

LOXL1-AS1对OGD诱导的人脑微血管内皮细胞损伤的影响

徐 枫¹, 黎村丰², 朱观祥²

摘要: 目的 考察长链非编码RNA(lncRNA)LOXL1反义RNA1(LOXL1-AS1)对氧糖剥夺(OGD)诱导的人脑微血管内皮细胞(HBMEC)凋亡和炎性因子表达的影响与机制。方法 将HBMEC分为对照组(正常培养)、OGD组(OGD损伤)、OGD+si-NC组(转染si-NC+OGD损伤)、OGD+si-LOXL1-AS1组(转染si-LOXL1-AS1+OGD损伤)、OGD+miR-NC组(转染miR-NC+OGD损伤)、OGD+miR-761组(转染miR-761 mimic+OGD损伤)、OGD+si-LOXL1-AS1+阴性对照组(转染si-LOXL1-AS1与anti-miR-NC+OGD损伤)、OGD+si-LOXL1-AS1+miR-761抑制剂组(转染si-LOXL1-AS1与miR-761 inhibitor+OGD损伤)。RT-qPCR检测LOXL1-AS1和miR-761表达,CCK-8法检测细胞存活率,流式细胞术检测细胞凋亡,Western blotting检测B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)蛋白、Bcl-2相关X蛋白(Bax)表达,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测炎性因子白细胞介素-6(IL-6)、IL-1 β 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平。双荧光素酶报告实验检测LOXL1-AS1和miR-761的互补结合。结果 与对照组相比,OGD组HBMEC的LOXL1-AS1表达量、凋亡率、Bax表达量、IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平均升高,存活率、Bcl-2表达量减少(均P<0.05)。抑制LOXL1-AS1后,与OGD组或OGD+si-NC组相比,OGD+si-LOXL1-AS1组HBMEC的LOXL1-AS1表达量、凋亡率、Bax表达量、IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平降低,存活率、Bcl-2表达量增加(均P<0.05)。LOXL1-AS1靶向调控miR-761。过表达miR-761后,OGD+miR-761组HBMEC的存活率、Bcl-2表达量比OGD+miR-NC组增加,凋亡率、Bax表达量、IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平均比OGD+miR-NC组降低(均P<0.05)。OGD+si-LOXL1-AS1+miR-761抑制剂组HBMEC的存活率、Bcl-2表达量低于OGD+si-LOXL1-AS1+阴性对照组,凋亡率、Bax表达量、IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平高于OGD+si-LOXL1-AS1+阴性对照组(均P<0.05)。结论 抑制LOXL1-AS1表达可通过靶向上调miR-761促进OGD诱导的HBMEC细胞存活并抑制凋亡和炎性因子表达。

关键词: 人脑微血管内皮细胞; 氧糖剥夺; LOXL1-AS1; miR-761; 凋亡; 炎性因子

中图分类号:R543.5 文献标识码:A

Effects of LOXL1-AS1 on oxygen-glucose deprivation-induced injury of human brain microvascular endothelial cells
XU Feng, LI Chunfeng, ZHU Guanxinag. (Department of Clinical Laboratory, Shaoxing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shaoxing 312000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of the long non-coding RNA LOXL1 antisense RNA 1 (LOXL1-AS1) on the apoptosis and inflammatory factor expression of human brain microvascular endothelial cells (HBMECs) induced by oxygen-glucose deprivation (OGD). **Methods** HBMECs were divided into control group (normal culture), OGD group (OGD injury), OGD+si-NC group (transfection with si-NC plus OGD injury), OGD+si-LOXL1-AS1 group (transfection with si-LOXL1-AS1 plus OGD injury), OGD+miR-NC group (transfection with miR-NC plus OGD injury), OGD+miR-761 group (transfection with miR-761 mimic plus OGD injury), OGD+si-LOXL1-AS1+negative control group (transfection with si-LOXL1-AS1 and anti-miR-NC plus OGD injury), and OGD+si-LOXL1-AS1+miR-761 inhibitor group (transfection with si-LOXL1-AS1 and miR-761 inhibitor plus OGD injury). The expression of LOXL1-AS1 and miR-761 was measured by RT-qPCR. Cell viability was measured using cell counting kit-8. Cell apoptosis was determined by flow cytometry. The expression of B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) protein and Bcl-2-associated X (Bax) protein was measured by Western blotting. The levels of interleukin (IL)-6, IL-1 β , and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Dual luciferase reporter assay was used to detect the complementary binding of LOXL1-AS1 and miR-761. **Results** Compared with the control group, the OGD group showed significant increases in LOXL1-AS1 expression, the cell apoptosis rate, Bax expression, and IL-6, IL-1 β , and TNF- α levels and significant decreases in the cell survival rate and Bcl-2 expression (all P<0.05). After inhibiting LOXL1-AS1, the OGD+si-LOXL1-AS1 group showed significant decreases in LOXL1-AS1 expression, the apoptosis rate, Bax expression, and IL-6, IL-1 β , and TNF- α levels and significant decreases in the survival rate and Bcl-2 expression, compared with the OGD group and the OGD+si-NC group (all P<0.05). LOXL1-AS1 targeted the expression of miR-761. After overexpressing miR-761, the OGD+miR-761 group showed significant increases in the survival rate and Bcl-2 expression and significant decreases in the apoptosis rate, Bax expression, and IL-6, IL-1 β , and TNF- α levels, compared with the OGD+miR-NC group (all P<0.05). Compared with the OGD+si-LOXL1-AS1+negative control group, the OGD+si-LOXL1-AS1+miR-761 inhibitor group showed significantly decreased survival rate and Bcl-2 expression and significantly increased apoptosis rate, Bax expression, and IL-6, IL-1 β , and TNF- α levels (all P<0.05). **Conclusion** Inhibiting LOXL1-AS1 expression can up-regulate miR-761 to promote the survival of OGD-induced HBMECs and suppress the cells' apoptosis and expression of inflammatory factors.

Key words: Human brain microvascular endothelial cell; Oxygen-glucose deprivation; LOXL1-AS1; MiR-761; Apoptosis; Inflammatory factor

收稿日期:2023-04-30;修订日期:2023-06-30

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2023ZL727)

作者单位:(1. 绍兴市中医院检验科,浙江 绍兴 312000;2. 绍兴市中医院,浙江 绍兴 312000)

通信作者:黎村丰,E-mail:xgkzx@163.com

卒中仍然是全球第二大死亡原因,也是导致患者长期残疾的第一大原因^[1]。卒中主要分为两种类型:缺血性卒中和出血性卒中。几乎 86% 的卒中是由脑缺血引起的,这是由于血液从血块流向大脑的过程中中断,导致大脑缺氧和营养不足,最终导致原发性脑损伤^[2]。缺血性卒中是一个复杂的病理过程,其机制尚不清楚。非编码 RNA, 包括长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 和微小 RNA (microRNA, miRNA/miR), 通过不同的机制调节基因表达和功能^[3,4]。lncRNA 被报道作为 miRNA 充当竞争性内源 RNA (competing endogenous RNAs, ceRNA), 影响卒中过程^[5]。例如 lncRNA SNHG14 通过调节 miR-199b/水通道蛋白 4 轴促进缺血性脑损伤^[6], lncRNA XIST 的消耗通过 miR-362/Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶 2 轴减弱脑缺血/再灌注中的神经损伤和炎症反应^[7]。lncRNA LOXL1 反义 RNA 1 (anti-sense RNA 1, LOXL1-AS1) 位于人类染色体 15q24.1, 由 10 781 个核苷酸和 5 个外显子组成^[8]。LOXL1-AS1 通过调节 miR-590-5p 调节的 Kruppel 样锌指转录因子 6/血管内皮生长因子信号通路, 促进动脉粥样硬化进展中的血管生成^[8], 并通过靶向 miR-423-5p/赖氨酸特异性去甲基化酶 5C 轴促进骨关节炎进展^[9]。然而, LOXL1-AS1 是否在缺血性卒中中起作用仍不清楚。本研究通过 HBMEC 的氧糖剥夺 (oxygen-glucose deprivation, OGD) 来模拟缺血性卒中模型, 旨在探索 LOXL1-AS1 在缺血性卒中中的生物学功能并揭示其相关的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料 人脑微血管内皮细胞 (human brain microvascular endothelial cells, HBMEC) 及其培养基购于上海中乔新舟生物科技有限公司; 细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8)、RIPA 裂解液、白细胞介素 (interleukin, IL-6) 酶联免疫吸附测定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒、IL-1 β ELISA 试剂盒、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 试剂盒、膜联蛋白 V (annexin V)-FITC/碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 试剂盒购于上海 Beyotime 公司; si-NC、si-LOXL1-AS1、miR-NC、miR-761 mimic、anti-miR-NC、miR-761 Inhibitor 购于广州 RiboBio 公司; 兔抗 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2) 抗体、兔抗 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax) 抗体购于美国 Abcam 公司; RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit 购于美国 Thermo 公司; SYBR Green PCR Master 购于上海 Toyobo 公司; pmirGLO 质粒、Dual-Glo 荧光素酶检测试剂盒购于美国 Promega 公司。

1.2 细胞培养与 OGD 损伤 HBMEC 在包含 5% 胎牛血清、1% 内皮细胞生长因子、1% 青霉素/链霉素

的内皮细胞培养基中, 在 37 °C、5% CO₂ 气氛中生长。OGD 损伤时, 将细胞培养基替换为无糖培养基, 并在 94% N₂、5% CO₂ 和 1% O₂ 培养箱中保持。4 h 后将培养液替换为含糖培养基, 并在正常培养箱中保持 2 h^[10]。

1.3 实验分组 HBMEC 分为对照组 (正常培养)、OGD 组 (OGD 损伤)、OGD+si-NC 组 (转染 si-NC)、OGD+si-LOXL1-AS1 组 (转染 si-LOXL1-AS1)、OGD+miR-NC 组 (转染 miR-NC)、OGD+miR-761 组 (转染 miR-761 mimic)、OGD+si-LOXL1-AS1+阴性对照组 (转染 si-LOXL1-AS1 与 anti-miR-NC)、OGD+si-LOXL1-AS1+miR-761 抑制剂组 (转染 si-LOXL1-AS1 与 miR-761 Inhibitor)。转染时, 按照制造商 Invitrogen 的操作指示, 使用 Lipofectamine 2000 试剂在 HBMEC 中转染 si-NC、si-LOXL1-AS1、miR-NC、miR-761 mimic、anti-miR-NC、miR-761 inhibitor, 转染 48 h 后, 进行 OGD 损伤。实验重复 3 次。

1.4 RT-qPCR 检测 LOXL1-AS1 和 miR-761 表达

HBMEC 处理结束后, 用 TRIzol 裂解液在冰上裂解。按照 RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit 的操作流程进行逆转录反应, 将总 RNA 转化为 cDNA。按照 SYBR Green PCR Master 的操作流程进行 PCR 反应。U6 作为 miR-761 的内源对照, GAPDH 作为 LOXL1-AS1 的内源对照。2^{-ΔΔCt} 值表示基因的相对表达。LOXL1-AS1 正向引物 5'-AATTGCCCTCTGGCC TTAT-3', 反向引物 5'-GTCTCACCTCCCATTCCAA-3'; GAPDH 正向引物 5'-CATGAGAAGTATGACAACAG CCT-3', 反向引物 5'-AGTCCTTCCACGATACCAAAG T-3'; miR-761 正向引物 5'-ACAGGCAGGCACAGAC-3', 反向引物 5'-GAGCAGGCTGGAGAA-3'; U6 正向引物 5'-CTCGCTTCGGGCACGCACA-3', 反向引物 5'-AA CGCTTCACGAATTGCGT-3'。

1.5 CCK-8 法检测细胞存活率 将每组 HBMEC 接种于 96 孔板 (5×10³ 个细胞/孔), 培养 48 h。除去之前的培养基, 加入 CCK-8 和培养基混合物 (CCK-8 与培养基的比例为 1:10)。在正常培养箱中培养 1 h 后, 通过酶标仪测定培养板在 450 nm 处的吸光度 OD 值, 以实验组与对照组 OD 百分比为细胞存活率 (%)。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡 将每组 HBMEC (1×10⁶) 悬浮在结合缓冲液中, 按照 annexin V-FITC/PI 试剂盒的操作流程, 加入 5 μ l annexin V-FITC 和 5 μ l PI 试剂, 避光反应 15 min。应用 BD FACS Calibur 流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.7 Western blotting 检测 Bax、Bcl-2 蛋白表达

每组 HBMEC 处理完成后, 使用 RIPA 裂解液在冰上裂解。细胞完全裂解 30 min, 然后在 4 °C 离心机中以 14 000 r/min 离心 15 min。共取 50 μ g 总蛋白, 用 SDS-

PAGE在100 V下电泳2 h。分离的蛋白质电转移到聚偏二氟乙烯膜上。在室温下用5%脱脂奶粉密封膜1 h。然后与Bax抗体(1:1 500)、Bcl-2抗体(1:1 500)、GAPDH抗体(1:2 000)在4 °C下孵育过夜,与辣根过氧化物酶标记的抗兔二抗(1:10 000)一起孵育(室温,1 h)。使用Pierce ECL蛋白质印迹底物试剂进行X射线显影,并通过Image J分析Bax、Bcl-2蛋白的灰度值。

1.8 ELISA检测炎性因子IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平 收集HBMEC上清液,按照IL-6、IL-1 β 和TNF- α ELISA试剂盒的操作流程,进行测定,用酶标仪记录450 nm处的OD值,根据标准曲线计算IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平。

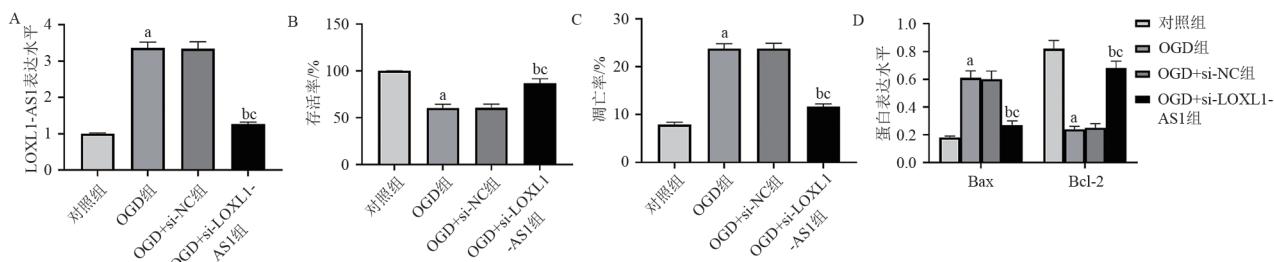
1.9 双荧光素酶报告实验检测LOXL1-AS1和miR-761的互补结合 将LOXL1-AS1的序列扩增并转移至pmirGLO质粒下游的荧光素酶基因,获得WT-LOXL1-AS1。同时根据starbase软件预测的LOXL1-AS1和miR-761结合位点,获得含有突变靶点的LOXL1-AS1片段MUT-LOXL1-AS1。使用

Lipofectamine 2000试剂将WT-LOXL1-AS1、MUT-LOXL1-AS1和miR-761 mimic、miR-NC共转染到HBMEC中。转染48 h,通过Dual-Glo荧光素酶检测试剂盒评估相对荧光素酶活性。

1.10 统计学分析 结果显示为 $\bar{x}\pm s$,采用独立样本t检验分析两组间的差异,采用单因素方差分析和SNK-q检验分析多组间的差异。

2 结果

2.1 抑制LOXL1-AS1对OGD诱导的HBMEC损伤的影响 与对照组相比,OGD组HBMEC的LOXL1-AS1表达量增加(见图1A),存活率减少(见图1B),凋亡率增加(见图2A和图1C),Bax表达量增加,Bcl-2表达量减少(见图2B和图1D,均 $P<0.05$)。抑制LOXL1-AS1后,与OGD组或OGD+si-NC组相比,OGD+si-LOXL1-AS1组HBMEC的LOXL1-AS1表达量减少(见图1A),存活率增加(见图1B),凋亡率降低(见图2A和图1C),Bax表达量减少,Bcl-2表达量增加(见图2B和图1D,均 $P<0.05$)。



注:与对照组比较a $P<0.05$;与OGD组比较b $P<0.05$;与OGD+si-NC组比较c $P<0.05$ 。

图1 抑制LOXL1-AS1对OGD诱导的HBMEC损伤的检测($n=3, \bar{x}\pm s$)

2.2 抑制LOXL1-AS1能降低OGD诱导的HBMEC中炎性因子的水平 如图3所示,与对照组相比,OGD组HBMEC的炎性因子IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平均升高(均 $P<0.05$)。抑制LOXL1-AS1后,与OGD组或OGD+si-NC组相比,OGD+si-LOXL1-AS1组HBMEC的IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平均降低(均 $P<0.05$)。

2.3 LOXL1-AS1靶向调控miR-761 Starbase软件预测的LOXL1-AS1和miR-761的互补序列见图4。miR-761组WT-LOXL1-AS1荧光素酶活性比miR-NC组减少约52.08%($P<0.05$),而MUT-LOXL1-AS1荧光素酶活性与miR-NC组无显著差异($P=0.511$)(见图5)。转染si-LOXL1-AS1的HBMEC中miR-761表达量比转染si-NC增加约1.89倍($P<0.05$)(见图6)。

2.4 miR-761对OGD诱导的HBMEC损伤炎性因子的影响 过表达miR-761后,OGD+miR-761组HBMEC的miR-761表达量比OGD+miR-NC组增加(见图7A),存活率比OGD+miR-NC组增加(见图7B),

凋亡率比OGD+miR-NC组减少(见图8A和图7C),Bax表达量比OGD+miR-NC组减少,Bcl-2表达量比OGD+miR-NC组增加(见图8B和图7D),并且IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平均比OGD+miR-NC组降低(见图7E,均 $P<0.05$)。

2.5 抑制miR-761对抑制LOXL1-AS1处理的OGD诱导的HBMEC损伤炎性因子的影响 抑制miR-761和抑制LOXL1-AS1后,OGD+si-LOXL1-AS1+miR-761抑制剂组HBMEC的miR-761表达量低于OGD+si-LOXL1-AS1+阴性对照组(见图9A),存活率低OGD+于si-LOXL1-AS1+阴性对照组(见图9B),凋亡率高于si-LOXL1-AS1+阴性对照组(见图10A和图9C),Bax表达量高于OGD+si-LOXL1-AS1+阴性对照组,Bcl-2表达量少于OGD+si-LOXL1-AS1+阴性对照组(见图10B和图9D),并且IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平均高于OGD+si-LOXL1-AS1+阴性对照组(见图9E,均 $P<0.05$)。

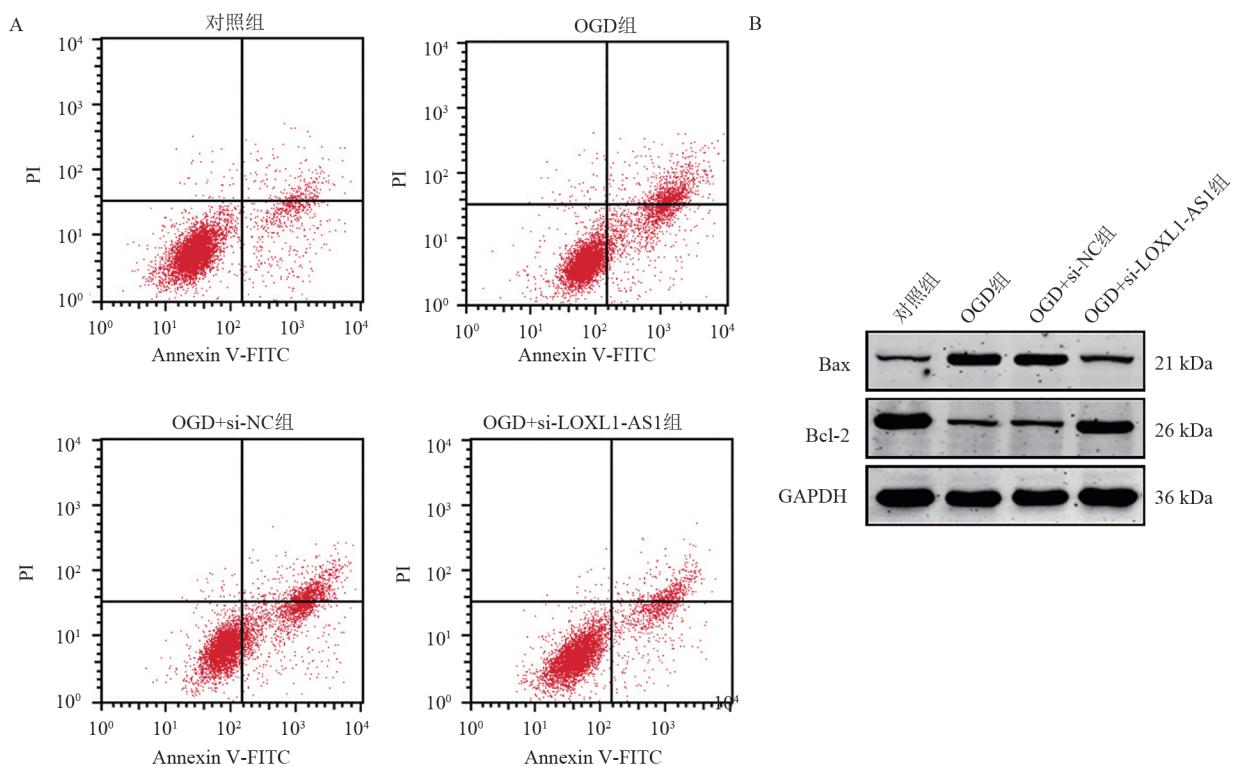
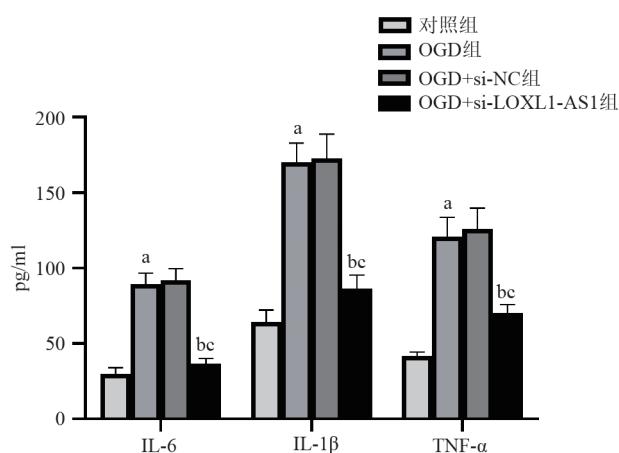


图2 抑制LOXL1-AS1对OGD诱导的人脑微血管内皮细胞凋亡及相关蛋白表达的影响



注:与对照组比较^a $P<0.05$;与OGD组比较^{bc} $P<0.05$;与OGD+si-NC组比较^c $P<0.05$ 。

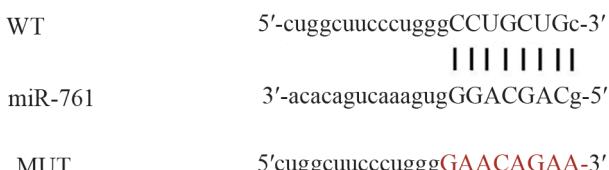
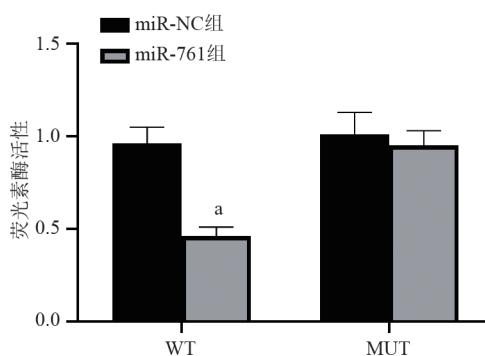
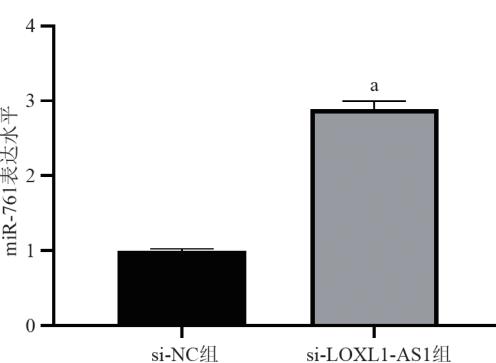
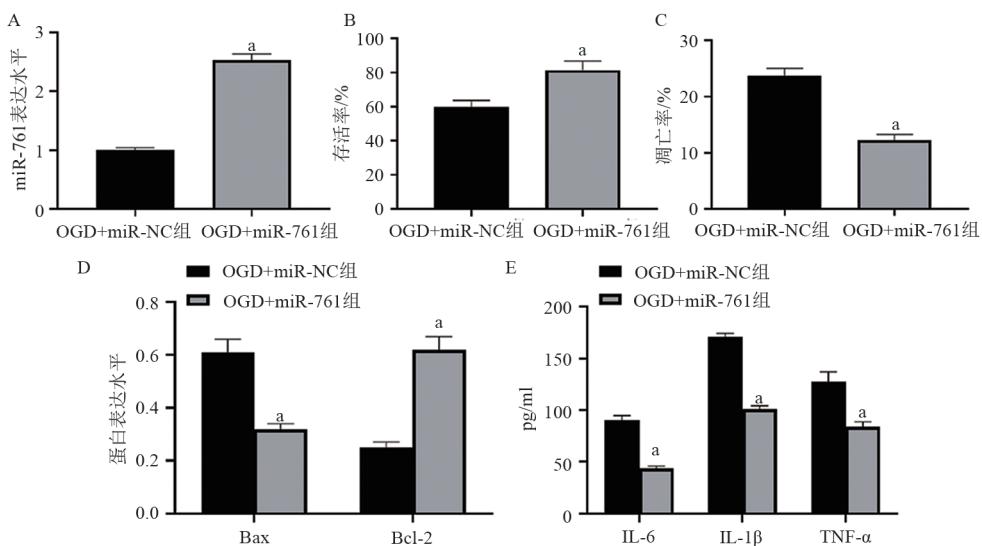
图3 抑制LOXL1-AS1对OGD诱导的HBMEC中炎性因子的检测($n=3, \bar{x} \pm s$)

图4 LOXL1-AS1和miR-761的互补序列

图5 LOXL1-AS1双荧光素酶报告实验($n=3, \bar{x} \pm s$)

注:与si-NC组比较^a $P<0.05$ 。

图6 LOXL1-AS1调控miR-761($\bar{x} \pm s, n=3$)



注:与miR-NC组比较^aP<0.05。

图7 miR-761对OGD诱导的HBMEC损伤炎性因子的检测($\bar{x}\pm s, n=3$)

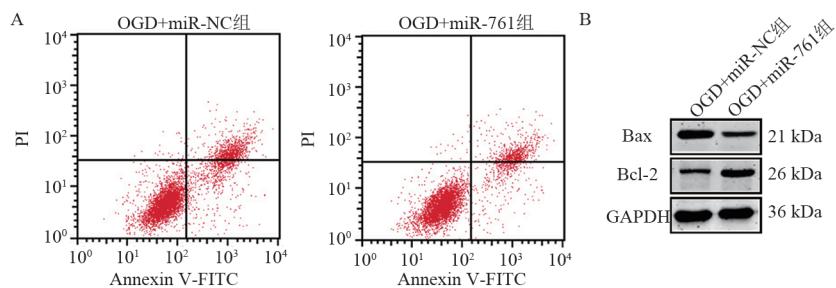
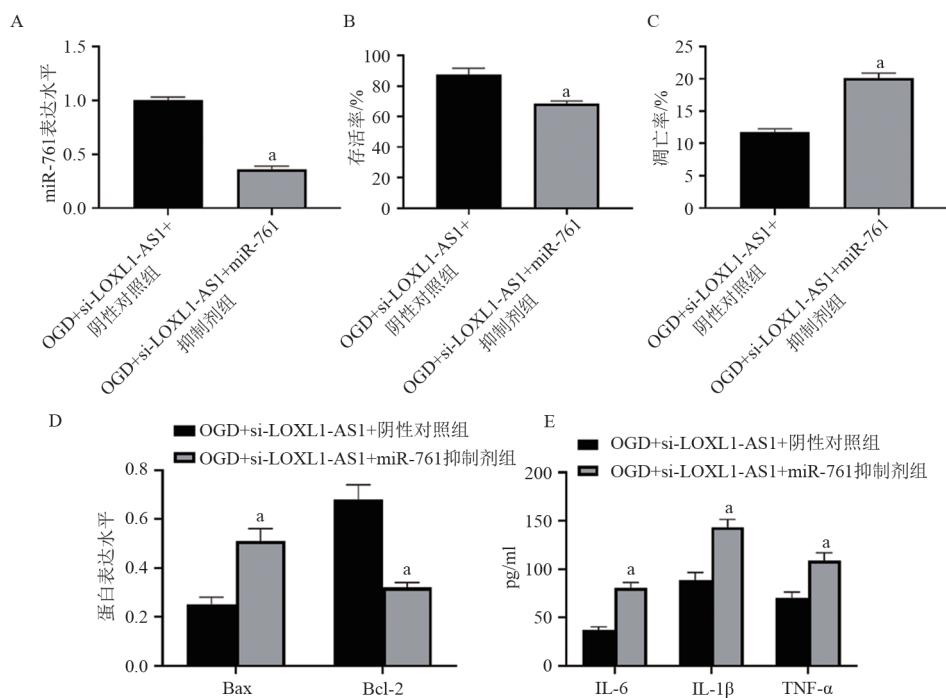


图8 miR-761对OGD诱导的人脑微血管内皮细胞凋亡及凋亡蛋白表达的影响



注:与OGD+si-LOXL1-AS1+阴性对照组比较^aP<0.05。

图9 抑制miR-761对抑制LOXL1-AS1处理的OGD诱导的HBMEC损伤炎性因子的检测($\bar{x}\pm s, n=3$)

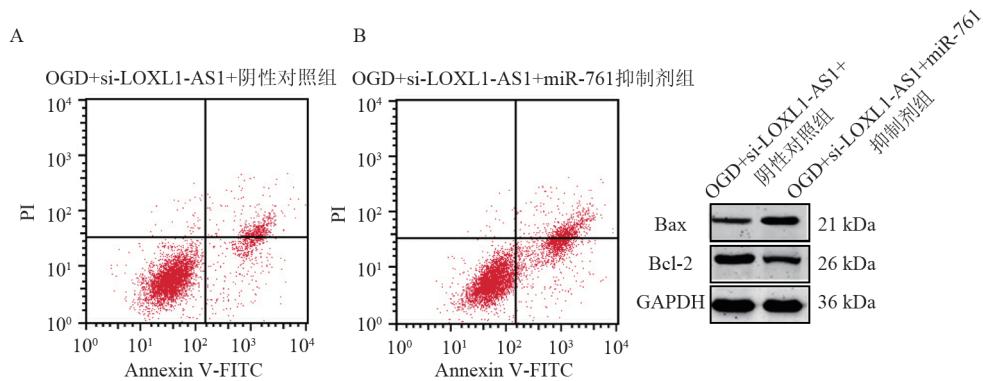


图 10 抑制 miR-761 对抑制 LOXL1-AS1 处理的 OGD 诱导的人脑微血管内皮细胞凋亡及凋亡蛋白表达的影响。

3 讨 论

缺血性脑卒中是最常见的脑血管疾病类型,是多种因素引起的脑血管循环障碍,发病机制复杂^[11]。目前,缺血性脑卒中的分子机制尚不清楚,缺乏早期诊断标志物。HBMEC 位于血液和脑实质之间,对正常的神经功能至关重要,并负责传输必需的营养物质和去除潜在的有害毒素^[12]。缺血性脑卒中导致脑微血管内皮细胞死亡,并加重神经损伤,保护脑微血管内皮细胞免受缺血性损伤可能对改善脑卒中预后具有重要意义^[13]。大量研究表明,脑组织中的炎症反应发生在多种脑部急性病变中,包括缺血性卒中。缺血性卒中后的脑损伤导致坏死和细胞凋亡,这些会驱动由细胞因子释放控制的炎症反应^[14,15]。因此本研究利用 OGD 处理 HBMEC,发现 OGD 使 HBMEC 存活降低、凋亡增加,还提升细胞炎性因子 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平,与前人研究^[10,16]吻合。

研究发现,LOXL1-AS1 在胰腺癌^[17]、肺腺癌^[18]、食管癌^[19]、胶质瘤^[20]等多种肿瘤中表达上调,促进肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭。最近的研究还证明 LOXL1-AS1 在非肿瘤疾病中具有重要作用。例如,LOXL1-AS1 在绝经后骨质疏松症患者外周血中异常高表达,它抑制人骨髓间充质干细胞的成骨分化但促进脂肪细胞分化^[21]。LOXL1-AS1 在冠心病患者中高表达,LOXL1-AS1 与 miR-16-5p 结合来下调 miR-16-5p 的表达,从而增强氧化低密度脂蛋白诱导的人冠状动脉内皮细胞焦亡^[22]。敲低 LOXL1-AS1 对增殖和迁移产生抑制作用,而加速血管平滑肌细胞和人脐静脉内皮细胞的凋亡^[23]。此外,在骨关节炎软骨组织中,LOXL1-AS1 上调,沉默 LOXL1-AS1 会阻碍软骨细胞的增殖和炎症(IL-6、IL-8 表达)^[9]。本研究发现,与对照组相比,OGD 处理的 HBMEC 显示出增加的 LOXL1-AS1 水平,提示 LOXL1-AS1 可能在 OGD 介导的 HBMEC 炎症和凋亡中发挥潜在作用。抑制 LOXL1-AS1 可增加 OGD 诱导的 HBMEC 存活,并减轻凋亡和炎性因子 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平,

表明抑制 LOXL1-AS1 可以促进细胞存活、减轻凋亡并减弱炎性因子水平,从而改善 OGD 诱导的 HBMEC 损伤。

本研究进一步考察了 LOXL1-AS1 发挥作用的机制。前人已发现 LOXL1-AS1 可充当海绵 miRNA 的 ceRNA,例如 miR-28-5p^[24]、miR-708-5p^[25]、miR-21^[26]。本研究发现,LOXL1-AS1 直接与 HBMEC 中的 miR-761 结合。miR-761 在急性心肌梗死和缺氧/复氧诱导的 HL-1 细胞中下调,miR-761 过表达减轻了缺氧/复氧诱导的 HL-1 细胞损伤^[27]。miR-761 保护心肌细胞免受过氧化氢和缺血/再灌注诱导的细胞凋亡和心肌梗死的影响^[28]。miR-761 在动脉粥样硬化中以自噬依赖性方式抑制泡沫细胞形成并减少致动脉粥样硬化炎症细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 的产生^[29]。然而尚未报道 miR-761 与缺血性卒中之间的关联。本研究证明,过表达 miR-761 促进 OGD 处理的 HBMEC 的存活,抑制细胞凋亡和炎性因子水平。表明 miR-761 对缺血性卒中的潜在保护效果。此外,抑制 miR-761 可以逆转抑制 LOXL1-AS1 对 OGD 诱导的 HBMEC 存活、凋亡和炎性因子的影响,表明抑制 miR-761 逆转了抑制 LOXL1-AS1 的保护作用。总之,这些数据证明 LOXL1-AS1 通过在 OGD 处理的 HBMEC 中靶向 miR-761,调节细胞存活、凋亡和炎性因子水平。

综上所述,本研究发现抑制 LOXL1-AS1 可增强 OGD 诱导的 HBMEC 存活,并抑制凋亡和炎性因子水平,保护细胞损伤,其机制可能与靶向上调 miR-761 表达有关。这有助于更好的理解 LOXL1-AS1 和 miR-761 在缺血性卒中的作用,二者可能是治疗卒中的候选靶点。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明: 徐枫负责设计论文框架、起草论文;黎村丰负责实验操作、研究过程的实施;朱观祥负责数据收集、统计学分析、绘制图表;徐枫负责论文修改、拟定写作思路、指导撰写文章并最后定稿。

[参考文献]

- [1] Herpich F, Rincon F. Management of acute ischemic stroke [J]. Crit Care Med, 2020, 48(11):1654-1663.
- [2] Nozohouri S, Sifat AE, Vaidya B, et al. Novel approaches for the delivery of therapeutics in ischemic stroke [J]. Drug Discov Today, 2020, 25(3):535-551.
- [3] Dai X, Yi M, Wang D, et al. Changqin NO. 1 inhibits neuronal apoptosis via suppressing GAS5 expression in a traumatic brain injury mice model [J]. Biol Chem, 2019, 400(6):753-763.
- [4] Alishahi M, Ghadrahmati F, Kolagar TA, et al. Long non-coding RNAs and cell death following ischemic stroke [J]. Metab Brain Dis, 2019, 34(5):1243-1251.
- [5] Li S, Cao Y, Zhang H, et al. Construction of lncRNA-mediated ceRNA network for investigating immune pathogenesis of ischemic stroke [J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(9):4758-4769.
- [6] Zhang G, Li T, Chang X, et al. Long noncoding RNA SNHG14 promotes ischemic brain injury via regulating miR-199b/AQP4 axis [J]. Neurochem Res, 2021, 46(5):1280-1290.
- [7] Wang J, Fu Z, Wang M, et al. Knockdown of XIST attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury through regulation of miR-362/ROCK2 axis [J]. Neurochem Res, 2021, 46(8):2167-2180.
- [8] Cheng X, Liu Z, Zhang H, et al. Inhibition of LOXL1-AS1 alleviates oxidative low-density lipoprotein induced angiogenesis via downregulation of miR-590-5p mediated KLF6/VEGF signaling pathway [J]. Cell Cycle, 2021, 20(17):1663-1680.
- [9] Chen K, Fang H, Xu N. LncRNA LOXL1-AS1 is transcriptionally activated by JUND and contributes to osteoarthritis progression via targeting the miR-423-5p/KDM5C axis [J]. Life Sci, 2020, 258:118095.
- [10] 张业昊, 苗 兰, 张 鹏, 等. 黄芩苷对缺氧复氧损伤的人脑微血管内皮细胞炎性反应及TLR4/NF-κB信号通路的影响 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(19):4686-4691.
- [11] Fu J, Yu Q, Xiao J, et al. Long noncoding RNA as a biomarker for the prognosis of ischemic stroke: a protocol for meta-analysis and bioinformatics analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(17):e25596.
- [12] Teng H, Li M, Qian L, et al. Long non-coding RNA SNHG16 inhibits the oxygen-glucose deprivation and reoxygenation-induced apoptosis in human brain microvascular endothelial cells by regulating miR-15a-5p/bcl-2 [J]. Mol Med Rep, 2020, 22(4):2685-2694.
- [13] Zhang M, Tang M, Wu Q, et al. LncRNA DANCR attenuates brain microvascular endothelial cell damage induced by oxygen-glucose deprivation through regulating of miR-33a-5p/XBP1s [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(2):1778-1791.
- [14] Maida CD, Norrito RL, Daidone M, et al. Neuroinflammatory mechanisms in ischemic stroke: focus on cardioembolic stroke, background, and therapeutic approaches [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(18):6454.
- [15] 张 鑫, 薛 慧, 孟天予, 等. 姜黄素对急性缺血性脑卒中小鼠 MCP-1 和 CCR2 水平的影响 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2023, 40(4):345-349.
- [16] Tan L, Wang L, Liu J, et al. Circvrk1 downregulation attenuates brain microvascular endothelial cell damage induced by oxygen-glucose deprivation through modulating the miR-150-5p/MLLT1 axis [J]. Exp Brain Res, 2023, 241(3):781-791.
- [17] Liu Y, Guo C, Li F, et al. LncRNA LOXL1-AS1/miR-28-5p/SEMA7A axis facilitates pancreatic cancer progression [J]. Cell Biochem Funct, 2020, 38(1):58-65.
- [18] Li W, Zhang B, Jia Y, et al. LncRNA LOXL1-AS1 regulates the tumorigenesis and development of lung adenocarcinoma through sponging miR-423-5p and targeting MYBL2 [J]. Cancer Med, 2020, 9(2):689-699.
- [19] Li H, Chu J, Jia J, et al. LncRNA LOXL1-AS1 promotes esophageal squamous cell carcinoma progression by targeting DESC1 [J]. J Cancer, 2021, 12(2):530-538.
- [20] Yi B, Li H, Cai H, et al. LOXL1-AS1 communicating with TIAR modulates vasculogenic mimicry in glioma via regulation of the miR-374b-5p/MMP14 axis [J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(2):475-490.
- [21] Zhang L, Xie H, Li S. LncRNA LOXL1-AS1 controls osteogenic and adipocytic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in postmenopausal osteoporosis through regulating the miR-196a-5p/Hmg2 axis [J]. J Bone Miner Metab, 2020, 38(6):794-805.
- [22] Song B, Dang H, Dong R. Differential expression of LOXL1-AS1 in coronary heart disease and its regulatory mechanism in ox-LDL-induced human coronary artery endothelial cell pyroptosis [J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2023, 37(1):75-87.
- [23] Xie Q, Li F, Shen K, et al. LOXL1-AS1/miR-515-5p/STAT3 positive feedback loop facilitates cell proliferation and migration in atherosclerosis [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2020, 76(2):151-158.
- [24] Wang J, Huang H, Zhang X, et al. LOXL1-AS1 promotes thymoma and thymic carcinoma progression by regulating miR-525-5p-HSP49 [J]. Oncol Rep, 2021, 45(6):117.
- [25] Sun Q, Li J, Li F, et al. LncRNA LOXL1-AS1 facilitates the tumorigenesis and stemness of gastric carcinoma via regulation of miR-708-5p/USF1 pathway [J]. Cell Prolif, 2019, 52(6):e12687.
- [26] Bai H, Li X, Wu S. Up-regulation of long non-coding RNA LOXL1-AS1 functions as an oncogene in cervical squamous cell carcinoma by sponging miR-21 [J]. Arch Physiol Biochem, 2023, 129(1):143-147.
- [27] Xiang X, Zheng L, Li X. Silencing of long noncoding RNA zinc finger antisense 1 protects against hypoxia/reoxygenation-induced injury in HL-1 cells through targeting the miR-761/cell death inducing p53 target 1 axis [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2020, 76(5):564-573.
- [28] Long B, Wang K, Li N, et al. miR-761 regulates the mitochondrial network by targeting mitochondrial fission factor [J]. Free Radic Biol Med, 2013, 65:371-379.
- [29] Wang C, Yang W, Liang X, et al. microRNA-761 modulates foam cell formation and inflammation through autophagy in the progression of atherosclerosis [J]. Mol Cell Biochem, 2020, 474(1/2):135-146.

引证本文:徐 枫,黎村丰,朱观祥. LOXL1-AS1对OGD诱导的人脑微血管内皮细胞损伤的影响 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2023, 40(9):832-838.