

• 基础医学 •

文章编号: 1002 - 0217(2015) 06 - 0511 - 07

哮喘相关的 miR-201-3p 靶基因的预测及生物信息学分析

周萍萍¹, 尹康², 吴露依², 黄丹丹², 靳文杰², 马智达², 姜玉新¹

(皖南医学院 1. 生理学教研室; 2. 临床医学院, 安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的: 预测并分析 miR-201-3p 的靶基因。方法: 利用 miRanda、miRDB、miRWalk 和 Targetscan 等 4 个数据库在线预测 miR-201-3p 的靶基因, 对获得的靶基因用 Cytoscape 软件中的 BiNGO 插件进行 Gene Ontology(GO) 分类及 KEGG 数据库的信号转导通路富集分析。结果: 共预测获得 1082 个靶基因。经 GO 分析这些靶基因后, 共得到涉及 245 条生物学进程, 主要包括细胞进程、生物学调节和生物学进程调节等; 分子功能包括蛋白质异源二聚体活化和 I-SMAD 蛋白结合等。KEGG 富集分析发现这些靶基因主要参与 MAPK 信号通路、T 细胞受体信号通路、Wnt 信号通路、趋化因子信号通路等与炎症有关的信号通路。结论: 成功预测了 miR-201-3p 的靶基因, 部分靶基因可能参与了哮喘气道炎症和气道重塑。

【关键词】miR-201-3p; 靶基因; 生物信息学; 哮喘; 炎症; 气道重塑

【中图分类号】R 562. 25 **【文献标识码】**A

【DOI】10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2015. 06. 001

Prediction and bioinformatics analysis of the targets of miR-201-3p related to asthma

ZHOU Pingping, YIN Kang, WU Luyi, HUANG Dandan, JIN Wenjie, MA Zhida, JIANG Yuxin

Department of Physiology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To predict and analyze the molecular targets of miR-201-3p. **Methods:** Target gene miR-201-3p was predicted through the online databases of miRanda, miRDB, miRWalk and Targetscan. Then the predicted targets were further analyzed by BiNGO plugin for Gene Ontology(GO) and database of KEGG for signal transduction pathway enrichment. **Results:** Totally, 1082 target genes were obtained. GO analysis demonstrated that these targets were involved in 245 biological processes, primarily including cellular process, biological regulation, regulation of biological process and otherwise. The molecular function mainly comprised protein heterodimerization activity and I-SMAD binding, and enrichment analysis by KEGG database indicated that these target genes were functionally involved in signal pathways in MAPK, T cell receptor, Wnt and chemokine as well as inflammation. **Conclusion:** We successfully predicted the target genes of miR-201-3p, some of which may be involved in airway inflammation and remodeling during asthma attack.

【Key words】miR-201-3p; target genes; bioinformatics; asthma; inflammation; airway remodeling

支气管哮喘(简称哮喘)是以持续气道炎症、气道高反应性和气道重塑为主要特征的慢性呼吸道疾病,症状主要表现为反复发作性喘息、胸闷、咳嗽,其发病率高达 29.1% ~ 32.2%^[1]。哮喘发病受遗传及环境双重因素影响,发病机制主要是 CD4⁺ T 细胞亚群 Th1/Th2 失衡,特别是偏向于 Th2 分化所致,其他 CD4⁺ T 细胞亚群 Th17 及调节性 T 细胞(Treg)也参与了该病发生^[3]。其病理特征为气道嗜酸粒细胞、T 细胞、肥大细胞、中性粒细胞等长期浸润,异常的 Th2 细胞应答及其所分泌细胞因子产生

的级联效应,最终导致气道慢性炎症。Th2 细胞分泌的 IL-4、IL-5、IL-9 和 IL-13 与嗜酸粒细胞浸润、气道高反应性、高水平 IgE 等密切相关^[2-3]。哮喘气道的慢性炎症及重塑最终可导致不可逆性气流受限及对激素治疗的无反应^[4]。

miRNA 是一类长约为 19 ~ 25 个核苷酸的小分子 RNA。主要通过结合靶基因 mRNA 的 3'端非翻译区(3'-untranslated region, UTR),参与对靶基因的转录后调节^[5]。近年来发现,某些 miRNAs 如 miR-126、miR-145、let-7 等可以调节哮喘气道炎症,分别

基金项目: 国家自然科学基金项目(81172790); 皖南医学院中青年科研基金项目(WK201514); 国家级大学生创新创业训练项目(201310368022; 201310368031); 省级大学生创新创业训练项目(AH201310368090; AH201410368089); 校级大学生科研基金项目(WK2013S16)

收稿日期: 2015-09-04

作者简介: 周萍萍(1975-),女,讲师,硕士,(电话)13855334459,(电子信箱)wanyizhou001@126.com;

姜玉新(1971-),男,讲师,博士,(电子信箱)jiangyuxin2000@hotmail.com,通讯作者。

表现出促炎、抗炎或对炎症的双重作用。通过调控这些 miRNAs 的表达以减轻哮喘的气道炎症,或将成为哮喘治疗的新方法及研究新热点。前期实验中,本课题组按文献[6]报道的方法成功构建了过敏性哮喘小鼠模型,制备了哮喘模型小鼠的单个脾细胞后,用免疫磁珠分选了其 CD4⁺ T 细胞,提取其总 RNA 并用 microRNA 芯片检测了 miRNA 表达谱。与对照组相比,哮喘模型小鼠的 CD4⁺ T 细胞中共有 12 种 miRNAs 表达升高,如 miR-201-3p 等(结果尚未发表)。该结果提示,这些 miRNAs 可能参与了哮喘的发病过程,尤其是对 CD4⁺ T 细胞的调控作用。本研究拟通过生物信息学方法预测 miR-201-3p 的潜在靶基因,并对这些靶基因进行 Gene Ontology (GO) 基因分类以及 KEGG 信号通路富集,以期探究 miR-201-3p 在哮喘发病过程中对 CD4⁺ T 细胞可能的调控作用。

1 材料与方法

1.1 靶基因预测 分别用 miRanda(<http://www.microrna.org/>)、miRDB(<http://www.mirdb.org/>)、miRWalk(<http://www.umm.uni-heidelberg.de/>) 和 Targetscan(<http://www.targetscan.org/>) 4 个数据库在线预测 miR-201-3p 的靶基因,并对获得的靶基因在 4 个数据库中的分布情况构建 Venn 图。

1.2 靶基因的 GO 分类 对 1.1 中获得的靶基因,剔除仅出现于 2 个或 2 个以下数据库的靶基因,剩下的靶基因用于后续分析。运用软件 Cytoscape (2.8.1 版) 中的功能插件 BiNGO (2.44 版) 进行 GO 分类并绘图。选择物种“*Mus musculus*”,以 Benjamini & Hochberg's FDR correction 进行多重检验, $P < 0.01$ 为显著性阈值。

1.3 靶基因的 KEGG 信号通路分析 利用 DAVID v6.7 网站(<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) 中的 KEGG (Kyoto encyclopedia of Genes and Genomes) 数据库,以“*Mus musculus*”为研究背景, $P < 0.05$ 为显著性阈值,对用于 GO 分类的靶基因进行信号通路富集分析。

2 结果

2.1 预测靶基因 在 miRanda、miRDB、miRWalk 和 Targetscan 4 个数据库中共预测获得 5201 个潜在靶基因,这些靶基因在这 4 个数据库的分布如图 1

所示。由图 1 可知,在 3 个及 3 个以上数据库同时出现的靶点共计 1082 个靶基因。

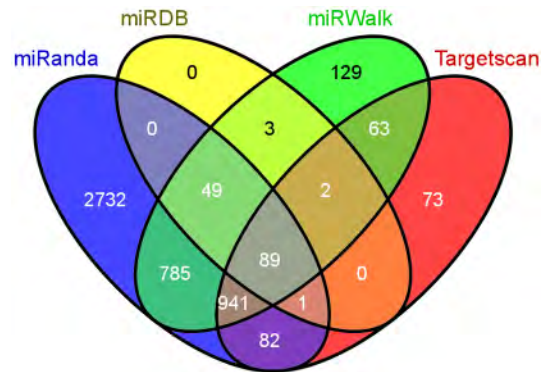


图 1 miR-201-3p 靶基因在 miRanda、miRDB、miRWalk 和 Targetscan 数据库中的分布

Fig 1 The distribution of target genes of miR-201-3p in miRanda, miRDB, miRWalk and Targetscan databases

2.2 Cytoscape 的 GO 分析

2.2.1 生物学进程分析 对获得的 miR-201-3p 的 1082 个靶基因进行 GO 分类,结果表明:共有 963 个靶基因涉及 245 条生物学进程(图 2, $P < 0.01$),其中生物学进程中包含的靶基因数量排在前 4 位的分别为细胞进程(cellular process, 62.5%)、生物学调节(biological regulation, 45.8%)、生物学进程的调节(regulation of biological process, 43.7%) 和细胞进程的调节(regulation of cellular process, 41.1%)。其他的生物学进程见表 1(仅列出前 20 项)。

2.2.2 分子功能分析 对 1082 个靶基因进行分子功能分析的结果表明,这些靶基因的功能包括结合(binding)、蛋白结合(protein binding)、催化活性(catalytic activity) 等,这些分子功能的关联关系见图 3。

2.3 KEGG 信号通路 对 1082 个靶基因进行 KEGG 信号通路富集的结果表明:这些靶基因隶属于 30 条信号通路(表 2),其中与炎症相关的信号通路主要包括 MAPK、Wnt、趋化因子、TGF- β 、T 细胞受体、胰岛素信号、VEGF 信号通路等($P < 0.01$)。其中,有 27 个靶基因出现于 MAPK 信号通路中,如 MAP3K7、TRAF2、MAPKAPK2、GNA12 和 MAX 等(图 4); 16 个靶基因出现于 Wnt 信号通路中,如 APC2、PPP2R5D、WNT3A 和 F2D5 等(图 5); 而 T 细胞受体信号通路中富集了 PDK1、TRP53 和 RAF1 等 12 个基因(图 6)。

表 1 miR-201-3p 靶基因的生物学进程结果

Tab 1 Biological process of predicted target genes of miR-201-3p

GO 编号	功能注释	P 值	校正 P 值	基因数量(%)	基因
9987	cellular process	0.001	0.071	602/963 (62.5)	STK38 ,NUAK1 ,CASK ,PTPN21 ,LATS2 ,MAP3K7 等
8152	metabolic process	0.001	0.071	421/963 (43.7)	STK38 ,NUAK1 ,CASK ,PTPN21 ,LATS2 ,MAP3K7 ,CCNE1 等
44237	cellular metabolic process	0.000	0.034	370/963 (38.4)	SEC24A ,AP4E1 ,CHMP4B ,VPS54 ,CASK ,CLTC ,SYNGR1 等
65007	biological regulation	0.044	0.519	442/963 (45.8)	ADCY1 ,ADCY7 ,STK38 ,PLEKHM1 ,GNA12 ,ITPKB ,RAD9 等
44238	primary metabolic process	0.000	0.036	377/963 (39.1)	SEC24A ,AP4E1 ,CHMP4B ,VPS54 ,CASK ,CLTC ,SYNGR1 等
50789	regulation of biological process	0.000	0.041	417/963 (43.3)	SEC24A ,AP4E1 ,CHMP4B ,VPS54 ,CASK ,CLTC ,SYNGR1 等
43170	macromolecule metabolic process	0.008	0.251	313/963 (32.5)	STK38 ,NUAK1 ,CASK ,LATS2 ,MAP3K7 ,CCNE1 ,PSKH1 ,PAK2 等
50794	regulation of cellular process	0.003	0.168	396/963 (41.1)	STK38 ,NUAK1 ,CASK ,LATS2 ,MAP3K7 ,CCNE1 ,PSKH1 ,PAK2 等
44260	cellular macromolecule metabolic process	0.008	0.249	286/963 (29.6)	BAP1 ,SEN5 ,SEN6 ,ZYG11B ,LNPEP ,WWP2 ,RNF149 ,DHCR24 等
32502	edvelopmental process	0.007	0.246	233/963 (24.1)	ZXDC ,CASK ,PAX3 ,GLI3 ,MEN1 ,ZFP91 ,FGF1 等
48731	system development	0.000	0.009	190/963 (19.7)	ABCA7 ,CPLX3 ,CPLX2 ,CD209A ,STX7 ,SEC24A ,AP4E1 ,EXOC8 等
48856	anatomical structure development	0.007	0.252	201/963 (20.8)	ELF2 ,ABLIM3 ,ONECUT2 ,PRRX1 ,CASK ,NUFIP1 ,PAX3 等
7275	multicellular organismal development	0.064	0.600	216/963 (22.4)	SLC5A3 ,SRI ,KCNI15 ,KCNC1 ,SLC9A6 ,SLC39A11 ,GABRB3 等
19222	regulation of metabolic process	0.001	0.061	228/963 (23.6)	DLC1 ,ST8SIA1 ,PRRX1 ,BAP1 ,PAX3 ,SOX9 ,TIMP2 ,GLI3 等
31323	regulation of cellular metabolic process	0.020	0.357	214/963 (22.2)	DERL1 ,BAP1 ,EDEM3 ,SEN5 ,UBE2R2 ,SEN6 ,ZYG11B 等
80090	regulation of primary metabolic process	0.007	0.248	206/963 (21.3)	TRAF2 ,DERL1 ,BAP1 ,EDEM3 ,SEN5 ,UBE2R2 ,SEN6 等
51179	localization	0.003	0.146	207/963 (21.4)	ABLIM3 ,ONECUT2 ,ZXDC ,CASK ,NUFIP1 ,PAX3 等
48518	positive regulation of biological process	0.005	0.197	159/963 (16.5)	ABLIM3 ,ONECUT2 ,ZXDC ,CASK ,NUFIP1 ,PAX3 ,SOX9 等
60255	regulation of macromolecule metabolic process	0.019	0.343	193/963 (20.0)	ABLIM3 ,ONECUT2 ,ZXDC ,NUFIP1 ,PAX3 ,SOX9 等
48522	positive regulation of cellular process	0.020	0.360	147/963 (15.2)	DLC1 ,NRP2 ,DCBLD2 ,PCDHB13 ,CDHI ,NEO1 ,PCDHB11 等

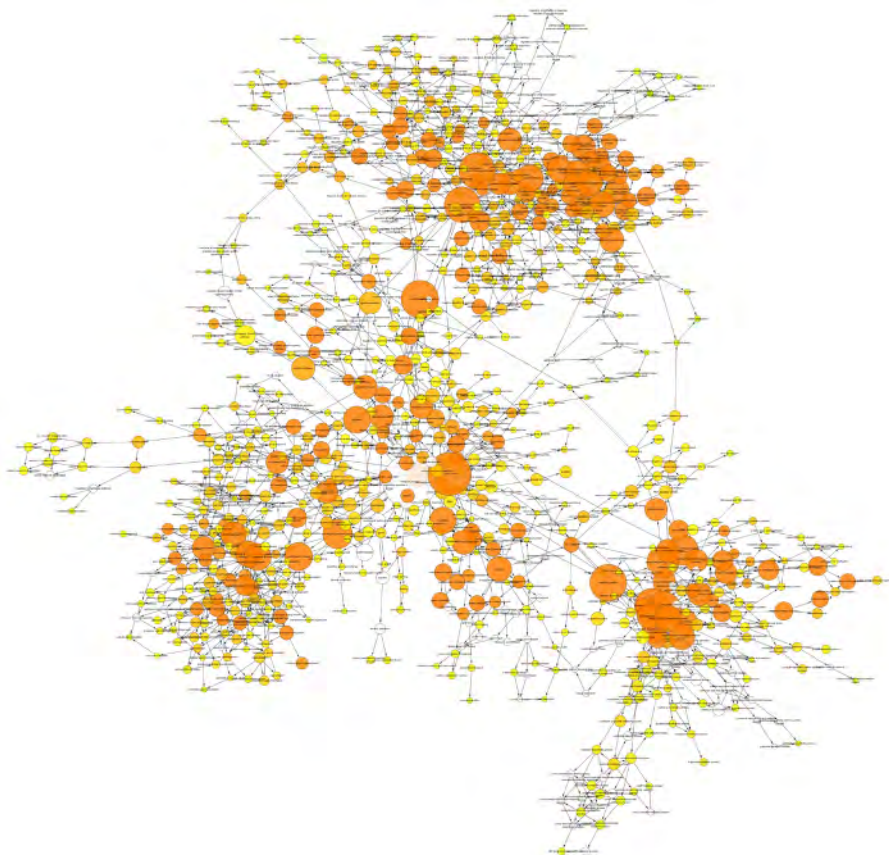


图 2 miR-201-3p 靶基因的生物学进程图

Fig 2 Biological process of the predicted target genes of miR-201-3p

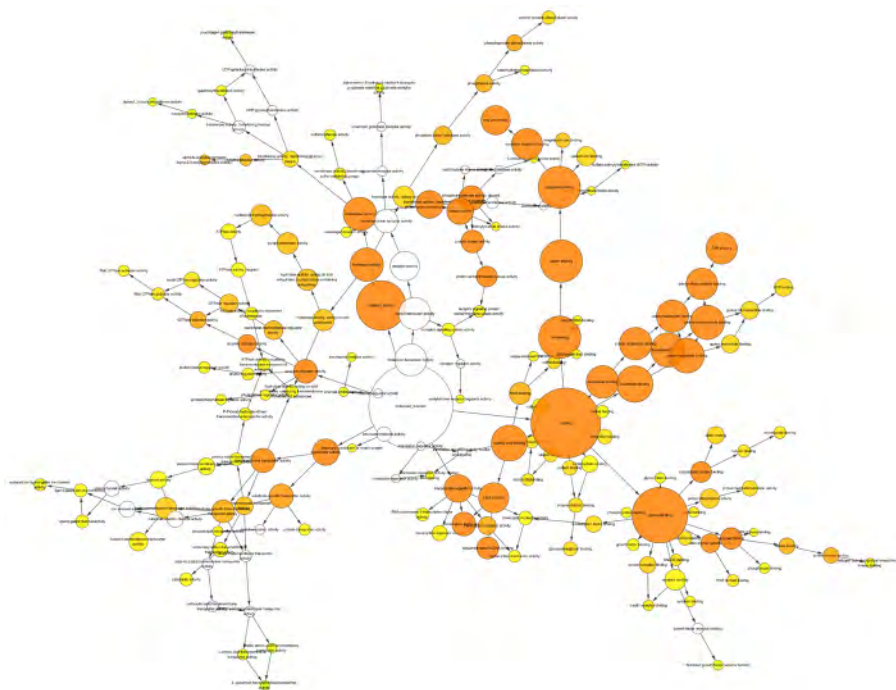


图 3 miR-201-3p 靶基因的分子功能图

Fig 3 Molecular function of the predicted target genes of miR-201-3p

表 2 miR-201-3p 预测靶基因的 KEGG 信号通路富集分析结果

Tab 2 Pathway enrichment of the predicted target genes of miR-201-3p

功能注释	基因数量(%)	P 值	校正 P 值	基因
Pathways in cancer	30(10.0)	0.003	0.071	TRAF1 ,TRAF2 ,APC2 ,WNT3A ,CDH1 ,GLI3 ,MAX 等
MAPK signaling pathway	27(9.0)	0.001	0.067	TRAF2 ,ERK ,BMK1 ,MAPKAPK2 ,p38 ,MAX 等
Axon guidance	20(6.6)	0.000	0.007	GNAI3 ,LIMK2 ,PLXNA2 ,ABLIM3 ,PPP3R1 ,CXCL12 等
Calcium signaling pathway	19(6.3)	0.011	0.173	ADCY1 ,SLC8A1 ,PTGER3 ,TACR3 ,CCKBR ,ADCY7 等
Regulation of actin cytoskeleton	19(6.3)	0.034	0.264	GIT1 ,APC2 ,LIMK2 ,GNAI2 ,ITGA1 ,RAF1 ,ABI2 等
Wnt signaling pathway	16(5.3)	0.011	0.160	TRP53 ,APC2 ,PPP2R5D ,WNT3A ,PPP3R1 ,SMAD4 等
Neurotrophin signaling pathway	15(5.0)	0.008	0.143	PDK1 ,TRP53 ,RAF1 ,MAPK11 ,MAPKAPK2 ,PTPN11 等
Chemokine signaling pathway	15(5.0)	0.094	0.458	ADCY1 ,GNAI3 ,ADCY7 ,RAF1 ,CXCL12 ,STAT3 等
Insulin signaling pathway	14(4.7)	0.028	0.234	PRKAB2 ,RAF1 ,ACACB ,PPP1CC ,PCK1 ,G6PC 等
Adherens junction	13(4.3)	0.001	0.040	TGFBR1 ,TGFBR2 ,SMAD4 ,CDH1 ,CTNNA1 ,IQGAP1 等
Chronic myeloid leukemia	12(4.0)	0.002	0.071	TRP53 ,CBLB ,CRKL ,KRAS ,TGFBR1 ,MAPK3 ,TGFBR2 等
T cell receptor signaling pathway	12(4.0)	0.044	0.316	PDK1 ,MAP3K7 ,CBLB ,KRAS ,PAK2 ,MAP3K8 ,MAPK3 等
Tight junction	12(4.0)	0.094	0.448	ACTG1 ,TJP1 ,GNAI3 ,KRAS ,MAGI1 ,VAPA ,CASK 等
Adipocytokine signaling pathway	11(3.7)	0.002	0.072	TRAF2 ,G6PC ,CD36 ,RXRA ,PRKAB2 ,ACACB ,ACSL4 等
Progesterone-mediated oocyte maturation	11(3.7)	0.013	0.171	ADCY1 ,GNAI3 ,KRAS ,ADCY7 ,ANAPC4 ,MAPK3 等
Colorectal cancer	11(3.7)	0.014	0.169	TRP53 ,KRAS ,APC2 ,BCL2 ,TGFBR1 ,MAPK3 ,TGFBR2 等
ErbB signaling pathway	11(3.7)	0.015	0.169	CBLB ,CRKL ,KRAS ,EREG ,PAK2 ,MAPK3 ,RAF1 等
Oocyte meiosis	11(3.7)	0.077	0.418	CCNE1 ,ADCY1 ,ADCY7 ,PPP2R5D ,ANAPC4 ,MAPK3 等
Small cell lung cancer	9(3.0)	0.075	0.423	TRAF1 ,TRP53 ,CCNE1 ,TRAF2 ,MAX ,RXRA ,BCL2 等
Prostate cancer	9(3.0)	0.097	0.446	TRP53 ,CCNE1 ,KRAS ,CREB3 ,BCL2 ,MAPK3 ,RAF1 等
Endometrial cancer	8(2.7)	0.018	0.174	TRP53 ,KRAS ,APC2 ,MAPK3 ,RAF1 ,CDH1 ,CTNNA1 等
Renal cell carcinoma	8(2.7)	0.071	0.422	CRKL ,KRAS ,PAK2 ,ETS1 ,MAPK3 ,RAF1 ,PAK1 ,PTPN11
Long-term potentiation	8(2.7)	0.072	0.422	GRM5 ,ADCY1 ,KRAS ,GRIN2B ,MAPK3 ,PPP3R1 ,RAF1 等
Pancreatic cancer	8(2.7)	0.081	0.421	TRP53 ,KRAS ,TGFBR1 ,MAPK3 ,TGFBR2 ,SMAD4 等
Glycosphingolipid biosynthesis	6(2.0)	0.007	0.151	B4GALT1 ,FUT9 ,ST3GAL4 ,B3GALT5 ,ST8SIA1 ,B3GNT2
Thyroid cancer	6(2.0)	0.016	0.170	TRP53 ,RET ,KRAS ,RXRA ,MAPK3 ,CDH1
Tryptophan metabolism	6(2.0)	0.056	0.371	CYP1B1 ,MAOA ,HAAO ,WARS2 ,OGDH ,ALDH3A2
Dorso-ventral axis formation	5(1.7)	0.026	0.229	NOTCH3 ,KRAS ,ETS1 ,ETS2 ,MAPK3
Propanoate metabolism	5(1.7)	0.069	0.423	ALDH6A1 ,ACSS1 ,ABAT ,ACACB ,ALDH3A2

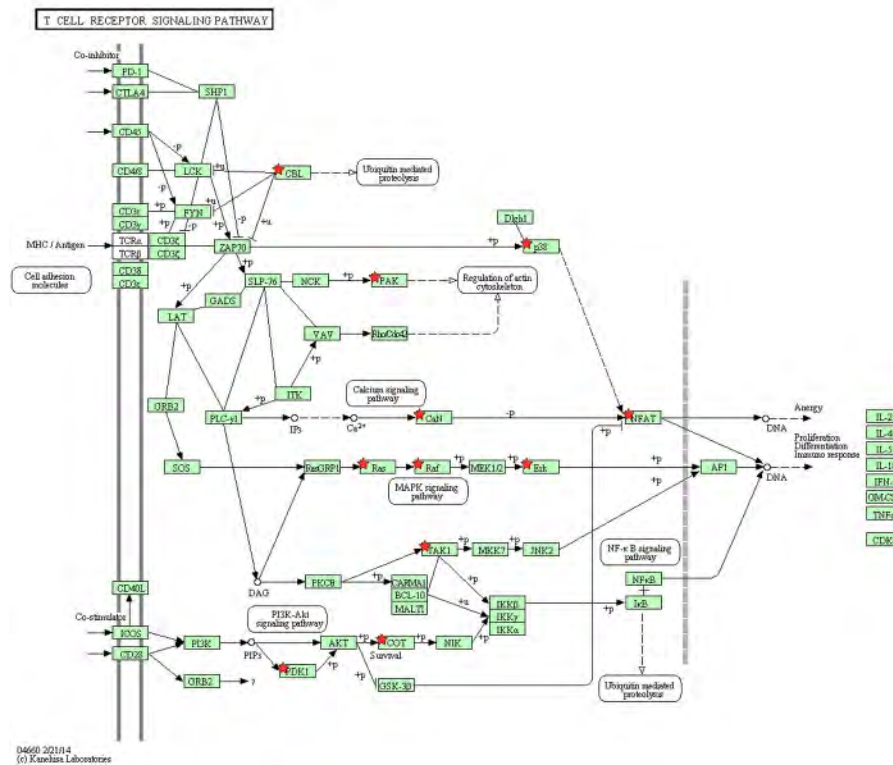


图 6 miR-201-3p 靶基因在 T 细胞受体信号通路图中的分布
 Fig 6 Distribution of the predicted target genes of miR-201-3p in T cell receptor signaling pathway

3 讨论

哮喘为临床常见疾病,其发病率逐年升高^[1]。miRNA 在哮喘的发生发展中发挥重要的作用。Moschos 等^[7]发现,细菌脂多糖(LPS)诱导了炎性肺组织中 miRNA 表达谱的改变。miRNAs 在 CD4⁺ T 细胞分化发育过程中起着重要的调控作用,如 miR-155 可抑制转录因子 c-Maf 的表达,下调 miR-155 可促进 IL-4、IL-5 和 IL-13 等 Th2 型细胞因子分泌,同时降低了 B 和 T 细胞反应^[8]。Zhang 等^[9]研究表明过敏性哮喘患者外周血 CD4⁺ T 细胞中 miR-155 表达下调,其表达水平与哮喘严重程度相关,提示 miRNA 调控 CD4⁺ T 细胞分化在哮喘中发挥重要作用。前期实验发现,miR-201-3p 在哮喘模型的小鼠脾 CD4⁺ T 细胞中表达升高,提示该 miRNA 可能参与了哮喘发病过程中 CD4⁺ T 细胞功能的调节。

miRNA 通过对靶基因进行转录后的表达调控,在多种生理、病理过程中发挥重要作用。Tomankova 等^[10]研究表明,miRNA 在哮喘、肺癌、肺纤维化等肺部疾病中表达异常,其可通过多条信号转导通路参与气道重塑等病理生理过程。本研究应用 miRanda、miRDB、miRWalk 和 Targetscan 4 个数据库对 miR-201-3p 的潜在靶基因预测后,共获得了 5201 个

潜在靶基因,其中有 1082 个靶基因同时出现在 3 个和 3 个以上数据库。进一步对这 1082 个靶基因进行 GO 分类后,发现这些靶基因的分子功能主要是蛋白结合、催化活性等。KEGG 信号通路富集结果发现,这些靶基因主要存在于与炎症有关的信号通路如 MAPK、Wnt、趋化因子、TGF-β、胰岛素信号、T 细胞受体信号通路(T cell receptor signaling pathway)、VEGF 信号通路等。

本研究获得的 T 细胞受体信号通路基因包括 PDK1、MAP3K7、CBLB、KRAS、PAK2 等。Park 等^[11]将 T 细胞的 PDK1 基因敲除后发现 TCR-CD28 信号无法诱导活化 NF-κB 或蛋白激酶 C-θ 的磷酸化,说明 PDK1 对整合 TCR 和 CD28 之间的信号至关重要。KRAS 原癌基因是细胞增殖的重要调节因子^[12],研究表明,let-7(一种 miRNA)可通过结合 KRAS 的 3' UTR 进而抑制 KRAS 的表达,从而抑制非小细胞肺癌的发生^[13]。miR-201-3p 的靶基因 PDK1 和 KRAS 在哮喘发病过程中是否通过该信号通路发挥作用有待于进一步研究。

经典的 MAPK 通路(MAP kinase pathway)主要包括细胞外信号调节激酶(ERK)信号通路、c-Jun N 端激酶(JNK)/应激活化蛋白(SAPK)信号通路、p38

MAPK 信号通路和 ERK5/大丝裂素活化蛋白激酶 (BMK1) 信号通路参与了细胞运动、凋亡、分化及生长增殖等多种生理过程。研究证实 p38 MAPK 和 ERK 是烟草烟雾诱发气道炎症和肺气肿的重要信号通路^[14]。Shin 等研究发现褪黑素可减弱 ERK 通路磷酸化从而有效抑制由 LPS 或吸烟导致的气道炎症^[15]。Wan 等证实分泌球蛋白 (SCGB32A) 可限制 ERK 和 JNK 通路的磷酸化,从而减轻由 LPS 所致的气道炎症^[16]。这些 MARK 信号通路既高度特异又存在一定的交叉。p38 和 BMK1 在 TNF- α 诱导 c-jun 转录的调控中具有协同作用。p38 和 BMK1 可分别上调 MEF2A 和 MEF2D 的转录活性。TNF- α 通过激活 p38 和 BMK1,使 MEF2A 和 MEF2D 磷酸化,从而诱导 MEF2A/MEF2D 异源二聚体形成,这在 TNF- α 诱导的 c-jun 基因转录表达调控中起着重要的作用^[17]。本研究发现,TRAF2、ERK、BMK1、MAPKAPK2、MAP3K、MAX 等 27 个分子富集于 MAPK 通路(图 4),这说明 miR-201-3p 可能通过该通路参与了哮喘发病过程中对 CD4⁺ T 细胞的调节作用。

正常生理状态下,干细胞中 β -catenin 主要通过启动经典的 Wnt/ β -catenin 通路激活下游基因^[18];而在低氧时,低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 也促进 β -catenin 活性以调节 Wnt/ β -catenin 信号通路^[19]。应用 DNA 微阵列方法发现在支气管哮喘患者外周血中的 Wnt 5a 显著升高^[20]。本研究也发现有 16 个靶基因富集于 Wnt/ β -catenin 信号通路(图 5),提示 miR-201-3p 可能通过该信号通路诱发哮喘的发生。

总之,本研究预测了 miR-201-3p 的靶基因及可能涉及的信号通路,这些信号通路在以往研究中已被证实参与了气道炎症与气道重塑等病理生理过程。但 miR-201-3p 是否在炎症和气道重塑中也通过这些通路进行调节尚需进一步的实验验证。

【参考文献】

- [1] Reddel HK, Hurd SS, Fitzgerald JM. World Asthma Day. GINA 2014: a global asthma strategy for a global problem [J]. *Int J Tuberc Lung Dis* 2014, 18(5): 505-506.
- [2] Robinson D, Hamid Q, Bentley A, et al. Activation of CD4⁺ T cells increased TH2-type cytokine mRNA expression and eosinophil recruitment in bronchoalveolar lavage after allergen inhalation challenge in patients with atopic asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol* 1993, 92(2): 313-324.
- [3] Wills-Karp M. Immunologic basis of antigen-induced airway hyper-responsiveness [J]. *Annu Rev Immunol* 1999, 17: 255-281.
- [4] Seguin RM, Ferrari N. Emerging oligonucleotide therapies for asthma and chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Expert Opin Investig Drugs* 2009, 18(10): 1505-1517.
- [5] Li DF, Tian J, Guo X, et al. Induction of microRNA-24 by HIF-1 protects against ischemic injury in rat cardiomyocytes [J]. *Physiol Res* 2012, 61(6): 555-565.
- [6] 姜玉新, 马玉成, 李朝品. 尘螨 II 类改组变应原对哮喘小鼠免疫治疗的效果 [J]. *山东大学学报: 医学版* 2012, 50(10): 50-55.
- [7] Moschos SA, Williams AE, Perry MM, et al. Expression profiling in vivo demonstrates rapid changes in lung microRNA levels following lipopolysaccharide-induced inflammation but not in the anti-inflammatory action of glucocorticoids [J]. *BMC Genomics* 2007, 8: 240.
- [8] Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function [J]. *Science* 2007, 316(5824): 608-611.
- [9] 张莺莺, 钟民, 张梦莹, 等. 过敏性哮喘患者外周血 CD4⁺ T 细胞中 miR-155 的表达及临床意义 [J]. *细胞与分子免疫学杂志* 2012, 28(5): 540-543.
- [10] Tomankova T, Petrek M, Kriegova E. Involvement of microRNAs in physiological and pathological processes in the lung [J]. *Respir Res* 2010, 11: 159.
- [11] Park SG, Schulze-Luehrman J, Hayden MS, et al. The kinase PDK1 integrates T cell antigen receptor and CD28 coreceptor signaling to induce NF- κ B and activate T cells [J]. *Nat Immunol* 2009, 10(2): 158-166.
- [12] Kamnoub AE, Weinberg RA. Ras oncogenes: split personalities [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008, 9(7): 517-531.
- [13] Chin LJ, Ratner E, Leng S, et al. A SNP in a let-7 microRNA complementary site in the KRAS 3' untranslated region increases non-small cell lung cancer risk [J]. *Cancer Res* 2008, 68(20): 8535-8540.
- [14] Gu W, Song L, Li XM, et al. Mesenchymal stem cells alleviate airway inflammation and emphysema in COPD through down-regulation of cyclooxygenase-2 via p38 and ERK MAPK pathways [J]. *Sci Rep* 2015, 5: 8733.
- [15] Shin IS, Shin NR, Park JW, et al. Melatonin attenuates neutrophil inflammation and mucus secretion in cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary diseases via the suppression of Erk-Sp1 signaling [J]. *J Pineal Res* 2015, 58(1): 50-60.
- [16] Wang X, Tanino Y, Sato S, et al. Secretoglobin 3A2 Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Inflammation Through Inhibition of ERK and JNK Pathways in Bronchial Epithelial Cells [J]. *Inflammation*, 2015, 38(2): 828-834.
- [17] 赵明, 刘亚伟, 刘爱华, 等. 细胞信号转导分子在 TNF- α 诱导 c-jun 基因表达中的作用 [J]. *生物化学与生物物理学报* 2000, 32(3): 258-264.
- [18] Voronkov A, Krauss S. Wnt/beta-catenin signaling and small molecule inhibitors [J]. *Curr Pharm Des* 2013, 19(4): 634-664.
- [19] Mazumdar J, O'Brien WT, Johnson RS, et al. O₂ regulates stem cells through Wnt/beta-catenin signalling [J]. *Nat Cell Biol* 2010, 12(10): 1007-1013.
- [20] Van Scoyk M, Randall J, Sergew A, et al. Wnt signaling pathway and lung disease [J]. *Transl Res* 2008, 151(4): 175-180.