

# LncRNA SNHG16靶向miR-425-5p对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响

严婕\* 李琴 朱光昭 贺明元

(青海省中医院, 风湿科, 西宁 810099)

**摘要** 该文旨在探究长链非编码RNA(LncRNA) SNHG16靶向miR-425-5p对类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响及其作用机制。通过qRT-PCR检测SNHG16和miR-425-5p的相对表达量; CCK8、流式细胞术和Western blot分别检测细胞增殖、凋亡及Ki67、Bax蛋白表达情况; 双荧光素酶实验检验SNHG16和miR-425-5p的靶向关系。SNHG16在RA滑膜组织和RA滑膜成纤维细胞中的相对表达量显著增加( $P<0.05$ ), miR-425-5p相对表达量显著降低( $P<0.05$ ); 沉默SNHG16或过表达miR-425-5p可以明显抑制RA滑膜成纤维细胞的增殖( $P<0.05$ ), 并促进细胞凋亡( $P<0.05$ )。SNHG16可以靶向调控miR-425-5p的表达, 抑制miR-425-5p可以部分回复沉默SNHG16对RA滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的作用( $P<0.05$ )。SNHG16可以通过上调miR-425-5p的表达抑制滑膜成纤维细胞的增殖, 并诱导其细胞凋亡, 为研发治疗和诊断类风湿关节炎的新靶点提供参考数据。

**关键词** SNHG16; miR-425-5p; 类风湿关节炎; 增殖; 凋亡

## Effects of LncRNA SNHG16 Targeting miR-425-5p on the Proliferation and Apoptosis of Synovial Fibroblasts in Rheumatoid Arthritis

YAN Jie\*, LI Qin, ZHU Guangzhao, HE Mingyuan

(Department of Rheumatology, Qinghai Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qinghai 810099, China)

**Abstract** This paper aimed to explore the effect of LncRNA (long non-coding RNA) SNHG16 on the proliferation and apoptosis of RA (rheumatoid arthritis) synovial fibroblasts by targeting miR-425-5p and its mechanism. The relative expression levels of SNHG16 and miR-425-5p were detected by qRT-PCR. Cell proliferation, apoptosis and the expression of Ki67 and Bax proteins were detected by CCK8, flow cytometry and Western blot, respectively. Double luciferase experiment was used to examine the targeting relationship between SNHG16 and miR-425-5p. The relative expression of SNHG16 in RA synovial tissues and RA synovial fibroblasts was significantly increased ( $P<0.05$ ), and the relative expression of miR-425-5p was significantly decreased ( $P<0.05$ ). Silencing SNHG16 or overexpression of miR-425-5p significantly inhibited proliferation of RA synovial fibroblasts and promoted cell apoptosis ( $P<0.05$ ). SNHG16 can target and regulate the expression of miR-425-5p, and inhibiting miR-425-5p can partially restore the effects of silencing SNHG16 on the proliferation and apoptosis of RA synovial fibroblasts ( $P<0.05$ ). SNHG16 can inhibit the proliferation of synovial fibroblasts by up-regulating the expression of miR-425-5p, and induce their apoptosis, providing reference data for the development of new targets for the treatment and diagnosis of RA.

**Keywords** SNHG16; miR-425-5p; rheumatoid arthritis; proliferation; apoptosis

收稿日期: 2023-08-03 接受日期: 2023-10-19

\*通讯作者。Tel: 18997381206, E-mail: rkdy5@163.com

Received: August 3, 2023 Accepted: October 19, 2023

\*Corresponding author. Tel: +86-18997381206, E-mail: rkdy5@163.com

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种自身免疫病,其特征是关节炎症及随后的软骨破坏和骨侵蚀<sup>[1]</sup>。RA在全世界的患病率约为0.5%(即每1 000名成年人中有5人患病),可导致严重的关节损伤、残疾、无法工作和死亡率增加<sup>[2]</sup>。RA的主要危险因素包括年龄、性别、家族史、吸烟等<sup>[3]</sup>。滑膜成纤维细胞在某些特征上属于恶性的癌细胞,与增殖、凋亡等生物学过程密切相关,同时滑膜成纤维细胞也是RA滑膜增生和迁移的主效应细胞,在RA的研究中起着十分重要的作用<sup>[4]</sup>。近年来,长链非编码RNA(long noncoding RNA, LncRNA)已经成为研究的热点,是一类长度超过200核苷酸的RNA分子,可以参与增殖、凋亡和转移等多种生物学过程,进而调节癌症及RA的发生和发展<sup>[5-7]</sup>。研究发现,核富集转录体1(nuclear enriched abundant transcript 1, NEAT1)在滑膜组织和成纤维样滑膜细胞中高表达,NEAT1可通过靶向负调控miR-410-3p的表达抑制成纤维细胞的增殖、迁移和侵袭,促进其凋亡和炎症因子的分泌<sup>[8-9]</sup>。LINC01197在RA模型小鼠中低表达,过表达LINC01197抑制了成纤维样滑膜细胞的增殖,增加了其细胞凋亡和炎症反应,LINC01197通过miRNA-150/THBS2轴发挥其在RA中的作用<sup>[10]</sup>。小核仁RNA宿主基因16(small nucleolar RNA host gene 16, SNHG16)位于人染色体区域17q25.1位置上,是新发现的一种LncRNA,最早是在神经母细胞瘤内被报道<sup>[11]</sup>。SNHG16在多种癌症组织和细胞内高表达,其异常高表达与不良预后相关,敲低SNHG16对癌细胞增殖和转移起抑制作用,对凋亡起促进作用<sup>[12]</sup>。CHENG等<sup>[13]</sup>研究结果显示,SNHG16在骨关节炎的软骨组织中表达上调,抑制SNHG16可以抑制软骨细胞的增殖,并促进其细胞凋亡,SNHG16可以通过靶向结合miR-93-5p在骨关节炎中发挥作用。miR-93-5p在RA患者血浆中表达下调<sup>[14]</sup>,但是其影响RA进展的作用机制尚不明确。因此,本研究通过选取RA滑膜成纤维细胞为研究对象,探讨SNHG16通过靶向miR-425-5p对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖与凋亡的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞与主要试剂

胎牛血清(SV30208)、RPMI 1640培养基(SH30809)购自美国HyClone公司; RA滑膜成纤维细胞MH7A

购自广州吉妮欧生物公司; Lipofectamine 2000(11668030)购自Thermo Fisher Scientific公司; si-NC、si-SNHG16、miR-NC、miR-425-5p、pcDNA、SNHG16、anti-miR-NC和anti-miR-425-5p购自广州锐博生物技术有限公司; Trizol试剂盒(ZN00801)、荧光定量试剂盒(ZS00201)购自上海百研生物科技有限公司; 逆转录试剂盒(D6110A)购自宝生物工程(大连)有限公司; qRT-PCR引物购自上海吉玛制药技术有限公司; CCK8试剂盒(CA1210)、凋亡试剂盒(CA1020-20)和双荧光素酶试剂盒(D0010)购自北京索莱宝科技有限公司; Ki67抗体(ab15580)、Bax抗体(ab32503)和GAPDH抗体(ab8245)购自美国Abcam公司。

### 1.2 样本收集

从温州医科大学附属衢州医院选择19例接受膝关节手术的RA患者(RA组)和19例接受关节置换手术的创伤患者(正常组),接受关节置换手术的患者没有其他疾病。所有的RA患者在关节镜下都有明确的临床诊断,符合1987年美国风湿病学会对RA分类的标准。该研究符合《赫尔辛基宣言》道德标准,并获得青海省中医院伦理委员会批准(批准号为H20221109)。所有参与本研究的患者在手术前都签署了书面知情同意书。

### 1.3 细胞培养与转染

取RA滑膜成纤维细胞系MH7A在含有10%热灭活胎牛血清、双抗(青霉素为100 U/mL、链霉素为0.1 mg/mL)的RPMI 1640高糖培养液内,于37 °C、5% CO<sub>2</sub>的饱和湿度条件下孵育。取对数生长期RA滑膜成纤维细胞MH7A,常规培养24 h后,将其接种至6孔培养板内(密度为1×10<sup>5</sup>个/孔),待细胞贴壁生长至75%时按照Lipofectamine 2000说明书转染。细胞分组为: si-NC组(转染si-NC)、si-SNHG16组(转染si-SNHG16)、miR-NC组(转染miR-NC)、miR-425-5p组(转染miR-425-5p)、si-SNHG16+anti-miR-NC组(共转染si-SNHG16和anti-miR-NC)和si-SNHG16+anti-miR-425-5p组(共转染si-SNHG16和anti-miR-425-5p)。

### 1.4 qRT-PCR检测SNHG16和miR-425-5p的表达情况

采用Trizol法提取RA滑膜成纤维细胞MH7A及RA样本中的总RNA,采用紫外分光光度计检测RNA浓度和纯度, $D_{260}/D_{280}$ 值在1.9至2.1之间的RNA可以用于后续实验。2 800 r/min离心10 s,按照逆转录试剂盒说明书合成cDNA模板,取1 μL的反转录产物作为模板在PCR仪器上进行扩增反应。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算

公式计算SNHG16和miR-425-5p的表达,以GAPDH和U6为内参。引物序列见表1。

### 1.5 CCK8检测细胞增殖

取对数生长期的RA滑膜成纤维细胞MH7A接种至96孔培养板(密度为 $5 \times 10^3$ 个/mL)内。在各组细胞培养24 h、48 h和72 h特定时间内,添加CCK8溶液(10  $\mu$ L/孔),37  $^{\circ}$ C共孵育4 h。最后在490 nm处测定吸光度(D)值。

### 1.6 流式细胞术测定细胞凋亡

收集转染的RA滑膜成纤维细胞MH7A,添加200  $\mu$ L结合缓冲液混匀后用于制备细胞悬液,参照凋亡试剂盒说明书,细胞在10  $\mu$ L Annexin V-FITC和5  $\mu$ L PI中室温避光维持15 min。最后,使用流式细胞仪评估细胞凋亡情况。

### 1.7 Western blot测定Ki67、Bax蛋白表达

收集各组RA滑膜成纤维细胞MH7A用于提取细胞的总蛋白,BCA法定量总蛋白,然后加入等体积的上样液,煮沸变性5 min。在SDS-PAGE凝胶电泳孔内加入45  $\mu$ g的样品进行处理,结束后将其转移至PVDF膜上。脱脂奶粉室温封闭培养3 h,加入1:1 000稀释的Ki67、Bax和GAPDH抗体,4  $^{\circ}$ C孵育过夜,洗膜后加入二抗(1:5 000),室温孵育2 h,洗膜后滴加化学发光液,

显影。经Quantity One软件分析蛋白条带灰度值。

### 1.8 双荧光素酶实验证实SNHG16和miR-425-5p的作用关系

Staebase用来预测SNHG16序列中含有与miR-425-5p互补的核苷酸系列。构建与miR-425-5p存在结合位点的SNHG16野生型(WT)、突变型(MUT)荧光素酶载体,依次标记为WT SNHG16和MUT SNHG16,然后将上述载体质粒分别与miR-425-5p或miR-NC共转染到RA滑膜成纤维细胞MH7A中。48 h后,根据制造商的说明,使用双荧光素酶试剂盒评估荧光素酶活性。

### 1.9 统计学方法

采用SPSS 22.0进行统计分析,计量资料用平均数 $\pm$ 标准差表示。采用t检验进行两组间比较。 $P < 0.05$ ,差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SNHG16和miR-425-5p在RA滑膜组织中的表达

RA组滑膜组织中SNHG16相对表达量明显高于正常组( $P < 0.05$ ),miR-425-5p相对表达量明显低于正常组( $P < 0.05$ )(表2)。这表明SNHG16和miR-425-5p参

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因 Gene	序列 Sequence
SNHG16	Upstream 5'-CCC AAG CTT GCG TTC TTT TCG AGG TCG GC-3' Downstream 5'-CCG GAA TTC TGA CGG TAG TTT CCC AAG TT-3'
GAPDH	Upstream 5'-CGC TCT CTG CTC CTC CTG TTC-3' Downstream 5'-ATC CGT TGA CTC CGA CCT TCA C-3'
miR-425-5p	Upstream 5'-ATG ACA CGA TCA CTC CCG TTG-3' Downstream 5'-GTG CAG GGT CCG AGG TAT TC-3'
U6	Upstream 5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3' Downstream 5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'

表2 RA滑膜组织中SNHG16和miR-425-5p的表达

Table 2 Expression of SNHG16 and miR-425-5p in RA synovial tissue

组别 Group	SNHG16	miR-425-5p
Normal	1.02 $\pm$ 0.27	1.08 $\pm$ 0.48
RA	4.47 $\pm$ 0.88**	0.48 $\pm$ 0.17**
t	11.244	3.535
P	<0.001	0.003

$\bar{x} \pm s$ ,  $n=19$ ; \*\* $P < 0.01$ , 与正常组比较。

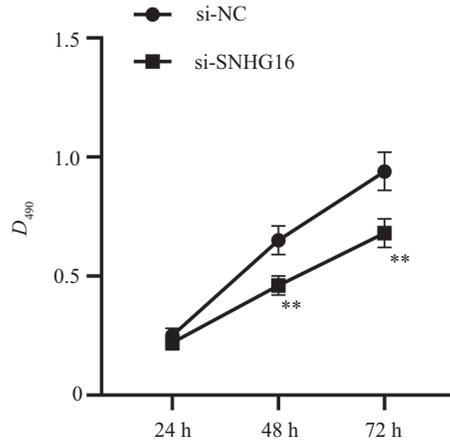
$\bar{x} \pm s$ ,  $n=19$ ; \*\* $P < 0.01$  compared with normal group.

与了RA的发展。

## 2.2 沉默SNHG16对滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响

si-SNHG16组的SNHG16相对表达量、*D*值

和Ki67蛋白表达水平明显低于si-NC组( $P<0.05$ ), miR-425-5p相对表达量、细胞凋亡率、Bax蛋白表达水平明显高于si-NC组( $P<0.05$ )(图1、图2和表3)。这表明沉默SNHG16可抑制滑膜成纤维细

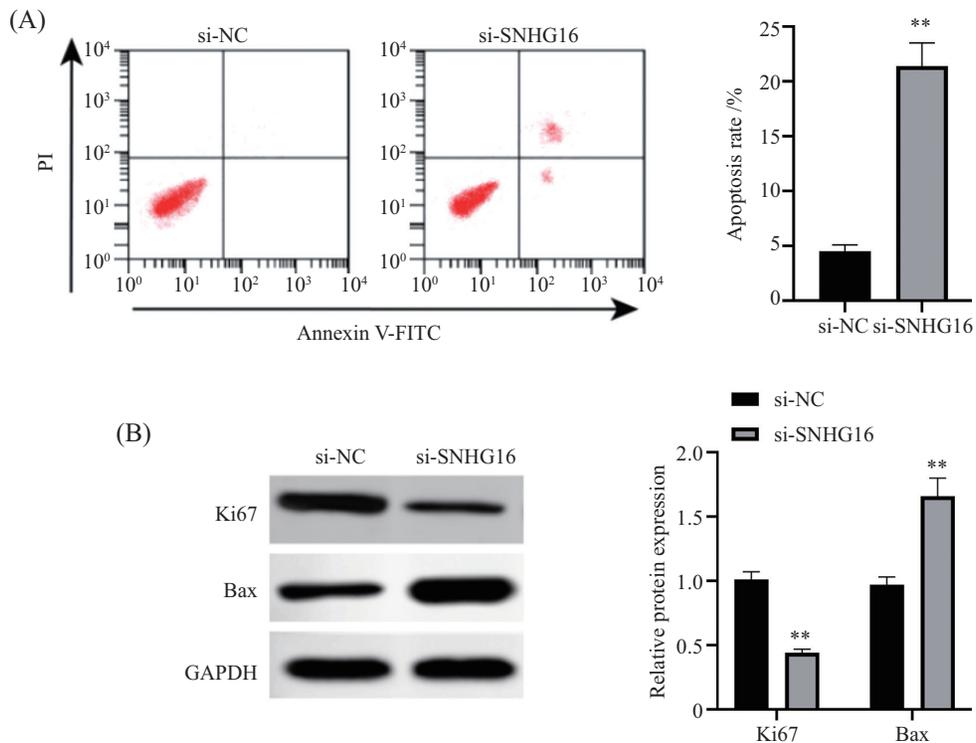


\*\* $P<0.01$ , 与si-NC组比较。

\*\* $P<0.01$  compared with si-NC group.

图1 沉默SNHG16对滑膜成纤维细胞增殖的影响

Fig.1 Effect of silencing SNHG16 on proliferation of synovial fibroblasts



A: 流式细胞术检测滑膜成纤维细胞MH7A凋亡情况; B: Western blot检测滑膜成纤维细胞MH7A中Ki67、Bax蛋白表达水平; \*\* $P<0.01$ , 与si-NC组比较。

A: apoptosis of synovial fibroblasts MH7A was detected by flow cytometry; B: the expression of Ki67 and Bax proteins in synovial fibroblasts MH7A were detected by Western blot; \*\* $P<0.01$  compared with si-NC group.

图2 沉默SNHG16对滑膜成纤维细胞MH7A增殖和凋亡的影响

Fig.2 Effect of silencing SNHG16 on proliferation and apoptosis of synovial fibroblasts MH7A

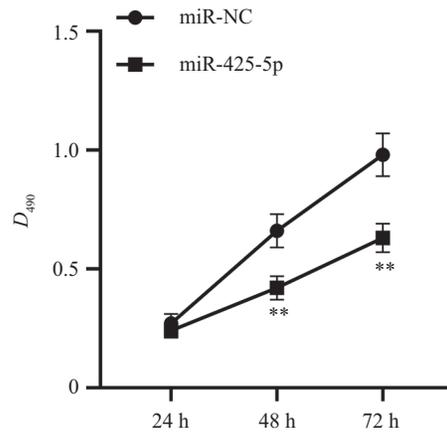
表3 沉默SNHG16对滑膜成纤维细胞miR-425-5p表达的影响

Table 3 Effects of silencing SNHG16 on the expression of miR-425-5p in synovial fibroblasts

组别 Group	SNHG16	miR-425-5p
si-NC	1.03±0.07	1.01±0.09
si-SNHG16	0.37±0.03**	2.39±0.12
<i>t</i>	25.999	27.600
<i>P</i>	<0.001	<0.001

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=19$ ; \*\* $P<0.01$ , 与si-NC组比较。

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=19$ ; \*\* $P<0.01$  compared with si-NC group.



\*\* $P<0.01$ , 与miR-NC组比较。

\*\* $P<0.01$  compared with miR-NC group.

图3 过表达miR-425-5p对滑膜成纤维细胞MH7A增殖的影响

Fig.3 Effects of overexpression of miR-425-5p on the proliferation of synovial fibroblasts MH7A

胞增殖并促进凋亡。

### 2.3 过表达miR-425-5p对滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响

miR-425-5p组的 $D$ 值和Ki67蛋白表达水平明显低于miR-NC组( $P<0.05$ ), miR-425-5p相对表达量、凋亡率、Bax蛋白表达水平明显高于miR-NC组( $P<0.05$ ), SNHG16表达水平与miR-NC组相比, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )(图3、图4和表4)。这表明过表达miR-425-5p可抑制滑膜成纤维细胞增殖, 促进凋亡。

### 2.4 SNHG16靶向调控miR-425-5p的表达

在线生物信息网预测显示SNHG16和miR-425-5p存在互补核苷酸序列(图5)。miR-425-5p组与miR-NC组比较, WT SNHG16荧光素酶活性下降( $P<0.05$ ), MUT SNHG16荧光素酶活性无显著差异(表5)。SNHG16组的SNHG16相对表达量显著高于pcDNA组( $P<0.05$ ), miR-425-5p相对表达量显著低于pcDNA组( $P<0.05$ )(表6)。这表明SNHG16可靶向

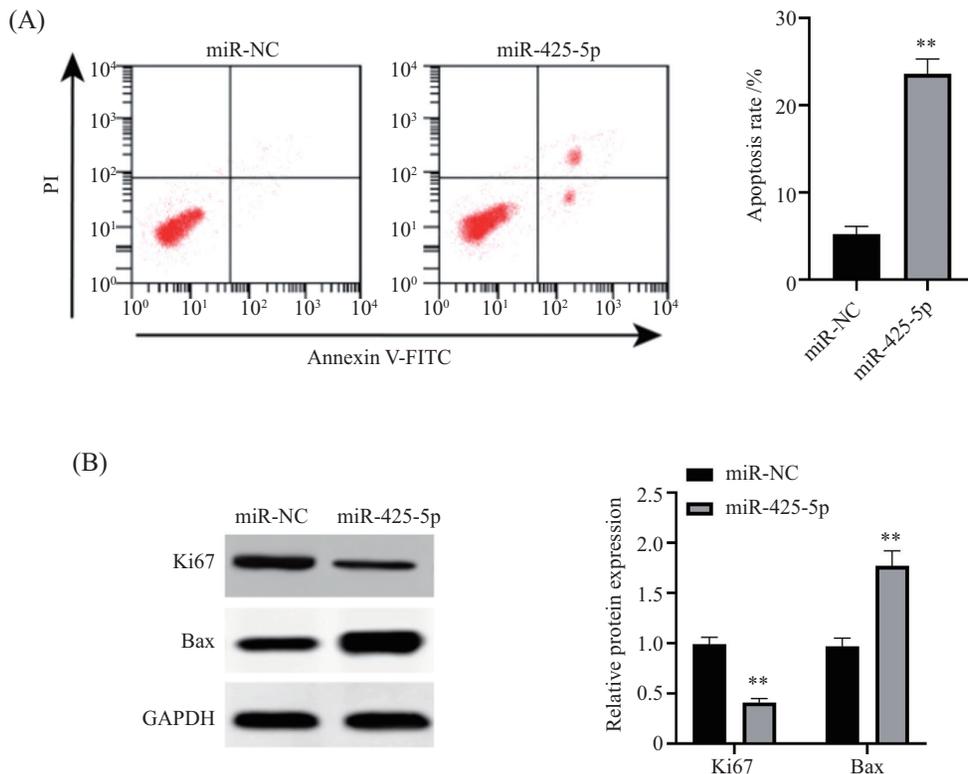
下调miR-425-5p表达。

### 2.5 抑制miR-425-5p可以部分回复沉默SNHG16对滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响

si-SNHG16+anti-miR-425-5p组的miR-425-5p相对表达量、细胞凋亡率、Bax蛋白表达水平明显低于si-SNHG16+anti-miR-NC组( $P<0.05$ ),  $D$ 值和Ki67蛋白表达水平明显高于si-SNHG16+anti-miR-NC组( $P<0.05$ )(图6、图7和表7)。这表明抑制miR-425-5p部分降低了沉默SNHG16对滑膜成纤维细胞增殖的抑制作用和对凋亡的促进作用。

## 3 讨论

既往文献报道, SNHG16作为致癌LncRNA在不同人类癌症中发挥作用。如SNHG16在神经母细胞瘤组织中高表达, 其高表达与不良的预后呈正相关; 沉默SNHG16可以抑制神经母细胞瘤细胞的增殖和迁移, 阻滞细胞周期<sup>[15]</sup>。YANG等<sup>[16]</sup>研究发现, SNHG16在卵巢癌组织中高表达, 高表达的SNHG16



A: 流式细胞术检测滑膜成纤维细胞MH7A凋亡情况; B: Western blot检测滑膜成纤维细胞MH7A中Ki67、Bax蛋白表达水平; \*\* $P < 0.01$ , 与miR-NC组比较。

A: apoptosis of synovial fibroblasts MH7A was detected by flow cytometry; B: the expression of Ki67 and Bax proteins in synovial fibroblasts MH7A were detected by Western blot; \*\* $P < 0.01$  compared with miR-NC group.

图4 过表达miR-425-5p对滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响

Fig.4 Effects of overexpression of miR-425-5p on the proliferation and apoptosis of synovial fibroblasts

表4 过表达miR-425-5p对滑膜成纤维细胞SNHG16表达的影响

Table 4 Effects of overexpression of miR-425-5p on the expression of SNHG16 in synovial fibroblasts

组别 Group	miR-425-5p	SNHG16
miR-NC	0.95±0.06	1.00±0.08
miR-425-5p	2.11±0.21**	0.98±0.06**
<i>t</i>	15.934	0.600
<i>P</i>	<0.001	0.557

$\bar{x} \pm s$ ,  $n=9$ ; \*\* $P < 0.01$ , 与miR-NC组比较。

$\bar{x} \pm s$ ,  $n=9$ ; \*\* $P < 0.01$  compared with miR-NC group.

与肿瘤分期、远处转移和总体的生存率低显著相关; 敲低SNHG16可以抑制卵巢癌细胞的增殖、侵袭和迁移, SNHG16可以激活AKT的磷酸化, 并促进卵巢癌细胞的增殖、侵袭和迁移。WANG等<sup>[17]</sup>研究结果发现, SNHG16在骨肉瘤组织中高表达, 与晚期的肿瘤分期、肿瘤的大小、远处转移和较短的生存期显著相关; SNHG16可以靶向miR-1301/BCL9轴促进骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭, 提示SNHG16可以作为疾病的潜在生物标志物。本研究结果显

示, SNHG16在RA滑膜组织中的表达量高于RA正常组织, 功能实验结果显示, 沉默SNHG16可以降低滑膜成纤维细胞的D值, 增加细胞的凋亡率, 下调Ki67蛋白表达水平, 上调Bax的表达水平; 这说明沉默SNHG16可抑制RA滑膜成纤维细胞增殖和诱导其凋亡。

目前, LncRNA与miRNA之间的相互关系备受关注。已有多篇文献提出LncRNA的异常表达与多种疾病中相关miRNA的失调有关<sup>[18]</sup>。如, LncRNA

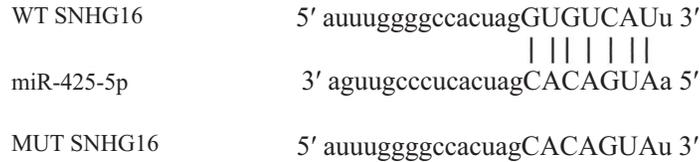


图5 SNHG16与miR-425-5p的互补核苷酸序列

Fig.5 Complementary nucleotide sequences of SNHG16 and miR-425-5p

表5 双荧光素酶报告实验

Table 5 Dual-luciferase reporter experiment

组别 Group	WT SNHG16	MUT SNHG16
miR-NC	1.03±0.08	0.95±0.08
miR-425-5p	0.36±0.04**	0.99±0.07
<i>t</i>	22.472	1.129
<i>P</i>	<0.001	0.276

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=9$ ; \*\* $P<0.01$ , 与miR-NC组比较。

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=9$ ; \*\* $P<0.01$  compared with miR-NC group.

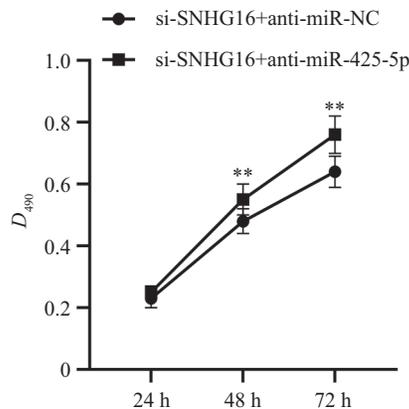
表6 SNHG16靶向调控miR-425-5p表达

Table 6 SNHG16 targeted regulation of miR-425-5p expression

组别 Group	SNHG16	miR-425-5p
pcDNA	1.05±0.09	1.01±0.06
SNHG16	3.38±0.28**	0.35±0.04**
<i>t</i>	23.767	27.458
<i>P</i>	<0.001	<0.001

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=9$ ; \*\* $P<0.01$ , 与pcDNA组比较。

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=9$ ; \*\* $P<0.01$  compared with pcDNA group.



\*\* $P<0.01$ , 与si-SNHG16+anti-miR-NC组比较。

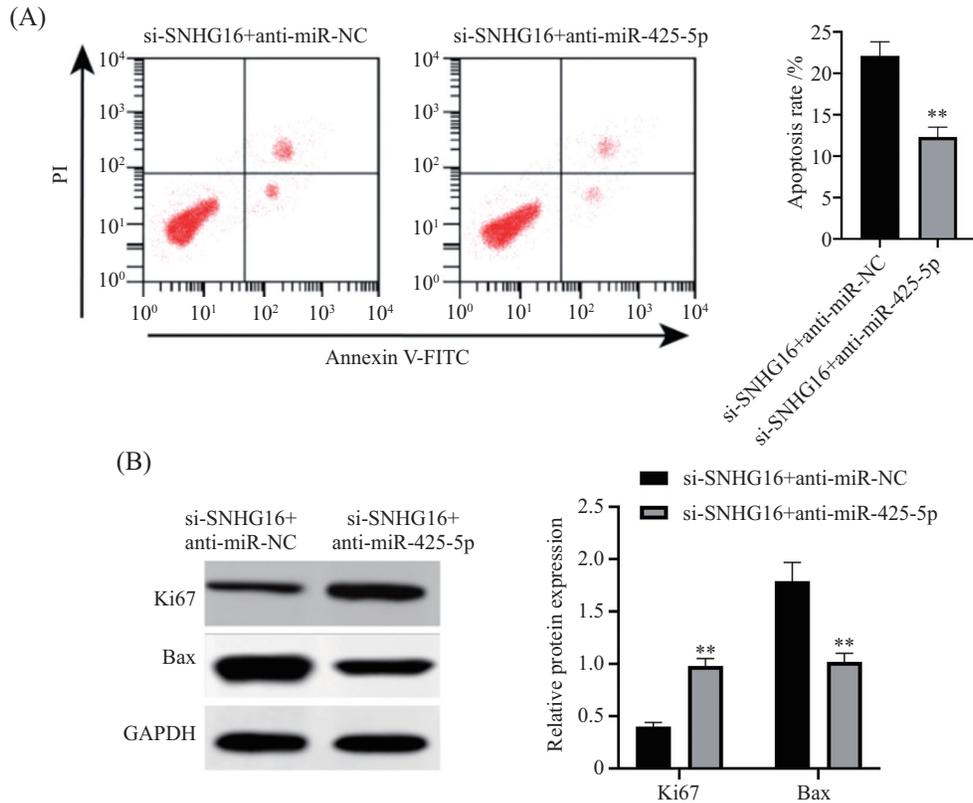
\*\* $P<0.01$  compared with si-SNHG16+anti-miR-NC group.

图6 抑制miR-425-5p可部分回复沉默SNHG16对滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响

Fig.6 Inhibition of miR-425-5p can partially restore the effect of silencing SNHG16 on the proliferation and apoptosis of synovial fibroblasts

PICSA通过海绵 miRNA-4701-5p在RA中促进成纤维细胞样滑膜细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[19]</sup>。本研究发现SNHG16与miR-425-5p之间存在结合位点。双荧光素酶报告实验证实, miR-425-5p可能是SNHG16

的直接靶标。miR-425-5p在多种疾病中异常表达, 通过参与细胞的增殖、凋亡、自噬和炎症反应等发挥作用。如miR-425-5p在胰腺癌患者中表达上调, 且与肿瘤免疫微环境显著相关<sup>[20]</sup>。miR-425-5p通过



A: 流式细胞术检测滑膜成纤维细胞MH7A凋亡情况; B: Western blot检测滑膜成纤维细胞MH7A中Ki67、Bax蛋白表达水平; \*\* $P < 0.01$ , 与 si-SNHG16+anti-miR-NC组比较。

A: apoptosis of synovial fibroblasts MH7A was detected by flow cytometry; B: the expression of Ki67 and Bax proteins in synovial fibroblasts MH7A were detected by Western blot; \*\* $P < 0.01$  compared with si-SNHG16+anti-miR-NC group.

图7 抑制miR-425-5p可部分回复沉默SNHG16对滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响

Fig.7 Inhibition of miR-425-5p can partially restore the effect of silencing SNHG16 on the proliferation and apoptosis of synovial fibroblasts

表7 各组滑膜成纤维细胞miR-425-5p表达

Table 7 Expression of miR-425-5p in synovial fibroblasts of each group

组别 Group	miR-425-5p
si-SNHG16+anti-miR-NC	0.98±0.06
si-SNHG16+anti-miR-425-5p	0.47±0.03**
<i>t</i>	22.808
<i>P</i>	<0.001

$\bar{x} \pm s$ ,  $n=9$ ; \*\* $P < 0.01$ , 与si-SNHG16+anti-miR-NC组比较。

$\bar{x} \pm s$ ,  $n=9$ ; \*\* $P < 0.01$  compared with si-SNHG16+anti-miR-NC group.

调节 ANXA2 促进小鼠骨质疏松症<sup>[21]</sup>。miR-425-5p 过表达可促进人视网膜微血管内皮细胞增殖和迁移, 其高表达可作为糖尿病视网膜病变患者的一种可行的诊断性生物标志物, 并可预测糖尿病视网膜病变的发展和严重程度<sup>[22]</sup>。本研究结果显示, miR-425-5p 在 RA 滑膜组织中的表达水平低于 RA 正常组织, 与既往研究一致<sup>[23]</sup>, 提示 miR-425-5p 可能参与 RA 进展; 功能实验结果显示, 过表达 miR-425-5p 可

降低滑膜成纤维细胞的 *D* 值, 提高细胞的凋亡率, 下调 Ki67 蛋白表达水平, 上调 Bax 的表达水平; 这说明过表达 miR-425-5p 可抑制滑膜成纤维细胞增殖和诱导其凋亡。进一步实验结果显示, 抑制 miR-425-5p 可以部分回复沉默 SNHG16 对滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响, 这说明 SNHG16 通过调控 miR-425-5p 表达影响 RA 的发展。miRNA 可以与下游 mRNA 结合促进或者抑制参与 RA 滑膜成纤维细胞的增

殖、凋亡和周期等生物学过程<sup>[24-25]</sup>。既往研究显示, *CREB1*、*AFF4*等为miR-425-5p的下游靶点<sup>[26-27]</sup>。但miR-425-5p是否能够通过*CREB1*、*AFF4*影响RA滑膜成纤维细胞的增殖和凋亡还需要进一步研究证实。

综上所述, 沉默SNHG16可以抑制RA滑膜成纤维细胞的增殖和诱导细胞的凋亡, 其作用机制可能与下调miR-425-5p有关。

### 参考文献 (References)

- [1] SMOLEN J S, ALETAHA D, BARTON A, et al. Rheumatoid arthritis [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 18001.
- [2] ALETAHA D, SMOLEN J S. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review [J]. *JAMA*, 2018, 320(13): 1360-72.
- [3] YAP H Y, TEE S Z, WONG M M, et al. Pathogenic role of immune cells in rheumatoid arthritis: implications in clinical treatment and biomarker development [J]. *Cells*, 2018, 7(10): 161.
- [4] BOTTINI N, FIRESTEIN G S. Duality of fibroblast-like synoviocytes in RA: passive responders and imprinted aggressors [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2013, 9(1): 24-33.
- [5] ZHOU J, SONG G, SU M, et al. Long noncoding RNA *CASC9* promotes pancreatic cancer progression by acting as a ceRNA of miR-497-5p to upregulate expression of *CCND1* [J]. *Environ Toxicol*, 2023, 38(6): 1251-64.
- [6] 宋丹丹, 陈雪源, 陈瑞琪, 等. 长链非编码RNA *MALAT1*在乳腺癌中的研究现状[J]. *中国临床药理学与治疗学*(*SONG D D, CHEN X Y, CHEN R Q, et al. Research status of long non-coding RNA *MALAT1* in breast cancer [J]. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*), 2021, 26(1): 49-57.*
- [7] LIANG J Y, CHEN W Q, LIN J. LncRNA: an all-rounder in rheumatoid arthritis [J]. *J Transl Int Med*, 2019, 7(1): 3-9.
- [8] CHEN J, LUO X, LIU M, et al. Silencing long non-coding RNA *NEAT1* attenuates rheumatoid arthritis via the *MAPK/ERK* signalling pathway by downregulating microRNA-129 and microRNA-204 [J]. *RNA Biol*, 2021, 18(5): 657-68.
- [9] WANG Y J, HOU L X, YUAN X W, et al. LncRNA *NEAT1* targets fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis via the miR-410-3p/*YY1* axis [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1975.
- [10] ZHAO F, DONG J, GUO J L, et al. Inhibiting role of long non-coding RNA *LINC01197* in inflammation in rheumatoid arthritis through the microRNA-150/*THBS2* axis [J]. *Exp Cell Res*, 2020, 394(2): 112136.
- [11] YANG M, WEI W B. SNHG16: a novel long-non coding RNA in human cancers [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 11679-90.
- [12] ZHAO W K, FU H, ZHANG S S, et al. LncRNA *SNHG16* drives proliferation, migration, and invasion of hemangioma endothelial cell through modulation of miR-520d-3p/*STAT3* axis [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(7): 3311-20.
- [13] CHENG W, HAO C Y, ZHAO S, et al. SNHG16 promotes the progression of osteoarthritis through activating microRNA-93-5p/*CCND1* axis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(21): 9222-9.
- [14] BALZANO F, DEIANA M, DEI GIUDICI S, et al. MicroRNA expression analysis of centenarians and rheumatoid arthritis patients reveals a common expression pattern [J]. *Int J Med Sci*, 2017, 14(7): 622-8.
- [15] YU Y B, CHEN F, YANG Y R, et al. LncRNA *SNHG16* is associated with proliferation and poor prognosis of pediatric neuroblastoma [J]. *Int J Oncol*, 2019, 55(1): 93-102.
- [16] YANG X S, WANG G X, LUO L. Long non-coding RNA *SNHG16* promotes cell growth and metastasis in ovarian cancer [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(3): 616-22.
- [17] WANG X L, HU K J, CHAO Y, et al. LncRNA *SNHG16* promotes proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells by targeting miR-1301/*BCL9* axis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 114: 108798.
- [18] ZHAI D, ZHOU Y, KUANG X, et al. LncRNA *NR2F1-AS1* promotes breast cancer metastasis by targeting the miR-25-3p/*ZEB2* axis [J]. *Int J Med Sci*, 2023, 20(9): 1152-62.
- [19] BI X, GUO X H, MO B Y, et al. LncRNA *PICSAR* promotes cell proliferation, migration and invasion of fibroblast-like synoviocytes by sponging miRNA-4701-5p in rheumatoid arthritis [J]. *EBioMedicine*, 2019, 50: 408-20.
- [20] JIAN S, KONG D, TIAN J. Expression of miR-425-5p in pancreatic carcinoma and its correlation with tumor immune microenvironment [J]. *J Invest Surg*, 2023, 36(1): 2216756.
- [21] CHEN G, HUANG G, LIN H, et al. microRNA-425-5p modulates osteoporosis by targeting annexin A2 [J]. *Immun Ageing*, 2021, 18(1): 45.
- [22] LIU X, ZHOU Y, LIU Y, et al. MicroRNA-425-5p is involved in the development of diabetic retinopathy and regulates the proliferation and migration of retinal microvascular endothelial cells [J]. *Ophthalmic Res*, 2022, 65(1): 60-7.
- [23] LIU Y, PENG J, XIONG X, et al. Tofacitinib enhances IGF1 via inhibiting *STAT6* transcriptionally activated-miR-425-5p to ameliorate inflammation in RA-FLS [J]. *Mol Cell Biochem*, 2022, 477(10): 2335-44.
- [24] 吴洁, 马玲, 付冬冬, 等. 调控类风湿关节炎PBMC中miR-142-3p的表达对ADAM17表达及成纤维样滑膜细胞活性的影响[J]. *郑州大学学报: 医学版*(*WU J, MA L, FU D D, et al. Effects of regulating miR-142-3p in PBMC from patients with rheumatoid arthritis on ADAM17 expression and proliferation of fibroblast-like synovial cells [J]. Journal of Zhengzhou University: Medical Sciences*), 2020, 55(6): 844-8.
- [25] LIN S, WANG S, ZHANG Z, et al. MiRNA-6089 inhibits rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes proliferation and induces apoptosis by targeting *CCR4* [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2022, 128(6): 1426-33.
- [26] WEI F, REN W, ZHANG X, et al. miR-425-5p is negatively associated with atrial fibrosis and promotes atrial remodeling by targeting *CREB1* in atrial fibrillation [J]. *J Cardiol*, 2022, 79(2): 202-10.
- [27] WU Z, GUO J, ZHANG Y, et al. MiR-425-5p accelerated the proliferation, migration, and invasion of ovarian cancer cells via targeting *AFF4* [J]. *J Ovarian Res*, 2021, 14(1): 138.