

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202222084

· 论著 ·

miR-205-5p 靶向 HMGB1/TLR4 途径 对变应性鼻炎免疫功能的作用研究

匡玉婷, 胡彬雅, 赵斯君, 黄敏, 吴雄辉, 龙松良, 张梦萍, 郑立春

(湖南省儿童医院耳鼻咽喉头颈外科, 湖南长沙 410007)

摘要: **目的** 研究微小 RNA-205-5p (miR-205-5p) 靶向高迁移率族蛋白 B1/Toll 样受体 4 (HMGB1/TLR4) 途径改善变应性鼻炎 (AR) 免疫功能的作用。**方法** 选取 60 只雄性大鼠, 分为正常对照组 (A 组)、变应性鼻炎组 (B 组)、变应性鼻炎 + miR-205-5p agomir 组 (C 组)、变应性鼻炎 + miR-205-5p antagomir 组 (D 组) 共 4 组, 每组各 15 只, A 组不做任何处理, B、C、D 组均采用卵清白蛋白鼻腔强化致敏建立 AR 模型。模型建立完成后, C 组尾部注射 300 μ g miR-205-5p agomir, D 组尾部注射 miR-205-5p antagomir, A、B 组均注射生理盐水。1 周后评价各组行为学、免疫相关指标 [干扰素- γ (IFN- γ)、白介素-2 (IL-2)、白介素-4 (IL-4)、白介素-10 (IL-10)、免疫球蛋白 E (IgE)]、鼻黏膜炎性反应、上皮细胞间紧密连接、内质网形态及紧密连接蛋白、HMGB1/TLR4 途径蛋白表达量。miR-205-5p 与 TLR4 的靶向关系使用双荧光素酶报告实验分析。**结果** 4 组行为学评分、IL-4、IgE、HMGB1、TLR4、NF- κ B 表达量、紧密连接宽度从低到高分别为 A 组 < B 组 < C 组 < D 组; IFN- γ 、IL-2、IL-10、紧密连接蛋白表达量从低到高分别为 D 组 < C 组 < B 组 < A 组, 且各组之间比较, 差异均具有统计学意义 (P 均 < 0.05)。双荧光素酶报告结果表明 miR-205-5p 可与 TLR4 靶向结合。**结论** miR-205-5p 可靶向 HMGB1/TLR4 途径抑制 Th1/Th2 失衡所引起的 AR 免疫障碍, 加强鼻黏膜屏障功能, 从而减少变应原的入侵, 缓解 AR 相关症状, 对 AR 的治疗产生积极作用。

关键词: 微小 RNA-205-5p; 高迁移率族蛋白 B1/Toll 样受体 4; 变应性鼻炎; 免疫功能

中图分类号: R765.21

Effect of miR-205-5p targeting HMGB1/TLR4 pathway on immune function in allergic rhinitis

KUANG Yuting, HU Binya, ZHAO Sijun, HUANG Min, WU Xionghui, LONG Songliang, ZHANG Mengping, ZHENG Lichun
(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Hunan Provincial Children's Hospital, Changsha 410007, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of microma-205-5p (mir-205-5p) targeting high mobility group protein B1/toll like receptor 4 (HMGB1/TLR4) pathway on immune function of allergic rhinitis (AR). **Methods** Sixty male rats were selected and divided into normal control group (group A), AR group (group B), AR + miR-205-5p agomir group (group C), AR + miR-205-5p antagomir group (group D) with 15 rats in each group. The rats of group A did not receive any treatment, while those of group B, C, and D were sensitized with ovalbumin nasal enhancement sensitization to establish AR model. After model establishment, 300 μ g of miR-205-5p agomir and miR-205-5p antagomir were injected into the tail of rats of group C and group D respectively, and normal saline into both group A and group B. One week later, the behavioral, immune-related indexes [including interferon- γ (IFN- γ), interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10), immunoglobulin E (IgE)], nasal mucosal inflammatory response, tight junctions between epithelial cells, endoplasmic reticulum morphology and expressions of tight junction proteins, HMGB1/TLR4 pathway proteins were evaluated. The targeting relationship between miR-205-5p and TLR4 was analyzed using a dual-luciferase reporter assay. **Results** The orders from lowest to highest of behavioral score, expression levels of IL-4, IgE, HMGB1, TLR4, and NF- κ B as well as tight junction width were group A, group B, group C and group D. The orders from lowest to

基金项目:湖南省自然科学基金科卫联合项目(2021JJ70079);湖南省自然科学基金科卫联合项目(2021JJ70078)。

第一作者简介:匡玉婷,女,硕士,副主任医师。

通信作者:胡彬雅,Email: Zhizi628@126.com

highest of expression levels of IFN- γ , IL-2, IL-10 and tight junction protein were group D, group C, group B and group A, and their differences among different groups were all statistically significant (all $P < 0.05$). The dual-luciferase reporter results indicated that miR-205-5p could target TLR4. **Conclusion** miR-205-5p can target the HMGB1/TLR4 pathway to inhibit the AR immune disorder caused by Th1/Th2 imbalance, strengthen the barrier function of the nasal mucosa, thereby reducing the invasion of allergens, relieving AR-related symptoms, and having a positive effect on the treatment of AR.

Keywords: Microna-205-5p; High mobility group protein B1/toll like receptor 4; Allergic rhinitis; Immunologic function

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)以鼻塞、流涕、打喷嚏等为常见表现,是由免疫球蛋白 E(immunoglobulin E, IgE)所介导的超敏反应性疾病,目前世界范围内 AR 发生率大约占 40%,且呈逐年升高的趋势^[1-2]。尽管 AR 临床表现症状较弱,对机体带来的损伤较小,但其所带来的负担和成本较大,给社会经济和健康带来巨大影响,且目前所使用药物无法治愈此病,因此寻找有效治疗此病的新靶点具有重要的意义^[3]。随着对 AR 的深入研究发现,miRNA 参与 AR 的发生,研究认为^[4] miR-205-5p 与鼻炎的发生密切相关,认为其参与鼻炎发生过程中免疫炎症反应,但就目前而言,微小 RNA-205-5p (microna-205-5p, miR-205-5p)作为 miRNA 家族中的一种,被发现多种肿瘤患者血清中均呈高表达,且与肿瘤恶性程度具有一定的相关性,但在 AR 中的表达研究尚未发现,基于此,在上述形式下,本次研究分析 miR-205-5p 是否经靶向高迁移率蛋白 B1/Toll 样受体 4 (high mobility group box protein B1/Toll-like receptor 4, HMGB1/TLR4) 途径改善 AR 免疫功能,以明确 miR-205-5p 在 AR 中的具体作用,为临床上此病的治疗提供新靶点。

1 材料与方法

1.1 研究动物

选取 6~8 周龄无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 清洁级 SD 雄性大鼠 60 只,体质量 90~120 g,均购自默沙东(宁波)动物保健科技有限公司,动物许可证号:SYXK(浙)2021-0022。所有大鼠均适应性饲养 1 周,在饲养过程中自由饮食、饮水。本次研究在我院伦理委员会的批准下完成。

主要试剂:miR-205-5p 抑制剂(antagomir)、激动剂(agomir)由广州瑞博生物技术有限公司提供。ELISA 试剂盒由上海烜雅生物科技有限公司提供。小鼠抗大鼠 HMGB1、TLR4、核因子- κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 抗体均由美国 Abcam 公司提供。Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒、荧光素酶报告试剂

盒和检测仪均由美国 Promega 公司提供。

1.2 方法

1.2.1 分组及建模 将所购买的 60 只大鼠随机分为正常对照组(A组)、AR组(B组)、AR + miR-205-5p agomir组(C组)、AR + miR-205-5p antagomir组(D组)共 4 组,每组各 15 只。

A 组不做任何处理,B、C、D 组均采用卵清白蛋白鼻腔强化致敏建立 AR 模型^[5],将 0.3 mg 卵清白蛋白溶解于 1 mL 生理盐水中,与 30 mg 佐剂 Al(OH)₃ 制备为混悬液,腹腔注射,隔日 1 次,连续注射 8 次。在第 16 天经鼻滴入每鼻孔滴注 10% 卵清白蛋白溶液 20 μ L(溶于 1 mL 生理盐水中),连续 7 d。末次滴入后观察各组 0.5 h 内抓鼻、打喷嚏、流涕情况,做行为学评分(表 1),若评分 ≥ 5 分则表明 AR 建模成功,最终 B、C、D 组均成功建模。

表 1 行为学评分

行为学症状	3 分	2 分	1 分
抓鼻	频繁	多次	低于 2 次
打喷嚏(个/min)	≥ 11	4~10	<4
流涕	满面流涕	超越前鼻孔	至前鼻孔

1.2.2 miR-205-5p 干预 建模成功后 C、D 组分别尾部注射 300 μ g miR-205-5p agomir、miR-205-5p antagomir, A、B 组注射等量生理盐水。每周 2 次,1 周后观察各组大鼠变化。

1.3 指标观察

1.3.1 行为学评价 参照表 1 内容,对 4 组大鼠做行为学评价。

1.3.2 免疫相关指标测定 抽取各组 0.5 mL 尾静脉血,离心取上清血清(3 000 g/min, $r = 5$ cm),采用 ELISA 法检测免疫相关指标:干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、白介素-2 (interleukin-2, IL-2)、白介素-4 (interleukin-4, IL-4)、白介素-10 (interleukin-10, IL-10) 及 IgE 水平。

1.3.3 鼻黏膜组织采集 在上述操作完成后立即处死大鼠,迅速取鼻黏膜组织,分为 4 份,其中 2 份

用于病理组织学观察,1份用于蛋白检测,1份分离出鼻黏膜上皮细胞用于双荧光素酶报告分析。

1.3.4 鼻黏膜炎症反应观察 取鼻黏膜组织,在行常规组织切片处理后做 HE 染色处理,显微镜下对各组鼻黏膜组织炎症反应情况进行分析。

1.3.5 鼻黏膜上皮细胞间紧密连接、内质网形态观察 取鼻黏膜组织,在行常规组织切片处理后醋酸铀、枸橼酸铅双染色,使用透射电镜分别在 20 000 倍、15 000 倍观察鼻黏膜上皮细胞间紧密连接、内质网形态。

HE 染色于高倍镜($\times 400$)下计数 5 个视野 EOS 后取平均值。紧密连接蛋白的阳性表达以鼻黏膜及腺体-上皮的细胞膜和细胞质呈棕黄色、细颗粒状为判定标准。根据细胞膜和/或细胞质的染色程度及染色细胞百分率进行分析评分:基本不着色为 0 分;着色淡为 1 分;着色适中为 2 分;着色深为 3 分。另外,每张切片 400 倍视野下随机选择不重复的 5 个视野,每个视野计数 100 个上皮细胞,计算其中着色细胞的百分率。着色细胞占计数细胞百分率 $<5\%$ 为 0 分; $5\% \sim 25\%$ 为 1 分; $26\% \sim 50\%$ 为 2 分; $>50\%$ 为 3 分。将每张切片细胞着色程度得分与着色细胞百分率得分各自相乘,总分 0~1 分为阴性(-),2~3 分为弱阳性(+),4~6 分为中等阳性(++),6 分以上为强阳性(+++)。+ 为低表达即阴性表达,++ 与+++ 为高表达,即阳性表达。

1.3.6 紧密连接蛋白 Claudin-1、Occludin、HMGB1/TLR4 途径蛋白测定 取鼻黏膜组织,加 80 μL 裂解缓冲液,将鼻黏膜组织制备为组织匀浆,12 000 $\times g$ 离心 15 min,离心后采集上清液,做蛋白变性、电泳处理,采用 Western blot 法测定 Claudin-1、Occludin、HMGB1/TLR4 途径相关蛋白表达量。

1.3.7 双荧光素酶报告实验 经 Starbase 网站获得 miR-205-5p、TLR4 碱基结合位点,以分析 miR-

205-5p 与 TLR4 的靶向关系,建立 MUT-TLR4、WT-TLR4 的 TLR4 3'-UTR 双荧光素酶报告载体。使用 LipofectamineTM 2000 将 miR-205-5p agomir、miR-205-5p antagomir、MUT-TLR4、WT-TLR4 共转染至鼻黏膜上皮细胞,测定鼻黏膜上皮细胞荧光素酶活性,miR-205-5p 与 TLR4 特异性结合时,荧光素酶活性降低。

1.4 统计学分析

利用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示采用单因素方差分析,多组间对比采用 F 检验,组间两两比较采用 LSD- t 检验。不符合正态分布,经自然对数转换后采用 $M(Q_n)$ 表示采用非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组行为学评价

如表 2 所示,B 组、C 组、D 组行为学评分高于 A 组($P < 0.05$);C 组行为学评分高于 B 组($P < 0.05$);D 组行为学评分低于 B 组($P < 0.05$);D 组行为学评分低于 C 组($P < 0.05$)。

2.2 4 组免疫相关指标水平对比

如表 3 所示,B、C、D 组 IL-4、IgE 高于 A 组,IFN- γ 、IL-2、IL-10 低于 A 组($P < 0.05$);C 组 IL-4、IgE 高于 B 组,IFN- γ 、IL-2、IL-10 低于 B 组($P < 0.05$);D 组 IL-4、IgE 低于 B 组,IFN- γ 、IL-2、IL-10 高于 B 组($P < 0.05$);D 组 IL-4、IgE 低于 C 组,IFN- γ 、IL-2、IL-10 高于 C 组($P < 0.05$)。

2.3 鼻黏膜炎症反应观察

A 组鼻黏膜结构完整,纤毛未脱落,未发现炎细胞浸润;B 组鼻黏膜纤毛排列较为杂乱,不规则脱落,有炎细胞浸润;C 组存在较为严重的纤毛脱落的症状,大量炎细胞浸润;D 组鼻黏膜纤毛排列恢复至整齐状态,仅有少量纤毛脱落、炎细胞浸润。见图 1。

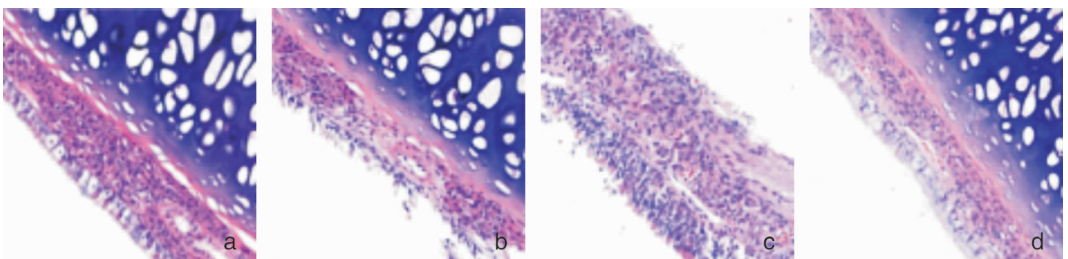


图1 鼻黏膜炎症反应观察 (HE $\times 400$) a:A 组未发现炎细胞浸润;b:B 组有炎细胞浸润;c:C 组大量炎细胞浸润;d:D 组少量纤毛脱落、炎细胞浸润

表2 4组行为学评分对比 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	行为学评分
A组	15	1.32 ± 0.14
B组	15	6.12 ± 0.97*
C组	15	8.11 ± 0.54*#
D组	15	3.27 ± 0.65*#&

注:与A组比较,* $P < 0.05$;与B组比较,# $P < 0.05$;与C组比较,& $P < 0.05$ 。

2.4 鼻黏膜上皮细胞间紧密连接和内质网形态观察

如表4和图2、3所示,B、C、D组紧密连接宽度高于A组,紧密连接蛋白表达量低于A组($P < 0.05$);C组紧密连接宽度高于B组,紧密连接蛋白

表达量低于B组($P < 0.05$);D组紧密连接宽度低于B组,紧密连接蛋白表达量高于B组($P < 0.05$);D组紧密连接宽度低于C组,紧密连接蛋白表达量高于C组($P < 0.05$)。4组鼻黏膜上皮细胞内质网形态观察见图4。

2.5 4组HMGB1/TLR4途径蛋白表达对比

如表5所示,B、C、D组HMGB1、TLR4、NF- κ B表达量高于A组($P < 0.05$);C组HMGB1、TLR4、NF- κ B表达量高于B组($P < 0.05$);D组HMGB1、TLR4、NF- κ B表达量低于B组($P < 0.05$);D组HMGB1、TLR4、NF- κ B表达量低于C组($P < 0.05$)。

表3 4组免疫相关指标水平对比 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	IFN- γ	IL-4	IL-2	IL-10	IgE
A组	15	199.74 ± 23.54	15.54 ± 2.76	324.54 ± 37.65	176.65 ± 7.54	20.75 ± 2.43
B组	15	100.97 ± 11.35*	38.76 ± 4.21*	277.65 ± 28.54*	86.76 ± 9.44*	51.75 ± 5.32*
C组	15	78.43 ± 7.90*#	56.90 ± 6.90*#	231.50 ± 26.54*#	61.98 ± 7.54*#	67.88 ± 7.90*#
D组	15	176.54 ± 18.54*#&	20.46 ± 2.78*#&	305.13 ± 38.76*#&	155.90 ± 16.75*#&	30.41 ± 3.12*#&

注:IFN- γ (干扰素- γ);IL-4(白介素4);IL-2(白介素2);IL-10(白介素10);IgE(免疫球蛋白E)。与A组比较,* $P < 0.05$;与B组比较,# $P < 0.05$;与C组比较,& $P < 0.05$ 。

表4 鼻黏膜上皮细胞间紧密连接宽度、紧密连接蛋白表达对比($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	紧密连接宽度 (nm)	紧密连接蛋白	
			Claudin-1	Occludin
A组	15	3.12 ± 0.97	0.98 ± 0.10	0.96 ± 0.07
B组	15	10.86 ± 2.56*	0.45 ± 0.05*	0.38 ± 0.04*
C组	15	16.53 ± 2.23*#	0.13 ± 0.02*#	0.10 ± 0.03*#
D组	15	6.49 ± 1.02*#&	0.73 ± 0.07*#&	0.67 ± 0.08*#&

注:与A组比较,* $P < 0.05$;与B组比较,# $P < 0.05$;与C组比较,& $P < 0.05$ 。



图2 Western blot 检测紧密连接蛋白水平表达

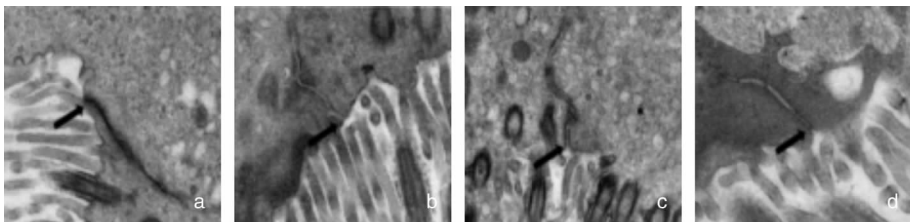


图3 鼻黏膜上皮细胞间紧密连接 (醋酸铀 + 枸橼酸铅 × 20 000) a:A组鼻黏膜上皮细胞紧密连接呈连续的狭窄带;b:B组紧密连接松弛,细胞间隙增大;c:C组紧密连接较为松弛,细胞间隙明显增大;d:D组内质网扩张程度、核糖体脱落情况显著缓解

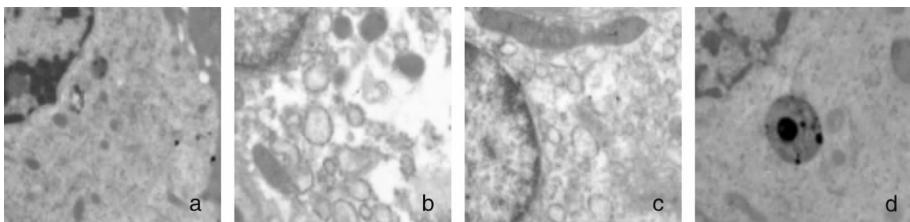


图4 鼻黏膜上皮细胞内质网形态 (醋酸铀 + 枸橼酸铅 × 15 000) a:A组鼻黏膜上皮细胞内质网形态规整;b:B组内质网扩张,核糖体脱落;c:C组内质网扩张、甚至空泡样,核糖体脱落明显;d:D组内质网扩张程度、核糖体脱落情况显著缓解

表5 4组 HMGB1/TLR4 途径蛋白表达对比 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGB1	TLR4	NF-κB
A组	15	1.01 ± 0.23	1.08 ± 0.25	1.00 ± 0.22
B组	15	3.32 ± 0.27*	3.56 ± 0.36*	3.42 ± 0.32*
C组	15	4.75 ± 0.45*#	4.98 ± 0.53*#	4.32 ± 0.65*#
D组	15	1.99 ± 0.33*##	2.01 ± 0.21*##	1.89 ± 0.34*##

注:HMGB1(高迁移率族蛋白1);TLR4(Toll样受体4);NF-κB(核因子-κB)。与A组比较,*P<0.05;与B组比较,#P<0.05;与C组比较,##P<0.05。下表同。

2.6 双荧光素酶报告实验结果

双荧光素酶报告实验结果显示,WT-TLR4组 miR-205-5p agomir 活性显著高于 MUT-TLR4组,miR-205-5p antagomir 显著低于 MUT-TLR4组,差异具有统计学意义(P<0.05),如表6所示;miR-205-5p agomir 组 miR-205-5p 和 TLR4 表达量均显著低于 miR-205-5p antagomir 组,差异具有统计学意义(P<0.05),如表7所示,提示 miR-205-5p 可与 TLR4 靶向结合,结合位点见图5。

表6 各组细胞中荧光素酶活性对比 ($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-205-5p agomir	miR-205-5p antagomir
WT-TLR4	1.00 ± 0.12	0.34 ± 0.09
MUT-TLR4	0.92 ± 0.07	1.13 ± 0.41

注:agomir(激动剂);antagomir(抑制剂)。下表同。

表7 各组细胞中 miR-205-5p、TLR4 表达对比 ($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-205-5p	TLR4
miR-205-5p agomir	1.16 ± 0.19	0.53 ± 0.11
miR-205-5p antagomir	2.31 ± 0.53	1.98 ± 0.21

TLR4-3'-UTR-WT	5'...AUCCAAAAGGAGUAAAUGAAGGAC...3'
miR-205-5p	3'...GUCUGAGGCCACCUAUUCCUA...5'
TLR4-3'-UTR-MUT	5'...AUCCAGAAACCUGAACAACGCCCC...3'

图5 miR-205-5p 与 TLR4 靶向结合位点

3 讨论

miRNA 属非编码 RNA 分子,由 20~25 个核苷酸组成,miR-205-5p 属 miRNA 成员之一,定位于人 1 号染色体 q32.2 位置的 LOC642587 基因座中的第 2 个内含子,其长度大约为 110 个碱基^[6]。有研究显示^[7-9],miR-205-5p 在人肺、乳腺、胸腺、前列腺等组织中特异性表达,能够通过调控多种靶基因表达,与癌细胞恶性生物学行为有关。但随着对 miR-205-5p 深入研究,发现其不仅参与恶性肿瘤的发生发展,还可促进 AR 发生过程中免疫炎症级联,在 AR 中表达升高,Zhang 等^[10]在其最新一项研究中认为下调 miR-205-5p 可通过靶向 BCL-2 减轻变应性鼻炎的炎症反应,其结果证实了 miR-205-5p 与 AR 的

关系。本研究结果示,经抑制 miR-205-5p 表达后的 AR 大鼠,AR 行为学明显改变,鼻黏膜炎性浸润减轻,此结果证实了 miR-205-5 参与 AR 的发生。

目前关于 AR 发病机制研究呈现多方面的深入细化,大体包括鼻黏膜上皮屏障破坏、Th1/Th2 失衡等^[11-12]。有研究认为^[13],在 AR 发生过程中,变应原所引发的黏膜通透性明显降低,鼻黏膜上皮屏障功能受到抑制,表现为鼻黏膜上皮细胞紧密连接受损,破坏紧密连接蛋白 Claudin-1、Occludin,其中 Claudin-1 作为紧密连接形成的首要骨架,兼具作为紧密连接密封件的核心作用,是 Claudin 家族中对屏障的结构和功能影响最大的跨膜蛋白,Claudin-1 基因缺陷会导致屏障功能丧失。Occludin 对于屏障形成也是必须,因其具有磷酸化/去磷酸化的特性,能够和紧密连接中蛋白质相互作用,影响屏障功能以及物质的跨上皮和跨内皮运输^[14]。另外 AR 鼻黏膜上皮屏障功能障碍表现为内质网形态改变,且导致内质网扩张、大量空泡状,核糖体明显脱落,间接反应蛋白质合成的能力下降等^[15]。本文结果显示,抑制 miR-205-5p 表达后 AR 大鼠紧密连接蛋白 Claudin-1、Occludin 表达升高,内质网扩张改变恢复,提示抑制 miR-205-5p 表达可经修复鼻黏膜上皮屏障损伤抑制 AR 进展。另外 Th1/Th2 失衡是导致 AR 发生进展的主要影响因素,Th1 经分泌 IFN-γ、IL-2 参与机体细胞免疫,Th2 经分泌 IL-4、IL-10 参与机体体液免疫,在 AR 发生进展过程中 IFN-γ、IL-2、IL-4、IL-10 等指标表达紊乱,此时 IgE 表达异常升高,最终诱导 AR 发生过程中的免疫炎症反应^[16-18]。本文结果显示,抑制 miR-205-5p 表达可改善 Th1/Th2 失衡,修复鼻黏膜上皮屏障损伤,表现为 IFN-γ、IL-2、IL-10 升高,IL-4、IgE 降低,鼻黏膜上皮细胞间紧密连接、内质网形态改变恢复,此结果提示 miR-205-5p 参与 AR 发生过程中 Th1/Th2 失衡,抑制 miR-205-5p 表达可逆转 Th1/Th2 失衡,抑制疾病进一步进展。

目前关于 miR-205-5p 发挥作用途径尚未明确,有研究显示^[19-21],HMGB1/TLR4 途径参与 AR 发生过程,在正常生理状态下 HMGB1 定位于细胞核,但当机体受到外界刺激后,其被大量释放于细胞外,可经刺激免疫系统分泌大量的免疫相关因子,进而导致免疫炎症级联反应发生,与 AR 严重程度相关。HMGB1 在 AR 发病过程中与 TLR4 特异性结合,激活下游 NF-κB,而 NF-κB 可扰乱 Th1/Th2 平衡^[22-24]。本文结果显示,miR-205-5p 表达被抑制后 HMGB1、TLR4、NF-κB 表达量降低,提示抑制 miR-205-5p 表达逆转 Th1/Th2 失衡的机制可能与 HMGB1/TLR4 活性降低

有关,此结果在 Zhang 等研究的基础上进一步验证了 miR-205-5p 参与 AR 发生的具体途径。且经双荧光素酶报告实验分析显示,TLR4 为 miR-205-5p 靶基因,进一步证实了 miR-205-5p 经 HMGB1/TLR4 途径而发挥修复 AR 免疫损伤的作用。

本研究初步分析了 miR-205-5p 可靶向 HMGB1/TLR4 途径抑制 Th1/Th2 失衡所引起的 AR 免疫障碍,但检索国内外相关文献,并未有研究发现上述关系,因此,此论点尚需进一步验证。

综上,miR-205-5p 可靶向 HMGB1/TLR4 途径抑制 Th1/Th2 失衡所引起的 AR 免疫障碍,加强鼻黏膜屏障功能,从而减少变应原的入侵,缓解 AR 相关症状,对 AR 的治疗产生积极作用。

参考文献:

[1] 纪越,张志茂,王志海. 变应性鼻炎血清 sPD-L1 表达与 T 淋巴细胞亚群的关系[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2021,27(4):378-381.

[2] 李晓光,陈建伟,姜霞,等. 高选择性鼻后神经丛切断术治疗中重度常年性变应性鼻炎近期疗效观察[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2022,28(1):18-21.

[3] 王孟,郑铭,王向东,等. 中国过敏性鼻炎流行病学研究进展[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科,2019,26(8):415-420.

[4] Silveira MLC, Tamashiro E, Santos ARD, et al. miRNA-205-5p can be related to T2-polarity in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps[J]. Rhinology,2021,59(6):567-576.

[5] 刘敏,张大铮,李昕荣,等. 卵白蛋白鼻腔强化激发制作变应性鼻炎大鼠模型效果观察[J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志,2013,21(5):325-328.

[6] Xue Y, Liu Y, Bian X, et al. miR-205-5p inhibits psoriasis-associated proliferation and angiogenesis: Wnt/ β -catenin and mitogen-activated protein kinase signaling pathway are involved[J]. J Dermatol,2020,47(8):882-892.

[7] Zhang J, Zhang J, Pang X, et al. MiR-205-5p suppresses angiogenesis in gastric cancer by downregulating the expression of VEGFA and FGF1[J]. Exp Cell Res,2021,404(2):112579.

[8] Gong B, Wang X, Li B, et al. miR-205-5p inhibits thymic epithelial cell proliferation via FA2H-TFAP2A feedback regulation in age-associated thymus involution[J]. Mol Immunol,2020,122:173-185.

[9] Huang M, Li X, Zhou C, et al. Noncoding RNA miR-205-5p mediates osteoporosis pathogenesis and osteoblast differentiation by regulating RUNX2[J]. J Cell Biochem,2020,121(10):4196-4203.

[10] Zhang S, Lin S, Tang Q, et al. Knockdown of miR-205-5p alleviates the inflammatory response in allergic rhinitis by targeting B-cell lymphoma[J]. Mol Med Rep,2021,24(5):818.

[11] 杨艳,薛征. Th1/Th2 平衡在 CARAS 中的免疫学机制及诊疗新靶点[J]. 医学研究杂志,2020,49(10):12-15.

[12] 段甦,韩新玲,李颖,等. 过敏性鼻炎鼻黏膜上皮紧密连接表达

的研究[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科,2021,28(5):293-296.

[13] Nur Husna SM, Tan HT, Md Shukri N, et al. Nasal epithelial barrier integrity and tight junctions Disruption in allergic rhinitis: Overview and pathogenic insights[J]. Front Immunol,2021,12:663626.

[14] Nur Husna SM, Siti Sarah CO, Tan HT, et al. Reduced occludin and claudin-7 expression is associated with urban locations and exposure to second-hand smoke in allergic rhinitis patients[J]. Sci Rep,2021,11(1):1245.

[15] Siti Sarah CO, Md Shukri N, Mohd Ashari NS, et al. Zonula occludens and nasal epithelial barrier integrity in allergic rhinitis [J]. PeerJ,2020,8:e9834.

[16] You X, Sun X, Kong J, et al. D-Pinitol Attenuated Ovalbumin-induced Allergic Rhinitis in Experimental Mice via Balancing Th1/Th2 Response[J]. Iran J Allergy Asthma Immunol,2021,20(6):672-683.

[17] Li J, Raghav P, Hu C. Ajwain oil attenuates allergic response of ovalbumin-induced allergic rhinitis via alteration of inflammatory, oxidative stress, and Th1/Th2 responses[J]. J Food Biochem, 2021,45(12):e13963.

[18] Chen F, He D, Yan B. Apigenin attenuates allergic responses of ovalbumin-induced allergic rhinitis through modulation of Th1/Th2 responses in experimental mice [J]. Dose Response, 2020,18(1):1559325820904799.

[19] Yuan Y, Liu Q, Zhao J, et al. SIRT1 attenuates murine allergic rhinitis by downregulated HMGB1/TLR4 pathway [J]. Scand J Immunol,2018,87(6):e12667.

[20] Zhu X, Cong J, Yang B, et al. Association analysis of high-mobility group box-1 protein 1 (HMGB1)/toll-like receptor (TLR) 4 with nasal interleukins in allergic rhinitis patients [J]. Cytokine, 2020,126:154880.

[21] Dong J, Xu O, Wang J, et al. Luteolin ameliorates inflammation and Th1/Th2 imbalance via regulating the TLR4/NF- κ B pathway in allergic rhinitis rats [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2021,43(3):319-327.

[22] Ciprandi G, Colavita L, Cuppari C, et al. HMGB1 modulation in children with allergic rhinitis [J]. Minerva Pediatr,2020,doi:10.23736/S0026-4946.20.05906-X.

[23] Wang J, Cui Z, Liu L, et al. MiR-146a mimic attenuates murine allergic rhinitis by downregulating TLR4/TRAF6/NF- κ B pathway [J]. Immunotherapy,2019,11(13):1095-1105.

[24] 田滢,张飞,段传新. 黄芪甲苷对过敏性鼻炎小鼠 HMGB1/TLR4/NF-KB 信号通路的影响[J]. 现代免疫学,2021,41(1):50-55.

(收稿日期:2022-03-14)

本文引用格式:匡玉婷,胡彬雅,赵斯君,等. miR-205-5p 靶向 HMGB1/TLR4 途径对变应性鼻炎免疫功能的作用研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2022,28(4):57-62. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202222084

Cite this article as: KUANG Yuting, HU Binya, ZHAO Sijun, et al. Effect of miR-205-5p targeting HMGB1/TLR4 pathway on immune function in allergic rhinitis [J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2022,28(4):57-62. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202222084