血清干预对 TLR4 和 RhoA 蛋白表达的影响
A:滤过前后血清干预对 TLR4 和 RhoA 蛋白表达的影响;B:采用 Western blot 法检测 TLR4 和 RhoA 蛋白表达的条带;a:正常组;b:滤过前组;c:滤过后组;与正常组比较: ** $P < 0.01$;与滤过前比:## $P < 0.01$

Western blot 结果也表明,TLR4 低表达可抑制 RhoA 蛋白的表达($t = 4.289, P < 0.01$),促进 VE-cadherin 和 F-actin 蛋白的表达($t = 13.278, P < 0.01; t = 3.781, P < 0.01$)。见图 7。

3 讨论

连续血液滤过治疗对于清除炎症因子,改善脓毒症患者预后方面有着积极作用,但其在脓毒症病理生理过程中发挥作用的机制尚不明确。该研究中,经连续血液滤过治疗后,脓症患者血清中 TLR4、RhoA、IL-1、IL-6 和 TNF- α 含量均显著降低,

表明该疗法能够有效清除炎症因子。使用经连续血液滤过治疗前后的脓毒症血清干预 HUVEC,结果显示滤过后血清干预组 VE-cadherin、F-actin mRNA 和蛋白表达明显升高,细胞通透性明显降低。提示通过连续血液滤过治疗可以保护血管内皮组成相关基因 VE-cadherin 和 F-actin 的表达,通过保护其结构功能,改善血管内皮细胞骨架结构,进而稳定血管内皮通透性。内皮细胞高通透性是脓毒症病理生理过程中的重要一环,这对于改善脓毒症预后有着重要意义。同时在该研究中还伴随着 TLR4 和 RhoA 表达的显著降低。

RhoA 是属于 GTPases 的 Rho 亚家族。研究^[6]表明 RhoA 可通过调节细胞骨架的重组,降低紧密连接蛋白的表达,引起血管内皮屏障功能障碍。Rho 蛋白是细胞骨架、细胞形态和运输的关键调节因子,能够在多种信号通路发挥作用。Amado-Azevedo et al^[7]发现在脓毒症患者的肺微血管内皮细胞中,RhoA 通过以 Rho GTPase 依赖性方式参与了增加黏附连接和细胞基质黏附的动力学来促进细胞回缩和间隙形成的过程。Rho 家族的小 GTPases 在肌动蛋白细胞骨架动力学的控制中发挥关键作用^[8]。Rho GTPase 及其下游效应物 Rho 激酶(Rho associated kinase,ROCK)介导的 Rho/ROCK 信号通路已被证明参与细胞黏附、运动和收缩,参与调节内皮通透性^[9]。研究^[10]显示经脂多糖处理可降低肺微血管内皮细胞中紧密连接蛋白和 VE-cadherin 的表达水平,RhoA 激活剂的应用能使连接蛋白表达减少,引起内皮屏障功能受损,RhoA 是脂多糖诱导的内皮细胞功能障碍信号通路中的关键蛋白质。

脂多糖作为一种典型的病原体相关分子模式,可以被天然免疫系统中模式识别受体识别,模式识别受体能使它们将自身组织和外来病原微生物区分开,从而针对入侵的病原体产生防御性炎症反

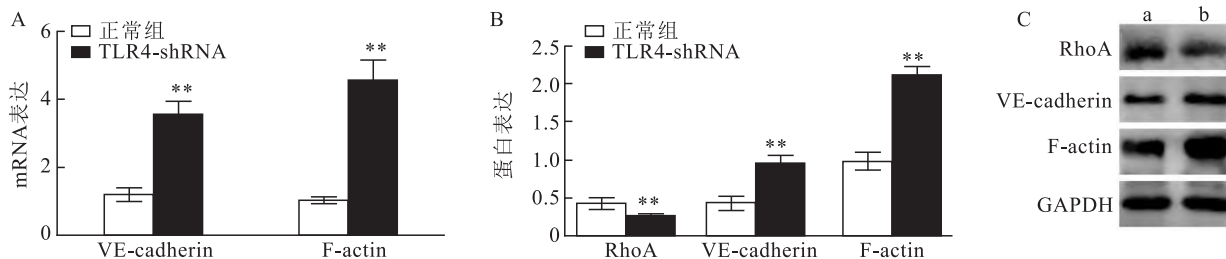


图7 TLR4 低表达对 RhoA、VE-cadherin 和 F-actin 表达的影响

A:TLR4 低表达对 VE-cadherin 和 F-actinmRNA 表达的影响;B:TLR4 低表达对 RhoA、VE-cadherin 和 F-actin 蛋白表达的影响;C:Western blot 法检测 RhoA、VE-cadherin 和 F-actin 蛋白的表达;a:正常组;b:TLR4 低表达组(TLR4-shRNA);与正常组比较: ** $P < 0.01$

应^[11]。这些受体中就包括 Toll 样受体,其在脓毒症中能够驱动内皮细胞释放细胞因子、趋化因子和促凝因子,并表达促黏附分子,引起内皮通透性增加致间质渗漏,最终导致微循环血流受损、组织灌注不足和危及生命的器官衰竭^[12]。TLR4 是 Toll 样受体家族成员,参与先天免疫并通过识别脂多糖介导炎症反应。TLR4 的过度激活触发各种炎症因子的产生,在炎症反应的诱导中起着关键作用^[13]。

该研究进一步构建了 TLR4 低表达细胞株,结果显示 TLR4 低表达可明显促进 VE-cadherin 和 F-actin 的 mRNA 和蛋白质表达,同时可抑制 RhoA 蛋白的表达,内皮通透性随之降低。TLR4/RhoA 信号通路能够影响细胞通透性相关基因 VE-cadherin 和 F-actin 的表达在脓毒症内皮细胞调节中发挥作用,而经过连续血液滤过治疗能够有效降低血液中 TLR4、RhoA 等细胞因子含量,从而影响脓毒症形成过程中的信号通路的正常转导,通过保护内皮细胞 VE-cadherin 和 F-actin 等结构以协助血管内皮功能的稳定,同时能够清除过多的 IL-1、IL-6 和 TNF- α 等炎症因子以减轻对免疫功能的破坏,从而改善脓毒症患者预后,为脓毒症的治疗提供了新思路。

参考文献

[1] Napolitano L M. Sepsis 2018: Definitions and guideline changes [J]. *Surg Infect*, 2018,19(2):117-25.
 [2] Williams F N, Lee J O. Pediatric burn infection[J]. *Surg Infect*, 2021,22(1):54-7.
 [3] Yang K, Fan M, Wang X, et al. Lactate induces vascular permeability *via* disruption of VE-cadherin in endothelial cells during sepsis[J]. *Sci Adv*, 2022,8(17):m8965.

[4] 连洁,谈滕,陈隆望,等. 血管内皮-钙黏蛋白在脓症患者病情严重程度评估中的价值[J]. *中华危重病急救医学*, 2022,34(8):808-13.
 [5] Giri H, Panicker S R, Cai X, et al. Thrombomodulin is essential for maintaining quiescence in vascular endothelial cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021,118(11):e2022248118.
 [6] Zou Y, Ma L, Zhao Y, et al. Inhibition of Rho kinase protects against colitis in mice by attenuating intestinal epithelial barrier dysfunction *via* MLC and the NF- κ B pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2017,41(1):430-8.
 [7] Amado-Azevedo J, van Stalborch A D, Valent E T, et al. Depletion of Arg/Abl2 improves endothelial cell adhesion and prevents vascular leak during inflammation [J]. *Angiogenesis*, 2021,24(3):677-93.
 [8] Filić V, Mijanović L, Putar D, et al. Regulation of the actin cytoskeleton *via* Rho GTPase signalling in dictyostelium and mammalian cells: A parallel slalom[J]. *Cells*, 2021,10(7):1592.
 [9] Abedi F, Hayes A W, Reiter R, et al. Acute lung injury: The therapeutic role of Rho kinase inhibitors [J]. *Pharmacol Res*, 2020,155:104736.
 [10] Li Y, Chen H, Shu R, et al. Hydrogen treatment prevents lipopolysaccharide-induced pulmonary endothelial cell dysfunction through RhoA inhibition [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020,522(2):499-505.
 [11] Kaur B P, Secord E. Innate immunity [J]. *Pediatr Clin North Am*, 2019,66(5):905-11.
 [12] Joffre J, Hellman J, Ince C, et al. Endothelial responses in sepsis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020,202(3):361-70.
 [13] Tsukamoto H, Takeuchi S, Kubota K, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein stimulates CD14-dependent Toll-like receptor 4 internalization and LPS-induced TBK1-IKKE-IRF3 axis activation[J]. *J Biol Chem*, 2018,293(26):10186-201.

Mechanism of TLR4/RhoA signaling pathway in endothelial cell permeability changes induced by continuous hemofiltration therapy in sepsis

Yu Huilin, Wang Jianfeng, Liu Yi, Liu Yuyao, Jiang Wei, Meng Chengying, Wang Huan, Hu Delin
 (Dept of Burn and Wound Repair, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the molecular mechanism of Toll-like receptor 4 (TLR4)/Ras homologue A (RhoA) signaling pathway involved in regulating the effect of septic serum on vascular endothelial cell permeability before and after continuous hemofiltration. **Methods** The serum of 5 patients with sepsis before and after continuous hemofiltration treatment was collected, and the levels of inflammatory cytokines in serum before and after hemofiltration were detected. Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were treated with serum before and after continuous hemofiltration for 24 hours. The expression of VE-cadherin, F-actin, TLR4 and RhoA in vascular endothelial cells were detected by Western blot. A TLR4 low expression cell line was constructed to detect the effect of

miR-381-3p 在急性髓系白血病中的表达 及对白血病细胞增殖和凋亡的影响

张红霞,王奎,吴广胜

摘要 **目的** 探讨 miR-381-3p 在急性髓系白血病(AML)中的表达、临床意义、进展与预后,以及对 AML 细胞增殖和凋亡的影响,为治疗 AML 提供理论依据。**方法** 利用生物信息学分析寻找差异性表达的 miRNAs,收集 AML 患者的临床资料和血液样本,测定纳入患者骨髓液中 miRNA 的表达水平,进一步阐明 miRNA 与 AML 的关系,并对纳入患者进行随访,计算总生存期(OS)和无病生存期(DFS);体外培养 AML 细胞,构建 miR-381-3p 的质粒,使 AML 过表达 miR-381-3p 和敲低 miR-381-3p,分为 control、miR-381 mimics、mimics NC、miR-381 inhibitor、inhibitor NC 五组,采用 CCK-8 及流式细胞术检测 AML 细胞的增殖及凋亡情况。**结果** 使用生物信息学分析发现差异性表达的 miRNAs 并最终确定 miR-381-3p 为研究分子,纳入 AML 患者共 90 例,AML 患者 miR-381 表达水平低于对照组,且各 FAB 分型患者均低于正常组;miR-381 表达水平的高低与 AML 患者的年龄、性别、外周血白细胞、淋巴细胞、FAB 分型均无关系,且高表达的 miR-381 患者 OS 及 DFS 显著延长,差异有统计学意义($P < 0.05$);体外实验表明敲低 miR-381 后,可抑制 AML 细胞的凋亡,促进增殖,当过表达 miR-381 后,可促进 AML 细胞的凋亡,抑制增殖。**结论** miR-381-3p 在 AML 患者中低表达,其过表达患者可显著延长 OS 和 DFS,miR-381-3p 可以促进

AML 细胞的凋亡,抑制增殖,有望成为治疗 AML 的靶向分子。

关键词 急性髓系白血病;miR-381-3p;预后;增殖;凋亡

中图分类号 R 557

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)07-1164-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.017

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种累积遗传突变所导致的常见血液系统恶性肿瘤^[1],发病率和病死率在所有恶性肿瘤中居第 13 位和第 9 位^[2]。AML 常导致出血、致命感染或器官侵犯^[3]。临床上对 AML 的治疗通过多药联合化疗及造血干细胞移植,但 5 年总生存率仍低于 30%^[4]。因此,有必要寻找新的生物标志物用于肿瘤的早期诊断、预后判断和治疗指导。

微小 RNA(microRNAs, miRNAs)是一种含有约 22 个核苷酸的内源性非编码小 RNA 分子,通过与靶 mRNA 的 3'-非翻译区(3'untranslated region, 3'-UTR)结合,调节转录后水平靶基因的表达,翻译抑制或 mRNA 降解参与基因沉默^[5]。在 AML 的发生发展中,miRNA 通过多种方式最终失调 miRNA 导致疾病的发生^[6]。因其高度的保守性、稳定性以及广泛存在于组织和血液中^[7],miRNAs 作为多种疾病的临床诊断和预后的生物标志物已被广泛研究^[8]。该研究旨在探讨血清 miR-381 在 AML 中的表达、临床价值及其对细胞生物学行为的调节作用,旨在为治疗 AML 的临床诊断和预后提供新的靶点。

2023-06-09 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81860374);石河子大学 2021 年兵团财政科技计划项目(编号:2021CA002);石河子大学 2021 年度自主资助支持校级科研项目(编号:ZZZC202186)

作者单位:石河子大学第一附属医院血液科,石河子 832000

作者简介:张红霞,女,硕士,副主任医师;

吴广胜,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail:hematology@126.com

TLR4 low expression on the expression of VE-cadherin, F-actin and RhoA and the permeability of endothelial cells.

Results After continuous blood treatment, the serum levels of TLR4, RhoA, interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) significantly decreased. The expression levels of VE-cadherin, F-actin, TLR4 and RhoA in the serum intervention group after continuous hemofiltration treatment significantly decreased, and the cell permeability significantly decreased. Low expression of TLR4 significantly promoted the expression of VE-cadherin and F-actin, and inhibited the expression of RhoA protein. **Conclusion** TLR4/RhoA signaling pathway is involved in the regulation of changes in vascular endothelial cell permeability induced by septic serum after continuous hemofiltration treatment.

Key words sepsis; Toll-like receptor 4; RhoA; continuous hemofiltration therapy; endothelial cell; burn