

DOI: 10.13376/j.cblls/2020049

文章编号: 1004-0374(2020)04-0387-09

miR-146a的功能及其靶基因的研究进展

谭俊龙^{1,2}, 郑明霞^{1,2}, 刘湘宁^{1,2,3}, 王晓刚^{1,3*}

(1 暨南大学附属第一医院, 广州 510632; 2 暨南大学口腔医学院, 广州 510632; 3 暨南大学口腔交叉学科临床研究平台, 广州 510632)

摘要: 微小 RNA (microRNA, miRNA) 是小分子非编码 RNA 中的一类, 可与靶 mRNA 结合, 降解或抑制该 mRNA 进行翻译, 进而对细胞的生长、增殖、衰老等过程进行调控。miRNA-146a (miR-146a) 与炎症因子所致的自身免疫性疾病以及肿瘤的侵袭和转移相关, 其失调往往导致病情的加重。然而, 目前相关疾病常用的临床诊断指标和治疗药物缺乏特异性。现以 miR-146a 为切入点, 为寻找相关的自身免疫性疾病以及肿瘤更加精准的早期诊断指标和治疗靶点提供线索。

关键词: miR-146a; 自身免疫性疾病; 肿瘤; 靶基因

中图分类号: Q522; R392; R73 **文献标志码:** A

Advances in the function and target genes of miR-146a

TAN Jun-Long^{1,2}, ZHENG Ming-Xia^{1,2}, LIU Xiang-Ning^{1,2,3}, WANG Xiao-Gang^{1,3*}

(1 The First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2 College of Stomatology, Jinan University, Guangzhou 510632, China;

3 Clinical Research Platform for Interdiscipline of Stomatology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: MicroRNAs (miRNAs) are a class of small noncoding RNAs that can regulate various cellular processes (e.g., growth, proliferation, and aging) by binding to target mRNAs, thereby causing their degradation or inhibiting their translation. miRNA-146a (miR-146a) is associated with autoimmune diseases caused by inflammatory factors as well as with tumor cell invasion and metastasis. The dysregulation of miR-146a often leads to the aggravation of these diseases. However, the clinical diagnostic indicators and therapeutic drugs that are commonly used for these diseases lack specificity. In this review, miR-146a was used as an entry point to identify more accurate indicators for the early diagnosis of autoimmune diseases and tumors and their therapeutic targets.

Key words: miR-146a; autoimmune diseases; tumors; target genes

1 miR-146a基因定位

第一份有关人类 miR-146a (*Homo sapiens* miR-146a, hsa-miR-146a) 的报道来自 Taganov 等^[1] 的研究, 这是继 Lagos-Quintana 等^[2] 在小鼠中发现这种 miRNA 四年后发表的。

hsa-miR-146a 位于第 5 号染色体的 LOC28628 基因中的第二个外显子区。成熟 hsa-miR-146a 的序列为: UGAGAACUGAAUCCAUGGGUU^[3]。此外, 研究表明 miR-146a 在脊椎动物中高度保守。

miR-146a 主要通过 NF- κ B (nuclear factor kappa-B,

NF- κ B) 相关通路的靶基因进行调控, 进而影响细胞的代谢, 特别是影响炎症反应的进程。另外, 在肿瘤组织中, miR-146a 可通过与侵袭相关的靶基因结合, 降低其侵袭性, 还可通过靶向凋亡相关基因, 如表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor,

收稿日期: 2019-07-26; 修回日期: 2019-10-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(81770873, 81722031);

广东省自然科学基金项目(2018A030313614); 2018年度
国家级大学生创新创业训练计划项目(201810559023)

*通信作者: E-mail: xiaogangwang@buaa.edu.cn

EGFR)、肿瘤坏死因子受体相关蛋白 6 (tumor necrosis factor receptor associated factor 6, TRAF6) 等促进肿瘤细胞凋亡。

由此可见, 对 miR-146a 的靶基因进行研究不仅能深入了解炎症反应机制, 还能探讨将 miR-146a 作为某些肿瘤治疗靶点的可能性。因此, miR-146a 是未来的研究重点之一。

2 miR-146a的功能及信号网络

miR-146a 是首个被发现可在免疫系统中通过炎性因子负向调控免疫炎症反应的 miRNA, 其在机体中的正常表达有利于对炎症的控制^[1,4]。

另外, miR-146a 也参与肿瘤的侵袭以及转移过程。在某些肿瘤中, miR-146a 水平的升高可延缓肿瘤的转移或恶化程度。同时, 在另一些病例中也发现, miR-146a 水平的降低可提示病情恶化。

2.1 miR-146a与炎性相关疾病

在免疫相关疾病中, miR-146a 的功能主要与 NF- κ B 信号转导有关。miR-146a 水平在自身免疫性疾病中的变化或 miR-146a 基因敲除, 都可影响通路相关蛋白的表达, 从而对疾病的发展进程产生影响。

2.1.1 miR-146a与系统性红斑狼疮

干扰素调节因子 5 (interferon regulatory factor-5, IRF5) 和信号转导及转录激活蛋白 1 (signal transducer and activator of transcription 1, STAT1) 是影响系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 病程进展的重要因素。miR-146a 通过靶向作用于 IRF5 和 STAT1 影响干扰素 (interferon, IFN) 信号转导, 该过程与 SLE 疾病相关。此外, miR-146a 可下调巨噬细胞中 TRAF6、白细胞介素 -1 受体相关激酶 (IL-1 receptor associated kinase, IRAK1) 和 IRAK2 的表达, 以影响这些细胞中 I 型 IFN 的产生^[5]。

浆细胞样树突细胞 (plasmacytoid dendritic cell, pDC) 同样在 SLE 发展中起关键作用, 因为它们能够在 TLR7/9 刺激后分泌大量 I 型 IFN^[6]。pDC 中的 TLR7/9 被刺激时, miR-146a 水平上调, 说明 miR-146a 可影响 pDC 的存活。

在 CAL-1 pDC 细胞系中: 一方面, miR-146a 的过表达可引发 CAL-1 pDC 细胞凋亡, 并降低 pDC 促进 CD4⁺ T 细胞进行增殖的能力^[7]; 另一方面, I 型 IFN 通过上调单核细胞趋化蛋白诱导蛋白 1 (monocyte chemotactic protein-1-induced protein 1, MCP-1) 来抑制 miR-146a 的成熟, 导致 SLE 患者

出现炎症基因的过表达^[8]。

2.1.2 miR-146a与类风湿关节炎

研究表明, miR-146a 可通过 TLR4/NF- κ B 信号通路导致类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA)。在类风湿性关节炎患者中, miR-146a 的低水平表达和成纤维样滑膜细胞 (fibroblast-like synoviocyte, FLS) 的增殖, 以及成纤维细胞生长因子、COX-2、PGE2、MMP-3 和 Seprase 蛋白的水平升高相关^[9]。在 TLR4/NF- κ B 信号通路中, TLR4 与其配体结合后, 分别通过独立于髓系分化因子 -88 (MyD88) 和依赖于 MyD88 途径激活 NF- κ B, 促进 iNOS mRNA 表达和 NO 释放, 从而促进炎症反应^[10-14]。同时, NF- κ B 的自分泌和旁分泌可促进细胞外基质聚集, 并诱导包括 MMP-3 在内的相关基质金属蛋白酶、COX-2、PGE2 和 Seprase 蛋白的合成^[15-19]。因此, TLR4/NF- κ B 途径激活可直接和间接地促进组织纤维化生长因子的表达 (图 1)。而 miR-146a 通过下调 TLR4/NF- κ B 来抑制成纤维细胞样滑膜细胞的增殖, 从而达到减轻类风湿性关节炎病理学反应的效果。

miR-146a 的缺失促进了 FLS 的增殖和 FLS 中 TRAF6 的表达^[20]。另外, 有研究证明, 抑制 TRAF6

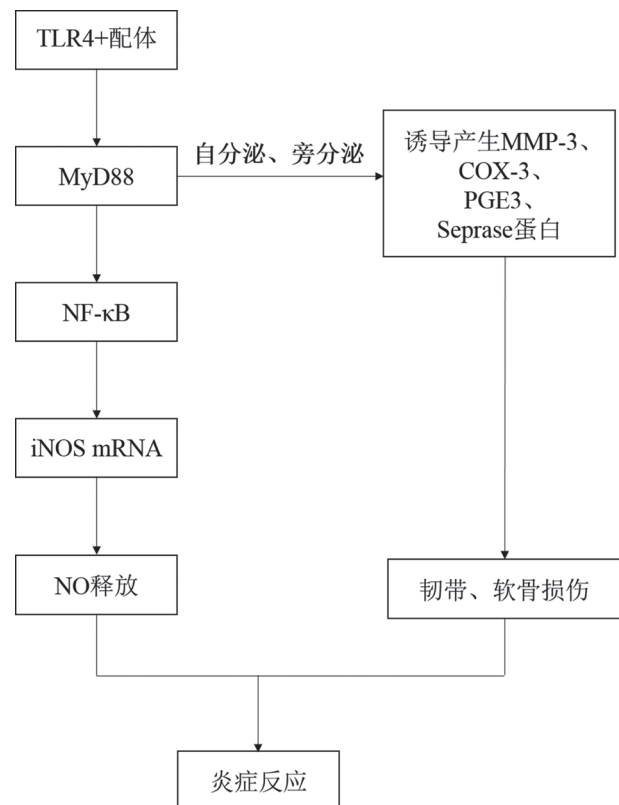


图1 TLR4/NF- κ B引起关节损伤的作用机制^[9-18]

可以减少 RA-FLS 的细胞增殖, 但不促进 RA-FLS 的细胞凋亡, 表明 TRAF6 参与 RA-FLSs 增殖的过程^[21]。

2.1.3 miR-146a与骨关节炎

miR-146a 是在软骨中最早发现的与骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 相关的 microRNA 之一。然而, 其在 OA 发病机制中的作用存在争议。一些研究表明其在软骨稳态中具有破坏性作用, 如在软骨细胞中, miR-146a 可通过抑制 TGF- β 信号通路来促进 OA 的发生^[22]; 相反, 另一些研究表明 miR-146a 在 OA 中起抗炎作用^[23-24]。

一方面, 骨关节炎的相关研究发现敲除小鼠的 miR-146a 可缓解关节软骨退化, 并证明 miR-146a 能诱导促炎细胞因子的生成, 抑制软骨基质相关基因表达。研究还进一步确定了钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II δ (Camk2d) 和蛋白磷酸酶 3 调节亚基 B, β 同工酶 (Ppp3r2, 也称为神经钙蛋白 B, II 型) 是 miR-146a 调节软骨稳态的关键靶点。利用 miR-146a 抑制剂治疗后的骨关节炎小鼠关节软骨的损伤程度明显减轻。软骨细胞中的 miR-146a 通过促炎细胞因子刺激以 NF- κ B 依赖性方式产生, 并靶向与软骨合成代谢相关的 Camk2d 和 Ppp3r2, 以破坏软骨稳态, 同时抑制下游的活化 T 细胞核因子 (nuclear factor of activated T cells, NFAT) 途径的激活^[25-28]。

而另一方面, 在小鼠以及人关节软骨表面的关节软骨细胞中, Notch1 受体高度表达, 而且 Notch 信号通路已被证明与软骨稳态和 OA 发展有关^[29-30]。对 Notch1 受体的研究发现, miR-146a 可通过在衰老或创伤期间抑制 Notch1/IL-6 来防止关节软骨变性, 保护关节软骨。同时还发现, miR-146a 敲除个体的软骨变性由 Notch1 介导, 且 miR-146a 过表达可以预防老化和创伤相关的 OA^[31-32]。该保护机制似乎涉及 miR-146a 对 Notch1、IL-6 和 IL-1 信号转导的抑制。

研究发现, miR-146a 水平在炎症时可发生改变, 且其水平受到人关节软骨细胞机械负荷的调节^[31]。当 miR-146a 在软骨组织中过度表达或 Notch1 抑制剂关节内给药时, 都可减轻 IL-1 β 诱导的关节破坏并减少 miR-146a 缺陷小鼠的关节变性, 表明 miR-146a 可通过抑制 Notch 信号来防止 OA 发病^[30-31, 33]。

另有研究发现, 与 miR-146a 未敲除的小鼠骨髓来源的巨噬细胞 (BMDM) 相比, miR-146a 敲除

小鼠的 BMDM 中的 TRAF6 和 IRAK1 的表达显著上调。miR-146a 通过 NF- κ B 引发炎症信号通路的负反馈效应, 直接下调促炎因子, 使得 IL 和 TNF 表达降低。在 miR-146a 缺陷型 BMDMs 中, IL-1 β 水平远高于正常小鼠的细胞, 即使没有单钠尿酸盐 (MSU) 刺激, miR-146a 基因的缺失也可导致自身免疫表型异常并加重炎症反应^[34]。这说明即使没有发生痛风, 如果出现 miR-146a 的缺失, 也能使得自身免疫表型异常而加重炎症反应。除了可靶向 TRAF6、IRAK1, 有研究发现 miR-146a 还能靶向 IRAK2, 抑制 BMDM 中 RIG-I 依赖性 I 型 IFN 的产生^[6]。

研究表明, 单核细胞通过促进炎症反应和骨侵蚀在关节炎的发病中发挥关键作用。miR-146a 还是唯一被报道可在细菌入侵机体时, 差异性调节经典的高表达 Ly6C 单核细胞亚群和非经典低表达 Ly6C 单核细胞亚群的细胞因子应答的 miRNA, 最终负向调节单核细胞的炎症反应和破骨细胞分化^[35]。

2.2 miR-146a与肿瘤发展研究

研究人员一直致力于研究肿瘤的发生发展机制以寻求治疗肿瘤的新方法。目前, 以 miRNA 为基础的肿瘤研究已成为肿瘤研究的新领域。许多证据表明, miR-146a 参与了多种癌症的细胞侵袭和转移过程, 通过对靶基因进行调控, miR-146a 在癌症中发挥重要的生物学作用, 与肿瘤的病理分期、分化差异和远处转移均有关。

2.2.1 miR-146a与骨肉瘤

在骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 中, 有研究通过鉴定 miR-146a 的靶基因, 并确定锌指蛋白 3/ 环指蛋白 3 (zinc and ring finger 3, ZNRF3) 为 OS 细胞中 miR-146a 的直接靶点, 且骨肉瘤的大小和复发率与 miR-146a 的表达呈负相关^[36]。研究指出, ZNRF3 的过表达通过抑制 GSK-3 β / β -连环蛋白信号转导抑制细胞生长, 还表明 miR-146a 可以作为肿瘤抑制剂, 或作为 OS 患者的潜在诊断指标。

2.2.2 miR-146a与胃癌

miR-146a 是胃癌治疗研究中的重点。胃癌组织样品的临床分析显示, 癌变组织的 miR-146a 表达水平显著低于非癌变组织, 且出现 miR-146a 水平降低的患者具有更高的淋巴结转移率和静脉侵入率 (即发生淋巴道转移和血行转移) 以及更低的总生存率^[1, 6, 37-38]。Kogo 等^[38] 的体外研究证明 miR-146a 能够靶向 IRAK1 和 EGFR, 并以此减缓癌细

胞迁移和侵袭。在胃癌组织中, IRAK1 处于 NF- κ B 的上游并参与癌症进展^[39-41]。EGFR 则通过使 NF- κ B 磷酸化激活 NF- κ B^[42]。

有研究通过 Transwell 测定和小鼠模型得出了相似的结果, 并发现了 L1 细胞黏附分子 (L1CAM) 可作为参与肿瘤转移调控的新型 miR-146a 靶标^[43-44]。

针对 miR-146a 水平对胃癌的影响, 有研究确定了两个新的 miR-146a 靶标, 即半胱天冬酶募集结构域家族成员 10 (caspase recruitment domain family member 10, CARD10) 和信号转导蛋白亚基 8 (COPS8), 发现 miR-146a 通过直接靶向和下调 CARD10 和 COPS8 的表达来抑制 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptor, GPCR) 介导的 NF- κ B 活化, 且 miR-146a 过表达还可导致 COPS2 的表达降低^[45]。

另外, Wiskott-Aldrich 综合征蛋白家族成员 2 (WASF2), 一种参与肌动蛋白聚合的蛋白, 对于肿瘤的转移起到关键作用。研究表明, 当 miR-146a 水平降低时, 该蛋白在胃癌组织中表达上调, 进而影响肿瘤的转移^[46]。

2.2.3 miR-146a 与肝癌

肝癌作为一种高发的恶性肿瘤, 其进展速度较快, 且容易发生转移。近几年对肝癌的研究不仅集中在其治疗上, 还针对其转移的抑制。miR-146a 在肿瘤中的表达与肿瘤的侵袭和转移有关, 肝细胞癌

(HCC) 患者中可见这种 miRNA 下调^[47-48]。miR-146a 模拟物转染 HCC 细胞, 可以靶向 EGFR 和 TRAF6, 促进细胞凋亡, 进而抑制细胞的生长、增殖和侵袭^[49-50]。miR-146a 启动子的 DNA 甲基化与其表达下降和肝癌转移相关, 而且 miR-146a 可通过直接抑制环指域蛋白 1 (ubiquitin-like ringfinger domains, UHRF1), 或通过上调腺瘤息肉病 (adenomatous polyposis coli, APC) 基因来抑制血管内皮生长因子 (VEGF) 表达, 甚至靶向 HAb18G 下调 NF- κ B 积累, 从而抑制 HCC 细胞的侵袭和转移^[51](图 2)。

2.3 基于 miR-146a 的治疗

许多 miR-146a 相关疾病的研究以 miR-146a 的作用机制和靶点作为切入点, 对相关基因如 IRAK1、IRAK4 和 TRAF6 等进行抑制以达到治疗目的。

miR-146a 是 IRAK1 和 TRAF6 的内源性阻遏物, 已被证明可抑制 NF- κ B 活性及其靶基因的表达, 包括 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF α ^[39,55]。miR-146a 递送到心肌中可降低 IRAK1 的表达, 与未经转染的小鼠相比, miR-146a 在多种微生物败血症的小鼠模型中可以预防心脏功能障碍^[56-57]。同时, 有研究使用 IRAK4 或 IRAK1/4 双重抑制剂治疗 SLE, 发现不仅能减轻疾病的症状, 还能使微生物感染的风险降低^[58-60]。2017 年, 一项研究报道, IRAK1 在 SLE 患者的外周血单核细胞 (PBMCs) 中过度表达和过

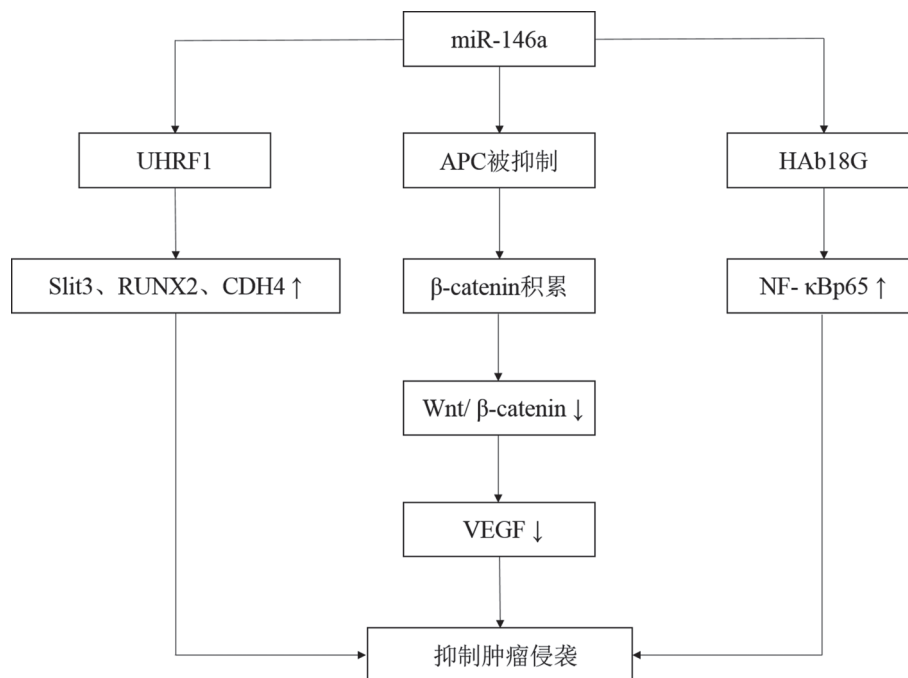


图2 miR-146a影响肝细胞癌侵袭性的作用机制^[51-54]

度活化, IRAK1/4 抑制剂可显著减轻 SLE 小鼠模型中的炎症反应和肾损伤。此外, 使用 IRAK1/4 抑制剂或 IRAK1 小干扰 RNA (siRNA) 可以降低 SLE 患者 PBMC 中 NF- κ B 磷酸化水平^[61]。

对于类风湿性关节炎的相关治疗, 有研究以 miR-146a 对 IRAK1 和 IRAK4 的抑制作用为关键进行药物研发。对 IRAK4 进行抑制以及在下游阻断白介素 -6 受体的 Sarilumab 的临床效用表明, 其对类风湿性关节炎的治疗是有效的。具有选择性抗 IRAK1 的药物 Pacritinib (SB1578) 已被证明在小鼠胶原诱导的关节炎模型中具有显著的活性。该药物在健康志愿者 (NCT01235871) 中的 I 期安全性研究已经完成^[62]。另外, 针对难治性类风湿性关节炎的 IRAK4 抑制剂 Pf-06650833 正处于开发阶段^[63]。

另外, 在肝纤维化的大鼠模型中, miR-146a 的下调与纤维化进展相关。在人肝星状细胞系 (HSC) 中, miRNA-146a 的过表达可下调 IRAK1 和 TRAF6, 从而抑制细胞增殖和活化^[64]。

有研究表明, miR-146a 是 NF- κ B 活化的负调节因子, 调节 NF- κ B 活化信号转导对于控制炎症介导的肿瘤发展是重要的^[45,65-66]。

胃癌治疗的临床试验表明, 药物靶向 EGFR 有助于胃癌患者康复^[67-68]。EGFR 不仅通过 NF- κ B 的磷酸化激活 Raf-MEK-ERK 和 PI3K-PDK1-Akt 信号转导, 而且还激活 NF- κ B^[42], 因此使用 miRNA 靶向 EGFR 治疗胃癌可能是有希望的治疗方法。对于肝细胞癌的治疗, 用 IRAK1/4 抑制剂 I 治疗可使肝肿瘤数量降低至与正常组相似的水平^[69], Pacritinib 还可预防纤维化并降低肝细胞坏死标记物细胞角蛋白 18 的血清水平, 提示抑制 IRAK1 可能有利于预防癌前纤维化^[70]。

在其他肿瘤的治疗上, miR-146a 也表现为提高肿瘤细胞对药物的敏感度。有研究表明, 与紫杉醇或是 miR-146a 单独使用相比, miR-146a 与紫杉醇同时使用, 有利于促进卵巢瘤细胞发生凋亡^[71]。同时, 针对非小细胞型肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 的相关治疗研究发现, miR-146a 可增强癌细胞对顺铂的敏感性^[72-73]。

目前, 针对 miR-146a 设计的药物主要是针对其靶点 IRAK1 和 IRAK4, 以达到减轻炎症反应的作用。但目前关于 miR-146a 靶点的研究发现, 对 IRAK1/4 进行抑制虽可较好地控制炎症反应, 但也能引发某些细胞, 如 CAL-1 pDC 发生凋亡, 进而

增加感染的风险。对于这种现象, 采取局部用药或是针对 IRAK1 上游进行控制也许是个更好的思路。因此, 对 miR-146a 的治疗靶点进行更为深入的探究, 弄清楚其作用途径, 有利于研发副作用低的药物, 通过精准作用于靶基因, 增加相关药物疗效的可控性。对于肿瘤的治疗, miR-146a 更多的是作为治疗辅助诊断指标。

3 miR-146a主要靶基因及验证方式

现有文献报道 miR-146a 的主要靶基因如表 1 所示, miR-146a 与其靶基因的调控关系均得到了多种体外实验的验证。但值得关注的是, 目前仍缺乏体内证据证明 miR-146a 对其靶基因的调控作用, 因此有必要通过体内实验证实 miR-146a 与其靶基因的调控关系, 进而加深对 miR-146a 功能的认识。

4 展望

miR-146a 靶基因种类繁多, 调节机制复杂, 其功能主要集中在炎症因子的产生和肿瘤的侵袭与转移上。综合考虑目前已测定的 miR-146a 靶点及其功能, 对于自身免疫性疾病, miR-146a 的产生和作用靶点都与 NF- κ B 信号通路密切相关。其中, 其在类风湿关节炎中以 TLR4 为靶点, 抑制成纤维细胞样滑膜细胞的增殖, 并通过抑制 NF- κ B 通路, 减轻因 NO 释放、COX-2 及相关金属基质蛋白酶的合成所引起的炎症反应。另外在 SLE 中, IRF5 和 STAT1 作为 miR-146a 的靶基因, 影响干扰素的信号转导, 以此为靶点进行干预或治疗, 有利于在早期对疾病进行诊断和控制, 以防止其恶化。在肿瘤中, miR-146a 通常靶向多个基因, 其中大多数为原癌基因, 如 ZNRF3、IRAK1、TRAF6 等, miR-146a 可靶向这些基因以达到抑制细胞增殖, 降低肿瘤侵袭性的效果。

许多关于 miR-146a 靶基因的研究都进行了体外实验, 但若进行进一步的体内实验验证, 会有更高的可靠性或是临床价值, 如对于 IRF5、STAT1 等靶基因的研究。

在未来的研究中, 可更多地把关注点放在 miR-146a 对靶基因作用机制的深入研究中。目前可以发现 miR-146a 在很多研究中都涉及多条信号通路。故对其机制的深入研究, 不仅有利于对相关疾病进行诊断, 而且有利于针对性地对这些疾病中潜在的治疗靶点进行药物研究, 或是调整治疗方案。

表1 miR-146a的靶基因和验证方式

靶基因	验证方式	验证模型	种属	参考文献
TRAF6	Luciferase, microarray, Western Blot, Affymetrix微阵列	小鼠骨髓细胞、巨噬细胞、膝关节组织、miR-146a敲除小鼠、单核细胞、肝癌细胞、人单核细胞THP-1细胞、人外周血单核细胞	人、小鼠	[26,34,50]
Notch1	qRT-PCR, Luciferase, Western Blot	小鼠和人软骨细胞	人、小鼠	[31,74]
ZNRF3	qRT-PCR, Luciferase, Western Blot	MG-63和HOS细胞系的人骨肉瘤组织、miR-146a敲除小鼠	人、小鼠	[36]
IRAK1	qRT-PCR, Western Blot, Luciferase	小鼠骨髓来源的巨噬细胞(BMDM)、miR-146a敲除小鼠	小鼠	[34,75]
Hab18G	qRT-PCR, Western Blot, Luciferase	人HCC细胞系和组织、小鼠SMMC-7721细胞、野生型小鼠Huh-7细胞	人、小鼠	[51]
RelB	qRT-PCR、微阵列杂交	小鼠Ly6C高单核细胞、小鼠Ly6C低单核细胞、NK细胞、粒细胞、T细胞和B细胞、破骨细胞祖细胞	小鼠	[35]
Camk2d	Luciferase, qPCR, mRNA微阵列	miR-146a敲除小鼠软骨细胞	小鼠	[28]
Ppp3r	Luciferase, qPCR, mRNA微阵列	miR-146a敲除小鼠软骨细胞	小鼠	[28]
Tgif1	Luciferase, qPCR, mRNA微阵列	miR-146a敲除小鼠软骨细胞	小鼠	[28]
TLR4	Luciferase, RT-qPCR, ELISA, Western Blot	人RA-FLS细胞、大鼠RA-FLS细胞	人、大鼠	[9]
WASF2	qRT-PCR, Western Blot	四种GC细胞系(MKN-45, SGC-7901, MGC-803和HGC-27)	人	[46]
CARD10	<i>In situ</i> hybridization, Luciferase, qPCR	SNU638人胃癌细胞、小鼠胃癌细胞	人、小鼠	[45]
COPS8	<i>In situ</i> hybridization, Luciferase, qPCR	SNU638人胃癌细胞、小鼠胃癌细胞	人、小鼠	[45]
EGFR	RT-qPCR, Western Blot, Luciferase, 双荧光染色质染色	人PC细胞系: AsPC-1, BxPC-3, COLO-357, L3.6pl, PANC-1, PANC-28, MIAPaCa-2, MIAPaCa-2-GR; 小鼠: Pdx1-Cre (KC), LSL-K-Ras G12D Pdx1-Cre; INK4a/Arf (KCI)	人、小鼠	[76]
IRF5	qRT-PCR, Luciferase, Western Blot	人外周血单核细胞、SMMC-7721细胞、293T/ISRE细胞	人	[5]
STAT1	qRT-PCR, Luciferase, Western Blot	人外周血单核细胞、SMMC-7721细胞、293T/ISRE细胞	人	[5]
Smad4	qPCR, Luciferase, Western Blot	小鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)	小鼠	[77]
Plk2	MEEBO (Mouse Exonic-Evidence Based-Oligonucleotide)微阵列芯片、qRT-PCR, Luciferase	小鼠谱系阴性骨髓细胞(iin -BMC)、小鼠内皮祖细胞(EPC)	小鼠	[78]
LICAM	qRT-PCR, Western Blot, Luciferase	人胃癌细胞系MKN-45	人	[44]

[参 考 文 献]

- [1] Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, et al. NF- κ B-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 12481-6
- [2] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, et al. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol*, 2002, 12: 735-9
- [3] Nakasa T, Miyaki S, Okubo A, et al. Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Rheum*, 2008, 58: 1284-92
- [4] Taganov KD, Boldin MP, Baltimore D. MicroRNAs and immunity: tiny players in a big field. *Immunity*, 2007, 26: 133-7
- [5] Tang Y, Luo X, Cui H, et al. MicroRNA-146A contributes to abnormal activation of the type I interferon pathway in human lupus by targeting the key signaling proteins. *Arthritis Rheumatol*, 2009, 60: 1065-75
- [6] Hou J, Wang P, Lin L, et al. MicroRNA-146a feedback inhibits RIG-I-dependent type I IFN production in macrophages by targeting TRAF6, IRAK1, and IRAK2. *J Immunol*, 2009, 183: 2150-8
- [7] Karrich JJ, Jachimowski LC, Libouban M, et al. MicroRNA-146a regulates survival and maturation of human plasmacytoid dendritic cells. *Blood*, 2013, 122: 3001-9
- [8] Qu B, Cao J, Zhang F, et al. Type I interferon inhibition of microRNA-146a maturation through up-regulation of monocyte chemotactic protein-induced protein 1 in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67: 3209-18
- [9] Liu W, Wu YH, Zhang L, et al. MicroRNA-146a suppresses rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes proliferation and inflammatory responses by inhibiting the TLR4/NF- κ B signaling. *Oncotarget*, 2018, 9: 23944-59
- [10] Dasari P, Nicholson IC, Zola H. Toll-like receptors. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2008, 22: 17-26
- [11] Krum SA, Chang J, Miranda-Carboni G, et al. Novel functions for NF- κ B: inhibition of bone formation. *Nat Rev Rheumatol*, 2010, 6: 607-11
- [12] Li M, Yu L, She T, et al. Astragaloside IV attenuates Toll-like receptor 4 expression via NF- κ B pathway under high glucose condition in mesenchymal stem cells. *Eur J Pharmacol*, 2012, 696: 203-9
- [13] Pauley KM, Satoh M, Chan AL, et al. Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10: R101
- [14] Hsu CC, Lien JC, Chang CW, et al. Yuwen02f1 suppresses LPS-induced endotoxemia and adjuvant-induced arthritis primarily through blockade of ROS formation, NF- κ B and MAPK activation. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85: 385-95
- [15] Almodovar R, Rios V, Ocana S, et al. Association of biomarkers of inflammation, cartilage and bone turnover with gender, disease activity, radiological damage and sacroiliitis by magnetic resonance imaging in patients with early spondyloarthritis. *Clin Rheumatol*, 2014, 33: 237-41
- [16] Lepenies J, Eardley KS, Kienitz T, et al. Renal TLR4 mRNA expression correlates with inflammatory marker MCP-1 and profibrotic molecule TGF- β 1 in patients with chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract*, 2011, 119: c97-c104
- [17] Mahale A, Othman MW, Al Shahwan S, et al. Altered expression of fibrosis genes in capsules of failed Ahmed glaucoma valve implants. *PLoS One*, 2015, 10: e0122409
- [18] Mentlein R, Hattermann K, Hemion C, et al. Expression and role of the cell surface protease seprase/fibroblast activation protein- α (FAP- α) in astroglial tumors. *Biol Chem*, 2011, 392: 199-207
- [19] Tsai MH, Lin ZC, Liang CJ, et al. Eupafolin inhibits PGE2 production and COX2 expression in LPS-stimulated human dermal fibroblasts by blocking JNK/AP-1 and Nox2/p47^{phox} pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 279: 240-51
- [20] Saferding V, Puchner A, Goncalves-Alves E, et al. MicroRNA-146a governs fibroblast activation and joint pathology in arthritis. *J Autoimmun*, 2017, 82: 74-84
- [21] Zhu LJ, Yang TC, Wu Q, et al. Tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF) 6 inhibition mitigates the pro-inflammatory roles and proliferation of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Cytokine*, 2017, 93: 26-33
- [22] Li J, Huang J, Dai L, et al. miR-146a, an IL-1 β responsive miRNA, induces vascular endothelial growth factor and chondrocyte apoptosis by targeting Smad4. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14: R75
- [23] Gu SX, Li X, Hamilton JL, et al. MicroRNA-146a reduces IL-1 dependent inflammatory responses in the intervertebral disc. *Gene*, 2015, 555: 80-7
- [24] Li X, Gibson G, Kim JS, et al. MicroRNA-146a is linked to pain-related pathophysiology of osteoarthritis. *Gene*, 2011, 480: 34-41
- [25] Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1: 11-21
- [26] Boldin MP, Taganov KD, Rao DS, et al. miR-146a is a significant brake on autoimmunity, myeloproliferation, and cancer in mice. *J Exp Med*, 2011, 208: 1189-201
- [27] Soderling TR, Stull JT. Structure and regulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinases. *Chem Rev*, 2001, 101: 2341-52
- [28] Zhang X, Wang C, Zhao J, et al. miR-146a facilitates osteoarthritis by regulating cartilage homeostasis via targeting Camk2d and Ppp3r2. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e2734
- [29] Karlsson C, Brantsing C, Egell S, et al. Notch1, Jagged1, and HES5 are abundantly expressed in osteoarthritis. *Cells Tissues Organs*, 2008, 188: 287-98
- [30] Liu Z, Chen J, Mirando AJ, et al. A dual role for NOTCH signaling in joint cartilage maintenance and osteoarthritis. *Sci Signal*, 2015, 8: ra71
- [31] Guan YJ, Li J, Yang X, et al. Evidence that miR-146a attenuates aging- and trauma-induced osteoarthritis by inhibiting Notch1, IL-6, and IL-1 mediated catabolism.

- Aging Cell, 2018, 17: e12752
- [32] Quillard T, Charreau B. Impact of notch signaling on inflammatory responses in cardiovascular disorders. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 6863-88
- [33] Hosaka Y, Saito T, Sugita S, et al. Notch signaling in chondrocytes modulates endochondral ossification and osteoarthritis development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 1875-80
- [34] Zhang QB, Qing YF, Yin CC, et al. Mice with miR-146a deficiency develop severe gouty arthritis via dysregulation of TRAF 6, IRAK 1 and NALP3 inflammasome. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20: 45
- [35] Ammari M, Presumey J, Ponsolles C, et al. Delivery of miR-146a to Ly6C^{high} monocytes inhibits pathogenic bone erosion in inflammatory arthritis. *Theranostics*, 2018, 8: 5972-85
- [36] Zhou C, Jiang CQ, Zong Z, et al. miR-146a promotes growth of osteosarcoma cells by targeting ZNRF3/GSK-3 β / β -catenin signaling pathway. *Oncotarget*, 2017, 8: 74276-86
- [37] Bhaumik D, Scott GK, Schokrpur S, et al. MicroRNAs miR-146a/b negatively modulate the senescence-associated inflammatory mediators IL-6 and IL-8. *Aging (Albany NY)*, 2009, 1: 402-11
- [38] Kogo R, Mimori K, Tanaka F, et al. Clinical significance of miR-146a in gastric cancer cases. *Clin Cancer Res*, 2011, 17: 4277-84
- [39] Bhaumik D, Scott GK, Schokrpur S, et al. Expression of microRNA-146 suppresses NF- κ B activity with reduction of metastatic potential in breast cancer cells. *Oncogene*, 2008, 27: 5643-7
- [40] Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, et al. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 7269-74
- [41] Li Y, Vandenboom TG, 2nd, Wang Z, et al. miR-146a suppresses invasion of pancreatic cancer cells. *Cancer Res*, 2010, 70: 1486-95
- [42] Sethi G, Ahn KS, Chaturvedi MM, et al. Epidermal growth factor (EGF) activates nuclear factor- κ B through I κ B α kinase-independent but EGF receptor-kinase dependent tyrosine 42 phosphorylation of I κ B α . *Oncogene*, 2007, 26: 7324-32
- [43] Hou Z, Xie L, Yu L, et al. MicroRNA-146a is down-regulated in gastric cancer and regulates cell proliferation and apoptosis. *Med Oncol*, 2012, 29: 886-92
- [44] Hou Z, Yin H, Chen C, et al. microRNA-146a targets the L1 cell adhesion molecule and suppresses the metastatic potential of gastric cancer. *Mol Med Rep*, 2012, 6: 501-6
- [45] Crone SG, Jacobsen A, Federspiel B, et al. microRNA-146a inhibits G protein-coupled receptor-mediated activation of NF- κ B by targeting CARD10 and COPS8 in gastric cancer. *Mol Cancer*, 2012, 11: 71-71
- [46] Yao Q, Cao Z, Tu C, et al. MicroRNA-146a acts as a metastasis suppressor in gastric cancer by targeting WASF2. *Cancer Lett*, 2013, 335: 219-24
- [47] Karakatsanis A, Papaconstantinou I, Gazouli M, et al. Expression of microRNAs, miR-21, miR-31, miR-122, miR-145, miR-146a, miR-200c, miR-221, miR-222, and miR-223 in patients with hepatocellular carcinoma or intrahepatic cholangiocarcinoma and its prognostic significance. *Mol Carcinog*, 2013, 52: 297-303
- [48] Rong M, He R, Dang Y, et al. Expression and clinicopathological significance of miR-146a in hepatocellular carcinoma tissues. *Ups J Med Sci*, 2014, 119: 19-24
- [49] Huang S, He R. Synergistic effect of miR-146a mimic and cetuximab on hepatocellular carcinoma cells. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 384121
- [50] Zu Y, Yang Y, Zhu J, et al. MiR-146a suppresses hepatocellular carcinoma by downregulating TRAF6. *Am J Cancer Res*, 2016, 6: 2502-13
- [51] Zhang Z, Zhang Y, Sun XX, et al. microRNA-146a inhibits cancer metastasis by downregulating VEGF through dual pathways in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer*, 2015, 14: 5
- [52] Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling in development and disease. *Cell*, 2006, 127: 469-80
- [53] Harris ES, Nelson WJ. Adenomatous polyposis coli regulates endothelial cell migration independent of roles in β -catenin signaling and cell-cell adhesion. *Mol Biol Cell*, 2010, 21: 2611-23
- [54] Zhou L, Zhao X, Han Y, et al. Regulation of UHRF1 by miR-146a/b modulates gastric cancer invasion and metastasis. *FASEB J*, 2013, 27: 4929-39
- [55] Li L, Chen XP, Li YJ. MicroRNA-146a and human disease. *Scand J Immunol*, 2010, 71: 227-31
- [56] Gao M, Wang X, Zhang X, et al. Attenuation of cardiac dysfunction in polymicrobial sepsis by microRNA-146a is mediated via targeting of IRAK1 and TRAF6 expression. *J Immunol*, 2015, 195: 672-82
- [57] Thomas JA, Haudek SB, Koroglu T, et al. IRAK1 deletion disrupts cardiac Toll/IL-1 signaling and protects against contractile dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285: H597-606
- [58] Jacob CO, Zhu J, Armstrong DL, et al. Identification of IRAK1 as a risk gene with critical role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 6256-61
- [59] Nanda SK, Lopez-Pelaez M, Arthur JS, et al. Suppression of IRAK1 or IRAK4 catalytic activity, but not type 1 IFN signaling, prevents lupus nephritis in mice expressing a ubiquitin binding-defective mutant of ABIN1. *J Immunol*, 2016, 197: 4266-73
- [60] Singer JW, Fleischman A, Al-Fayoumi S, et al. Inhibition of interleukin-1 receptor-associated kinase 1 (IRAK1) as a therapeutic strategy. *Oncotarget*, 2018, 9: 33416-39
- [61] Li M, Yu D, Ni B, et al. Interleukin-1 receptor associated kinase 1 is a potential therapeutic target of anti-inflammatory therapy for systemic lupus erythematosus. *Mol Immunol*, 2017, 87: 94-101
- [62] William AD, Lee AC, Poulsen A, et al. Discovery of the macrocycle (9E)-15-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethoxy)-7,12,25-trioxa-19,21,24-triaza-tetracyclo[18.3.1.1(2,5).1(14,18)]hexacos-1(24),2,4,9,14(26),15,17,20,22-nonaene

- (SB1578), a potent inhibitor of janus kinase 2/fms-like tyrosine kinase-3 (JAK2/FLT3) for the treatment of rheumatoid arthritis. *J Med Chem*, 2012, 55: 2623-40
- [63] Madan B, Goh KC, Hart S, et al. SB1578, a novel inhibitor of JAK2, FLT3, and c-Fms for the treatment of rheumatoid arthritis. *J Immunol*, 2012, 189: 4123-34
- [64] Zou Y, Cai Y, Lu D, et al. MicroRNA-146a-5p attenuates liver fibrosis by suppressing profibrogenic effects of TGF β 1 and lipopolysaccharide. *Cell Signal*, 2017, 39: 1-8
- [65] Baud V, Karin M. Is NF- κ B a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8: 33-40
- [66] Sasaki N, Morisaki T, Hashizume K, et al. Nuclear factor- κ B p65 (RelA) transcription factor is constitutively activated in human gastric carcinoma tissue. *Clin Cancer Res*, 2001, 7: 4136-42
- [67] Arkenau HT. Gastric cancer in the era of molecularly targeted agents: current drug development strategies. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2009, 135: 855-66
- [68] Han SW, Oh DY, Im SA, et al. Phase II study and biomarker analysis of cetuximab combined with modified FOLFOX6 in advanced gastric cancer. *Br J Cancer*, 2009, 100: 298-304
- [69] Li W, Xiao J, Zhou X, et al. STK4 regulates TLR pathways and protects against chronic inflammation-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Invest*, 2015, 125: 4239-54
- [70] Al-Fayoumi S, Hashiguchi T, Shirakata Y, et al. Pilot study of the antifibrotic effects of the multikinase inhibitor pacritinib in a mouse model of liver fibrosis. *J Exp Pharmacol*, 2018, 10: 9-17
- [71] Cui Y, She K, Tian D, et al. miR-146a inhibits proliferation and enhances chemosensitivity in epithelial ovarian cancer via reduction of SOD2. *Oncol Res*, 2016, 23: 275-82
- [72] Shi L, Xu Z, Wu G, et al. Up-regulation of miR-146a increases the sensitivity of non-small cell lung cancer to DDP by downregulating cyclin J. *BMC Cancer*, 2017, 17: 138
- [73] Yuwen DL, Sheng BB, Liu J, et al. MiR-146a-5p level in serum exosomes predicts therapeutic effect of cisplatin in non-small cell lung cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21: 2650-8
- [74] Mei J, Bachoo R, Zhang CL. MicroRNA-146a inhibits glioma development by targeting Notch1. *Mol Cell Biol*, 2011, 31: 3584-92
- [75] Tan J, Chen H, Liu Q, et al. A meta-analysis of the effectiveness and safety of using tranexamic acid in primary unilateral total knee arthroplasty. *J Surg Res*, 2013, 184: 880-7
- [76] Ali S, Ahmad A, Aboukameel A, et al. Deregulation of miR-146a expression in a mouse model of pancreatic cancer affecting EGFR signaling. *Cancer Lett*, 2014, 351: 134-42
- [77] Kuang W, Zheng L, Xu X, et al. Dysregulation of the miR-146a-Smad4 axis impairs osteogenesis of bone mesenchymal stem cells under inflammation. *Bone Res*, 2017, 5: 17037
- [78] Deng S, Wang H, Jia C, et al. MicroRNA-146a induces lineage-negative bone marrow cell apoptosis and senescence by targeting polo-like kinase 2 expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37: 280-90