

lncRNA SNHG6 对高糖诱导的人视网膜微血管内皮细胞损伤的影响

吴海星¹, 周金红², 吴田莉², 章沐曦², 李小义², 张学东³

引用: 吴海星, 周金红, 吴田莉, 等. lncRNA SNHG6 对高糖诱导的人视网膜微血管内皮细胞损伤的影响. 国际眼科杂志, 2024, 24(11): 1715-1720.

作者单位: ¹(400000) 中国重庆市沙坪坝区陈家桥医院眼科; ²(629000) 中国四川省遂宁市第一人民医院眼科; ³(400042) 中国重庆市, 重庆医科大学附属第一医院眼科

作者简介: 吴海星, 硕士, 副主任医师, 科主任, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 张学东, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼底病. zxued@sina.com

收稿日期: 2023-11-30 修回日期: 2024-08-30

摘要

目的: 探讨 lncRNA SNHG6 对高糖诱导的人视网膜微血管内皮细胞 (hRMECs) 损伤的影响及其可能的作用机制。

方法: 采用高糖诱导 hRMECs 建立细胞损伤模型。高糖 (HG) 组将 hRMECs 培养在浓度为 25 mmol/L D-葡萄糖的 DMEM 培养基 24 h; 正常 (NG) 组将 hRMECs 培养在浓度为 5.5 mmol/L D-葡萄糖的 DMEM 培养基; 按照实验设计分别将 si-NC、si-SNHG6、si-SNHG6 和 anti-miR-NC、si-SNHG6 和 anti-miR-186-5p 转染至 hRMECs, 随后 25 mmol/L D-葡萄糖孵育 24 h, 分别记为 HG+si-NC 组、HG+si-SNHG6 组、HG+si-SNHG6+anti-miR-NC 组、HG+si-SNHG6+anti-miR-186-5p 组。qRT-PCR 法检测 lncRNA SNHG6、miR-186-5p 的表达量; 双荧光素酶报告实验检测 lncRNA SNHG6 与 miR-186-5p 的靶向关系; MTT 法与流式细胞术分别检测细胞增殖及凋亡; ELISA 法检测 IL-1 β 、TNF- α 、IL-8、IL-10 的水平; 采用试剂盒检测 SOD 的活性和 MDA 的水平; Western blot 检测 cleaved-caspase3、Bax、Bcl-2 蛋白表达量。

结果: HG 组与 NG 组比较 lncRNA SNHG6 表达升高, miR-186-5p 表达降低 (均 $P < 0.05$); lncRNA SNHG6 可靶向结合 miR-186-5p。转染 si-SNHG6 后细胞增殖抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3、Bax 蛋白水平, IL-1 β 、TNF- α 、IL-8 含量以及 MDA 活性降低 ($P < 0.05$), 而 Bcl-2 蛋白、IL-10 含量以及 SOD 的活性升高 ($P < 0.05$)。共转染 si-SNHG6 和 anti-miR-186-5p 后, 细胞增殖抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3、Bax、IL-1 β 、TNF- α 、IL-8 以及 MDA 升高 ($P < 0.05$), 而 Bcl-2 蛋白、IL-10 和 SOD 降低 ($P < 0.05$)。

结论: 干扰 lncRNA SNHG6 表达可通过促进 miR-186-5p 表达而抑制高糖诱导的 hRMECs 凋亡、炎症反应及氧化应激。

关键词: 人视网膜微血管内皮细胞; lncRNA SNHG6; miR-186-5p; 细胞增殖; 凋亡; 炎症; 氧化应激

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2024.11.05

Effect of lncRNA SNHG6 on high glucose-induced human retinal microvascular endothelial cell injury

Wu Haixing¹, Zhou Jinhong², Wu Tianli², Zhang Muxi², Li Xiaoyi², Zhang Xuedong³

¹Department of Ophthalmology, Chenjiaqiao Hospital of Shapingba District, Chongqing 400000, China; ²Department of Ophthalmology, Suining First People's Hospital, Suining 629000, Sichuan Province, China; ³Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400042, China

Correspondence to: Zhang Xuedong, Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400042, China. zxued@sina.com

Received: 2023-11-30 Accepted: 2024-08-30

Abstract

• **AIM:** To explore the effect of lncRNA SNHG6 on injury of human retinal microvascular endothelial cells (hRMECs) induced by high glucose and its possible mechanism.

• **METHODS:** The D-glucose-induced hRMECs were used to establish normal glucose (NG) and high glucose (HG) cell injured model. In the HG group, the hRMECs were cultured in DMEM medium at a concentration of 25 mmol/L D-glucose for 24 h, while in the NC group, they were cultured in DMEM medium at a concentration of 5.5 mmol/L D-glucose; according to experimental design, si-NC, si-SNHG6, si-SNHG6 and anti-miR-NC and si-SNHG6 and anti-miR-186-5p were transfected into hRMECs, and then incubated at a concentration of 25 mmol/L D-glucose for 24 h, with HG+si-NC group, HG+si-SNHG6 group, HG+si-SNHG6+anti-miR-NC group and HG+si-SNHG6+anti-miR-186-5p group marked, respectively. The quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression of lncRNA SNHG6 and miR-186-5p; dual-luciferase reporter assay was used to detect the targeting relationship; MTT assay and flow cytometry were used to detect the cell proliferation and apoptosis, respectively; enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of IL-1 β , TNF- α , IL-8, IL-10; testing kits were used to detect activity of SOD and level of MDA; the Western blot was used to detect the protein expression of cleaved-caspase3, Bax and Bcl-2.

• **RESULTS:** The lncRNA SNHG6 expression increased in the HG group, while miR-186-5p expression decreased (both $P < 0.05$). There was target binding of lncRNA SNHG6 with miR-186-5p. After the transfection of si-SNHG6, cell inhibition rate, apoptosis rate, cleaved-caspase3, Bax protein levels, IL-1 β , TNF- α , IL-8 contents, and MDA activity were decreased ($P < 0.05$), while Bcl-2 protein, IL-10 contents, and SOD activity were increased ($P < 0.05$). Co-transfection of si-SNHG6 and anti-miR-186-5p increased cell proliferation inhibition rate, apoptosis rate, cleaved-caspase3, Bax, IL-1 β , TNF- α , IL-8, and MDA ($P < 0.05$), but decreased Bcl-2, IL-10 and SOD ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Interfering with lncRNA SNHG6 could inhibit cell apoptosis, inflammation and oxidative stress of high-glucose-induced hRMECs by elevating the expression of miR-186-5p.

• **KEYWORDS:** human retinal microvascular endothelial cells; lncRNA SNHG6; miR-186-5p; cell proliferation; apoptosis; inflammation; oxidative stress

Citation: Wu HX, Zhou JH, Wu TL, et al. Effect of lncRNA SNHG6 on high glucose-induced human retinal microvascular endothelial cell injury. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2024, 24(11):1715-1720.

0 引言

糖尿病视网膜病变是糖尿病常见并发症之一,其特征为视网膜微血管的功能障碍,血管内皮细胞损伤可破坏视网膜内屏障而导致糖尿病患者视力丧失^[1-2]。炎症反应、氧化应激等因素在糖尿病视网膜病变引起的血管内皮细胞损伤中发挥重要作用,尤其在血管内皮细胞凋亡方面^[3]。长链非编码RNA(lncRNA)是一种功能RNA,可通过作为微小RNA(miRNA)的竞争性内源RNA(ceRNA)负向调控miRNA的表达参与糖尿病视网膜病变过程^[4]。lncRNA SNHG6在缺氧/复氧诱导的心肌细胞中表达水平升高,沉默lncRNA SNHG6可抑制缺氧/复氧诱导的心肌细胞凋亡而减轻心肌细胞损伤^[5]。但lncRNA SNHG6与糖尿病视网膜病变机制的相关性尚未可知。通过Starbase数据库预测,本研究发现miR-186-5p与lncRNA SNHG6存在互补序列。有研究报道高糖诱导的心肌细胞中低表达miR-186-5p,其表达上调可缓解高糖环境中心肌细胞的损伤^[6]。但lncRNA SNHG6是否通过影响miR-186-5p的表达参与调节糖尿病视网膜病变尚未可知。因此,本实验探讨lncRNA SNHG6是否参与高糖诱导的人视网膜微血管内皮细胞(hRMECs)损伤,以及该过程是否涉及miR-186-5p。

1 材料和方法

1.1 材料 DMEM培养基、胎牛血清与胰蛋白酶购自上海碧云天生物;hRMECs购自上海中乔新舟生物科技有限公司;Lipofectamine2000试剂、Trizol试剂、反转录与SYBR Green试剂盒购自美国Thermo Fisher;pmirGLO载体及检测试剂盒购自美国Promega;si-NC、si-SNHG6、anti-miR-NC、anti-miR-186-5p、miR-NC、miR-186-5p mimics购自广州锐博生物科技有限公司;MTT试剂、细胞凋亡检测试

剂盒由北京索莱宝提供;ELISA试剂盒购自上海酶联生物;SOD、MDA检测试剂盒由南京建成生物提供;兔抗人Cleaved-caspase3抗体购自武汉艾美捷生物;兔抗人Bax、Bcl-2抗体与内参GAPDH抗体购自美国CST;HRP标记的山羊抗兔IgG二抗购自美国Abcam。

1.2 方法

1.2.1 实验处理及分组 采用高糖诱导hRMECs建立细胞损伤模型。高糖(HG)组将hRMECs培养在浓度为25 mmol/L D-葡萄糖的DMEM培养基24 h^[7];正常(NG)组将hRMECs培养在浓度为5.5 mmol/L D-葡萄糖的DMEM培养基;按照实验设计分别将si-NC、si-SNHG6、si-SNHG6和anti-miR-NC、si-SNHG6和anti-miR-186-5p转染至hRMECs,随后25 mmol/L D-葡萄糖孵育24 h,分别记为HG+si-NC组、HG+si-SNHG6组、HG+si-SNHG6+anti-miR-NC组、HG+si-SNHG6+anti-miR-186-5p组。

1.2.2 qRT-PCR法检测lncRNA SNHG6和miR-186-5p的表达量 用Trizol试剂提取hRMECs中的总RNAs,随后在37℃孵育15 min,85℃孵育5 s以合成cDNA。将合成的cDNA作为扩增模板进行qRT-PCR分析。lncRNA SNHG6 5'-ATACTTCTGCTTCGTTACCT-3'和5'-CTCATTTTCATCATTTTGGCT-3';miR-186-5p 5'-AAGAATTCTCCTTTTGGGCT-3'和5'-GTGCGTGTCTGGAGTCC-3';GAPDH 5'-GGTCACCAGGGCTGCTTT-3'和5'-GGAAGATGGTGATGGGATT-3';U6 5'-TCGCTTCGGCAGCACATA-3'和5'-TTTGCCTGTCATCCTTGC-3'。以GAPDH或U6为内参,使用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 方法定量mRNA的相对表达水平。

1.2.3 双荧光素酶报告实验 用Starbase在线数据库预测miR-186-5p和lncRNA SNHG6的互补序列。将预测的野生型(wt)序列以及利用点突变试剂盒得到的突变(mut)序列扩增并克隆到pmirGLO载体,以构建wt-SNHG6和mut-SNHG6双荧光素酶报告载体。随后将构建的载体和miR-NC或miR-186-5p mimics共转染至hRMECs,48 h后检测荧光素酶活性。

1.2.4 MTT法检测细胞活性 将收集的细胞(1 000个/每孔)与20 μ L MTT溶液加入到96孔板,孵育4 h,弃培养基,将150 μ L DMSO加入到每孔中去除MTT结晶。最后在酶标仪上检测波长490 nm处的吸光度值(A值)。

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡率 用胰蛋白酶消化各组hRMECs(每毫升 1×10^5 个),3 000 r/min转速离心5 min,去上清,PBS洗涤,将细胞重悬于含有5 μ L Annexin V-FITC和5 μ L PI的结合缓冲液(400 μ L)中,避光孵育15 min,流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.6 Western blot检测cleaved-caspase3和Bax及Bcl-2蛋白表达量 采用RIPA裂解缓冲液裂解各组细胞以提取总蛋白。利用15% SDS-PAGE分离蛋白质,然后将分离的蛋白质转移到PVDF膜上,用5%牛血清白蛋白室温下封闭膜2 h后,将膜与cleaved-caspase3(1:1000)、Bax(1:800)、Bcl-2(1:800)一抗在4℃下孵育过夜。TBST洗涤后,加入二抗稀释液(1:3000)室温孵育2 h。利用ECL底物试剂盒检测蛋白信号。

1.2.7 ELISA法检测炎症因子水平 收集各组hRMECs培养上清液,用抗体处理hRMECs上清,振荡孵育1 h,然后在样品中加入100 μ L底物,避光振荡孵育10 min。向样品中加入100 μ L终止溶液,最后记录吸光度值。

1.2.8 检测 SOD 活性和 MDA 水平 采用反复冻融法裂解收集各组 hRMECs, 离心后收集上清液, 按照 SOD 和 MDA 试剂盒说明检测 SOD 的活性和 MDA 的水平。

统计学分析: 采用 SPSS 21.0 软件分析数据, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验; 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 Tukey 检验; 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 高糖诱导的 hRMECs 中 lncRNA SNHG6 和 miR-186-5p 的表达 与 NG 组比较, HG 组中 lncRNA SNHG6 的表达量升高, 而 miR-186-5p 表达量降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1。

2.2 lncRNA SNHG6 和 miR-186-5p 的转染效率

与 si-NC 组比较, si-SNHG6 组中 lncRNA SNHG6 表达降低; 与 anti-miR-NC 组比较, anti-miR-186-5p 组中 miR-186-5p 表达降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2。

2.3 双荧光素酶报告实验结果 lncRNA SNHG6 与 miR-186-5p 存在互补序列, 见图 3A。和 miR-NC 组相比,

miR-186-5p 和 wt-SNHG6 共转染显著降低细胞荧光素酶活性, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而对于 mut-SNHG6 细胞, miR-186-5p 或 miR-NC 转染后荧光素酶活性变化无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 3B。si-SNHG6 组细胞中 miR-186-5p 含量和 si-NC 组相比显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3C。

2.4 lncRNA SNHG6 对高糖诱导的 hRMECs 损伤影响

和 NG 组相比, HG 组细胞表现为细胞增殖抑制率、细胞凋亡率升高、cleaved-caspase3 和 Bax 蛋白含量上调以及 Bcl-2 蛋白含量降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 HG 组和 HG+si-NC 组比较, HG+si-SNHG6 组细胞增殖抑制率、细胞凋亡率、Bax 和 cleaved-caspase3 蛋白表达量均降低, Bcl-2 蛋白表达量升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 和 HG+si-SNHG6+anti-miR-NC 组相比, HG+si-SNHG6+anti-miR-186-5p 组的细胞增殖抑制率、细胞凋亡率以及 Bax 和 cleaved-caspase3 蛋白水平升高, 而 Bcl-2 蛋白水平降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1, 图 4。

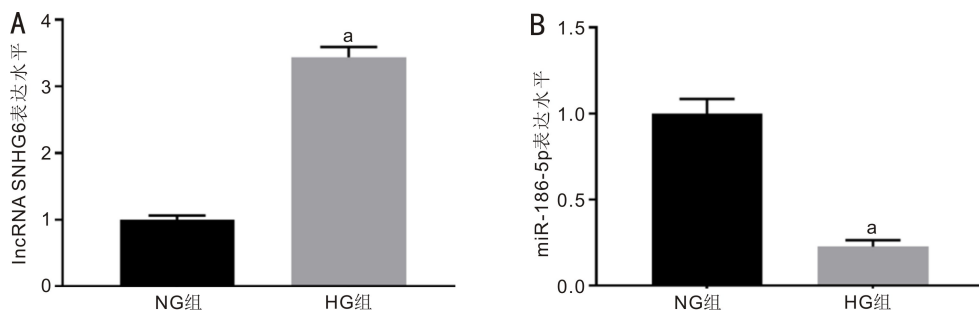


图 1 高糖诱导的 hRMECs 中 lncRNA SNHG6 和 miR-186-5p 的表达水平 A:lncRNA SNHG6; B:miR-186-5p; ^a $P < 0.05$ vs NG 组。

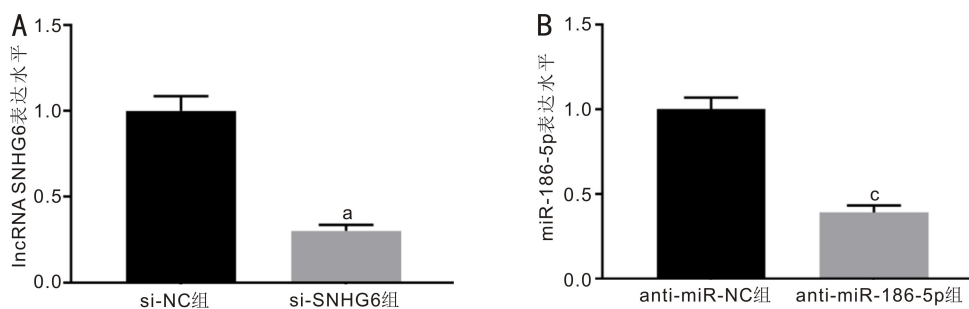


图 2 lncRNA SNHG6 和 miR-186-5p 的转染效率 A:lncRNA SNHG6; B:miR-186-5p; ^a $P < 0.05$ vs si-NC 组; ^c $P < 0.05$ vs anti-miR-NC 组。

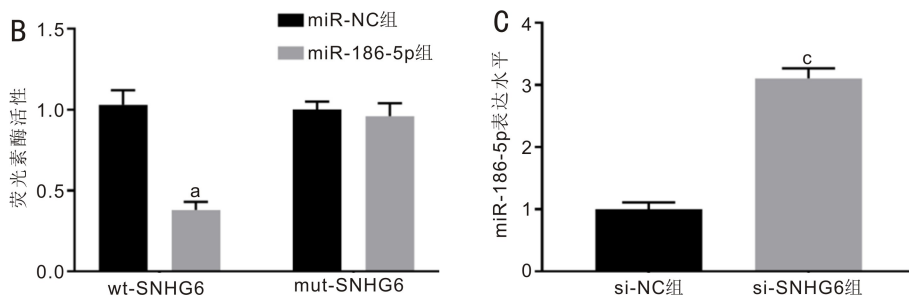
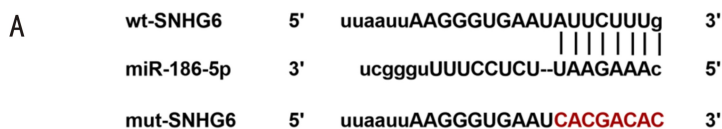


图 3 双荧光素酶报告实验结果 A:lncRNA SNHG6 和 miR-186-5p 的互补序列; B:转染后荧光素酶活性; C:miR-186-5p 表达水平; ^a $P < 0.05$ vs miR-NC 组; ^c $P < 0.05$ vs si-NC 组。

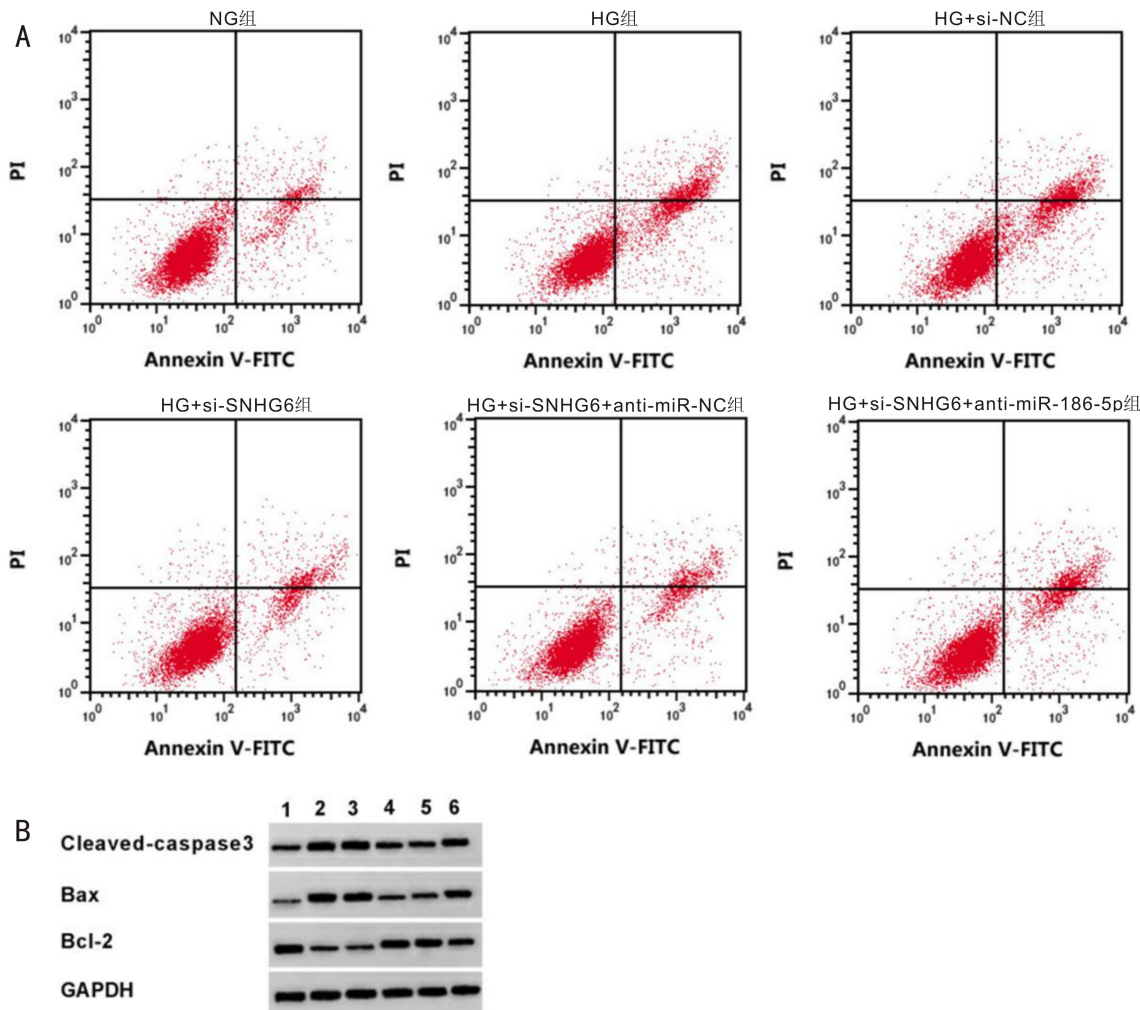


图4 lncRNA SNHG6 对高糖诱导的 hRMECs 损伤影响 A:凋亡率;B:蛋白表达。

表1 lncRNA SNHG6 对高糖诱导的 hRMECs 损伤影响

(n=9, $\bar{x} \pm s$)

分组	增殖抑制率(%)	凋亡率(%)	cleaved-caspase3	Bax	Bcl-2
NG 组	0	7.25±0.85	0.25±0.03	0.13±0.02	0.76±0.06
HG 组	45.98±2.03 ^a	23.41±1.34 ^a	0.75±0.05 ^a	0.67±0.04 ^a	0.21±0.02 ^a
HG+si-NC 组	45.85±2.28	23.64±1.16	0.75±0.07	0.69±0.05	0.22±0.02
HG+si-SNHG6 组	18.44±1.22 ^{c,e}	11.23±0.65 ^{c,e}	0.31±0.04 ^{c,e}	0.23±0.02 ^{c,e}	0.59±0.05 ^{c,e}
HG+si-SNHG6+anti-miR-NC 组	18.25±1.60	11.28±0.57	0.29±0.04	0.23±0.02	0.60±0.06
HG+si-SNHG6+anti-miR-186-5p 组	34.84±1.68 ^e	19.47±0.79 ^e	0.59±0.05 ^e	0.53±0.04 ^e	0.29±0.04 ^e
F	1103.271	509.343	212.297	475.096	244.696
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:^aP<0.05 vs NG 组;^cP<0.05 vs HG 组;^eP<0.05 vs HG+si-NC 组;^eP<0.05 vs HG+si-SNHG6+anti-miR-NC 组。

2.5 lncRNA SNHG6 在高糖诱导的 hRMECs 中对炎症因子水平的影响 和 NG 组相比,HG 组的 IL-1 β 、IL-8 和 TNF- α 的水平升高,而 IL-10 的水平降低,差异均有统计学意义(P<0.05);与 HG 组和 HG+si-NC 组比较,HG+si-SNHG6 组的 IL-1 β 、TNF- α 、IL-8 水平降低、IL-10 的水平升高,差异均有统计学意义(P<0.05);与 HG+si-SNHG6+anti-miR-NC 组比较,HG+si-SNHG6+anti-miR-186-5p 组的 IL-1 β 、TNF- α 、IL-8 水平升高,IL-10 的水平降低,差异均有统计学意义(P<0.05),见表 2。

2.6 lncRNA SNHG6 对高糖诱导的 hRMECs 氧化应激的影响 和 NG 组比较,HG 组的 SOD 活性降低、MDA 水平升

高,差异均有统计学意义(P<0.05);与 HG 组和 HG+si-NC 组比较,HG+si-SNHG6 组的 SOD 活性升高、MDA 水平降低,差异均有统计学意义(P<0.05);与 HG+si-SNHG6+anti-miR-NC 组比较,HG+si-SNHG6+anti-miR-186-5p 组的 SOD 活性降低、MDA 水平升高,差异均有统计学意义(P<0.05),见表 3。

3 讨论

研究已指出 lncRNA 在糖尿病视网膜病变中表达异常并参与调控糖尿病视网膜病变进程,此外,lncRNA 富含多个 miRNA 的结合位点,可通过竞争性结合 miRNA 而阻止 miRNA 对靶基因的抑制作用^[8-10]。lncRNA SNHG6 是

表2 lncRNA SNHG6 在高糖诱导的 hRMECs 中对炎症因子水平的影响 ($n=9, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

分组	IL-1 β	TNF- α	IL-8	IL-10
NG 组	14.79 \pm 1.73	30.55 \pm 4.87	21.53 \pm 1.88	227.08 \pm 15.62
HG 组	79.92 \pm 9.82 ^a	109.48 \pm 9.40 ^a	141.60 \pm 12.73 ^a	45.07 \pm 6.93 ^a
HG+si-NC 组	82.41 \pm 8.13	114.91 \pm 13.61	139.78 \pm 12.94	48.78 \pm 5.24
HG+si-SNHG6 组	24.44 \pm 1.17 ^{c,e}	54.18 \pm 6.74 ^{c,e}	43.93 \pm 2.46 ^{c,e}	175.90 \pm 13.87 ^{c,e}
HG+si-SNHG6+anti-miR-NC 组	24.71 \pm 1.04	53.63 \pm 6.25	43.79 \pm 2.29	169.14 \pm 18.98
HG+si-SNHG6+anti-miR-186-5p 组	72.96 \pm 6.44 ^e	99.81 \pm 7.99 ^e	118.66 \pm 11.17 ^e	76.02 \pm 5.27 ^e
<i>F</i>	258.097	151.150	339.607	354.610
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:^a P <0.05 vs NG 组;^c P <0.05 vs HG 组;^e P <0.05 vs HG+si-NC 组;^e P <0.05 vs HG+si-SNHG6+anti-miR-NC 组。

表3 lncRNA SNHG6 对高糖诱导的 hRMECs 氧化应激的影响 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

分组	SOD(U/L)	MDA(nmol/mL)
NG 组	79.23 \pm 8.27	49.31 \pm 5.09
HG 组	12.11 \pm 1.43 ^a	252.12 \pm 15.16 ^a
HG+si-NC 组	11.74 \pm 0.95	258.66 \pm 21.96
HG+si-SNHG6 组	64.35 \pm 6.59 ^{c,e}	70.55 \pm 8.05 ^{c,e}
HG+si-SNHG6+anti-miR-NC 组	63.53 \pm 5.84	68.73 \pm 8.46
HG+si-SNHG6+anti-miR-186-5p 组	23.23 \pm 1.29 ^e	208.78 \pm 11.66 ^e
<i>F</i>	323.540	520.971
<i>P</i>	<0.05	<0.05

注:^a P <0.05 vs NG 组;^c P <0.05 vs HG 组;^e P <0.05 vs HG+si-NC 组;^e P <0.05 vs HG+si-SNHG6+anti-miR-NC 组。

一种长非编码 RNA,目前还没有文献报道 lncRNA SNHG6 在视网膜病变中的调控作用。本研究利用高糖诱导的 hRMECs 作为细胞模型首次分析 lncRNA SNHG6 在糖尿病视网膜病变中的可能作用。结果显示干扰 lncRNA SNHG6 表达可通过上调 miR-186-5p 表达而抑制高糖诱导的 hRMECs 凋亡、炎症反应及氧化应激。

本研究首先揭示高糖增加 hRMECs 凋亡率、抑制细胞增殖,这与既往报道^[11]结果相似。cleaved-caspase3、Bax 和 Bcl-2 是细胞凋亡过程中的重要蛋白。当细胞受到外界刺激或内部基因表达变化时,cleaved-caspase3 会被触发,启动细胞凋亡程序;Bax 是一种促细胞死亡的 Bcl-2 家族蛋白,能够促进细胞死亡;Bcl-2 是一种抗细胞死亡的 Bcl-2 家族蛋白,能够阻止 cleaved-caspase3 等蛋白酶的活性,从而抑制细胞死亡^[12]。本研究结果展示 hRMECs 在高糖处理后 cleaved-caspase3、Bax 高表达,但 Bcl-2 低表达,表明高糖处理诱导 hRMECs 凋亡。IL-1 β 能够促进炎症反应的发生,增强血管通透性,诱导白细胞的浸润和激活;TNF- α 能够引发炎症反应、促进血管扩张、诱导细胞凋亡,并促进其他炎症介质的产生;IL-8 是一种趋化因子,能够引导白细胞向炎症局部迁移;IL-10 能够抑制炎症反应、减轻组织损伤,调节免疫反应^[13-14]。本研究发现在高糖诱导的 hRMECs 中,促炎因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-8 表达升高,而抑炎因子 IL-10 表达降低,表明高糖处理能促进 hRMECs 中炎症反应。SOD 是一种抗氧化酶,SOD 活性和含量可以反映机体抗氧化能力的大小;MDA 是脂质过氧化反应的最终产物之一,它的产生量通常被用来评估脂质过氧化的程度,从而间接反映氧化应激的水平^[15]。

本研究通过检测高糖诱导的 hRMECs 中 SOD 和 MDA 的表达,发现 SOD 是低表达的,MDA 是高表达的,这表明高糖诱导 hRMECs 中氧化应激反应。随后,研究揭示高糖诱导的 hRMECs 高表达 lncRNA SNHG6。实验进一步发现在高糖环境下降低 hRMECs 中 lncRNA SNHG6 表达含量可以促进细胞增殖、抑制凋亡。并且干扰细胞中 lncRNA SNHG6 的表达后,可缓解高糖引起的炎症反应。与此同时,本次实验还发现干扰 lncRNA SNHG6 可以减弱高糖诱导 hRMECs 氧化应激。这些结果说明了干扰 lncRNA SNHG6 表达能够减弱高糖诱导 hRMECs 损伤。

随后,本研究分析与 lncRNA SNHG6 有结合位点的 miRNAs。研究结果显示,miR-186-5p 含有 lncRNA SNHG6 结合位点。有研究报道缺氧诱导的血管内皮细胞低表达 miR-186-5p,而 miR-186-5p 过表达抑制缺氧诱导的内皮细胞损伤^[16]。上调 miR-186-5p 表达可改善氧化低密度脂蛋白诱导的血管内皮细胞功能障碍^[17]。另外,Li 等^[18]研究指出 miR-186-5p 在视网膜母细胞瘤中低表达,miR-186-5p 高表达有助于视网膜母细胞瘤细胞凋亡。本研究首次分析了 miR-186-5p 在视网膜病变中的影响。在本次实验中,在高糖诱导 hRMECs 中 miR-186-5p 含量显著降低,lncRNA SNHG6 可充当 miR-186-5p 的 ceRNA。同时本研究结果显示抑制 miR-186-5p 表达可减弱 lncRNA SNHG6 对 hRMECs 的作用,提示 lncRNA SNHG6 可能通过 miR-186-5p 参与糖尿病视网膜病变过程。

综上所述,lncRNA SNHG6 可通过促进视网膜微血管内皮细胞中 miR-186-5p 表达而抑制高糖诱导细胞凋亡、

炎症反应及氧化应激。该结果表明 lncRNA SNHG6 可能是治疗糖尿病视网膜病的新靶标,但其临床功能仍需进一步的实验验证。

参考文献

[1] Thomas AA, Biswas S, Feng B, et al. lncRNA H19 prevents endothelial-mesenchymal transition in diabetic retinopathy. *Diabetologia*, 2019,62(3):517-530.

[2] Liu YF, Ji YK, Fei FQ, et al. Research progress in artificial intelligence assisted diabetic retinopathy diagnosis. *Int J Ophthalmol*, 2023,16(9):1395-1405.

[3] Yu L, Fu JL, Yu N, et al. Long noncoding RNA MALAT1 participates in the pathological angiogenesis of diabetic retinopathy in an oxygen-induced retinopathy mouse model by sponging miR-203a-3p. *Can J Physiol Pharmacol*, 2020,98(4):219-227.

[4] 徐鑫令, 侯乃方, 王欣玲. 长链非编码 RNA 在眼部疾病中的作用. *国际眼科杂志*, 2020,20(10):1719-1721.

[5] Lang ZB, Fan XZ, Lin HQ, et al. Silencing of SNHG6 alleviates hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte apoptosis by modulating miR-135a-5p/HIF1AN to activate Shh/Gli1 signalling pathway. *J Pharm Pharmacol*, 2021,73(1):22-31.

[6] Jiang JM, Mo HL, Liu C, et al. Inhibition of miR-186-5p contributes to high glucose-induced injury in AC16 cardiomyocytes. *Exp Ther Med*, 2018,15(1):627-632.

[7] 王琪, 周丽, 李静仁, 等. 活化转录因子4参与高糖诱导的人视网膜微血管内皮细胞炎症. *新医学*, 2017,48(7):455-460.

[8] Shi Q, Tang J, Wang M, et al. Knockdown of Long Non-coding RNA TUG1 Suppresses Migration and Tube Formation in High Glucose-Stimulated Human Retinal Microvascular Endothelial Cells by Sponging miRNA-145. *Mol Biotechnol*, 2021, 23(1): 1-12.

[9] Ji Q, Han J, Liu J, et al. LncRNA THRIL promotes high glucose-induced proliferation and migration of human retina microvascular

endothelial cells through enhancing autophagy. *Acta Diabetol*, 2021, 30(1): 1-10.

[10] Gong Q, Dong W, Fan Y, et al. LncRNA TDRG1-Mediated Overexpression of VEGF Aggravated Retinal Microvascular Endothelial Cell Dysfunction in Diabetic Retinopathy. *Front Pharmacol*, 2020, 10(1): 1703-1713.

[11] 周丽萍, 毛晓春, 李琴. miR-1908 抑制高糖诱导的人视网膜血管内皮细胞系 HRECs 凋亡. *基础医学与临床*, 2020, 40(8): 1090-1095.

[12] Xu X, Lai Y, Hua ZC. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep*, 2019, 39(1):BSR20180992.

[13] Wang IC, Sugai JV, Majzoub J, et al. Pro-inflammatory profiles in cardiovascular disease patients with peri-implantitis. *J Periodontol*, 2022, 93(6):824-836.

[14] Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(3):170-181.

[15] Pierzynowska K, Gaffke L, Cyske Z, et al. Oxidative Stress in Mucopolysaccharidoses: Pharmacological Implications. *Molecules*, 2021, 26(18):5616.

[16] Zheng J, Zhuo YY, Zhang C, et al. LncRNA TTTY15 regulates hypoxia-induced vascular endothelial cell injury via targeting miR-186-5p in cardiovascular disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020,24(6): 3293-3301.

[17] Li S, Huang T, Qin L, et al. Circ_0068087 Silencing Ameliorates Oxidized Low-Density Lipoprotein-Induced Dysfunction in Vascular Endothelial Cells Depending on miR-186-5p-Mediated Regulation of Roundabout Guidance Receptor 1. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8(1): 650374-650384.

[18] Li X, Wang Y, Zhang B, et al. Hsa_circ_0119412 Contributes to Development of Retinoblastoma by Targeting miR-186-5p/ELK4 Axis. *Mol Biotechnol*, 2023, 65(10):1608-1618.