



赵敏蝶,刘杰,赵茹茜. 靶向鸡糖皮质激素受体基因的 microRNA 预测与鉴定[J]. 南京农业大学学报,2024,47(3):489-496.

ZHAO Mindie,LIU Jie,ZHAO Ruqian. Prediction and identification of microRNA targeting chicken glucocorticoid receptor gene[J]. Journal of Nanjing Agricultural University,2024,47(3):489-496.

## 靶向鸡糖皮质激素受体基因的 microRNA 预测与鉴定

赵敏蝶,刘杰,赵茹茜\*

(南京农业大学动物医学院/农业农村部动物生理生化重点实验室,江苏 南京 210095)

**摘要:**[目的]本文旨在预测和筛选靶向调控鸡糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor,GR)表达的 microRNA。[方法]用 TargetScan、PicTar 和 miRDB 软件分别预测靶向鸡 GR 3'UTR microRNA 并取交集;构建包含鸡 GR 3'UTR 的重组质粒及突变质粒,通过双荧光素酶试验鉴定 microRNA 和鸡 GR 3'UTR 的靶向性;用 TargetScan 和 miRDB 软件分别预测候选 microRNA 的靶基因,用 DAVID 软件对预测出的共同靶基因进行 GO 功能分析;用 Western blot 检测过表达候选 microRNA 对鸡 DF1 细胞 GR 蛋白表达的影响。[结果]miR124-3p、miR142-3p、miR204/211、miR183、miR18-5p 和 miR181a/181b 是 3 种软件预测靶向 GR 3'UTR 的交集 microRNA;双荧光素酶试验结果表明 miR142-3p、miR204/211 和 miR18-5p 靶向结合 GR 3'UTR。2 种软件预测 3 个候选 microRNA 的靶基因中都有 GR 且富集分子功能不同;在 DF1 细胞中过表达 3 个候选 microRNA 后,miR142-3p 和 miR204/211 显著降低 GR 蛋白的表达水平( $P<0.05$ )。[结论]miR142-3p、miR204/211 和 miR18-5p 靶向结合鸡 GR 3'UTR,且 miR142-3p 和 miR204/211 可以降低鸡 DF1 细胞中 GR 蛋白的表达水平。

**关键词:**鸡;糖皮质激素受体;microRNA;靶向基因

中图分类号:S831.1

文献标志码:A

文章编号:1000-2030(2024)03-0489-08

## Prediction and identification of microRNA targeting chicken glucocorticoid receptor gene

ZHAO Mindie,LIU Jie,ZHAO Ruqian\*

(College of Veterinary Medicine/Key Laboratory of Animal Physiology & Biochemistry, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:**[Objectives] This study aimed to predict and screen microRNA that targeted the expression of chicken glucocorticoid receptor (GR). [Methods] The microRNA targeting chicken GR 3'UTR was predicted by TargetScan, PicTar and miRDB software, respectively, and the overlapping microRNA was selected as candidates for further experiment. The recombinant plasmid and mutant plasmid containing chicken GR 3'UTR were constructed, and microRNA binding to chicken GR 3'UTR was verified by double luciferase assay. The target genes of candidate microRNA were predicted by TargetScan and miRDB software, respectively, and the GO function of the predicted common target genes was analyzed by DAVID software. Western blot was used to detect the expression of GR protein after overexpression of candidate microRNA in chicken DF1 cells. [Results] miR124-3p, miR142-3p, miR204/211, miR183, miR18-5p, and miR181a/181b were the intersection microRNA of 3 softwares prediction targeting GR 3'UTR. Dual luciferase assay showed that miR142-3p, miR204/211 and miR18-5p targeted GR 3'UTR. The two kinds of software predicted that the target genes of three candidate microRNA contained GR and the enriched molecular functions were different. After overexpression of the three candidate microRNA in DF1 cell, miR142-3p and miR204/211 significantly decreased the expression of GR protein level ( $P<0.05$ ). [Conclusions] miR142-3p, miR204/211 and miR18-5p target chicken GR 3'UTR, and miR142-3p and miR204/211 can reduce the expression level of GR in chicken DF1 cell.

**Keywords:** chicken; glucocorticoid receptor; microRNA; targeting gene

糖皮质激素(glucocorticoid,GC)是机体肾上腺皮质产生的一类脂溶性类固醇激素。GC对维持机体生态平衡有极为重要的作用,参与调节机体代谢(糖、蛋白质、脂肪合成代谢),还具有抑制免疫应答、调节应激反应、抗炎等作用<sup>[1-5]</sup>。GC发挥功能时,需要与其受体,即糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor,GR)结合。GR由核受体亚家族3C组成员1(nuclear receptor subfamily 3 group c member 1,NR3C1)基因编码,作为一种依赖配体的转录因子,广泛存在于人体和动物的各种组织和细胞中<sup>[6]</sup>。哺乳动物中,GR可作为

收稿日期:2023-05-17

基金项目:国家自然科学基金项目(32272962,31972638);“十四五”国家重点研发计划项目(2022YFD1300401)

\*通信作者:赵茹茜,教授,研究方向为动物应激、行为与福利,E-mail:zhaoruqian@njau.edu.cn。

癌症、免疫、精神类疾病的治疗靶点<sup>[7-9]</sup>。在鸡中,GR 可以激活肝脏脂肪合成相关基因的表达而促进脂质沉积<sup>[10-12]</sup>;应激状态下鸡不同组织中 GR 的表达也会发生改变<sup>[13-15]</sup>。由此,GR 也可作为鸡代谢和应激调控靶点。但是,关于调控鸡 GR 表达的研究较少。

microRNA 是一类含 20~24 个核苷酸的小分子 RNA,它们主要通过和靶基因 mRNA 的 3'UTR 区域结合,使其断裂分解或抑制 mRNA 的翻译,从而下调靶基因蛋白水平的表达<sup>[16]</sup>。在对鸡的研究中,microRNA 参与多种生物学过程的调控,如免疫应答、脂代谢、细胞分化以及神经调节等<sup>[17-20]</sup>。研究发现,用地塞米松皮下注射鸡 7 d 后,胸腺 microRNA 转录组有 121 个显著变化的 miRNA<sup>[17]</sup>;miR-22 参与调控鸡肝脏脂代谢<sup>[18]</sup>;miR-29 是一种调节鸡肌肉细胞分化和增殖的重要 microRNA<sup>[19]</sup>;miR-138 可增强鸡下丘脑细胞的迁移能力<sup>[20]</sup>。因此,microRNA 在鸡中发挥着重要的生物学功能。然而,GR 作为一种重要生理调控的基因,有关靶向调控鸡 GR 表达的 microRNA 的研究未见报道。

本试验拟通过生物信息学预测靶向结合鸡 GR 3'UTR 的 microRNA,通过双荧光素酶试验进行筛选,再对候选 microRNA 进行反向生物信息学靶基因预测,并在鸡 DF1 细胞中鉴定,最终确定可以靶向调控 GR 表达的 microRNA,为进一步研究 GR 与调控其表达的 microRNA 在鸡健康与疾病中发挥的功能奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

DF1 细胞、293T 细胞、psi-check2 质粒、DH5 $\alpha$  菌株和鸡 GR 多克隆抗体均由本实验室提供。 $\beta$ -actin (AC006)和 GAPDH(AC002)抗体购自 ABclonal 公司。山羊抗小鼠(BL001A)和山羊抗兔(BL003A)购自 Biosharp 公司。microRNA mimic(microRNA 模拟物)和 NC mimic(阴性对照模拟物)由擎科生物科技有限公司合成(序列见表 1)。*Not I* (R3189V)和 *Xho I* (R0146V)购自 NEB 公司。Dual Luciferase Reporter Assay Kit(DL101-01)、普通 PCR 扩增酶(P112-01)、点突变试剂盒(C214-01)、T4 连接酶(C301-01)购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。jetPRIME 转染试剂(#101000046)购自南京初晨生物科技股份有限公司。细胞裂解液(BD0032)购自 Bioworld 公司。BCA(DQ111-01)购自北京全式金生物技术有限公司。

表 1 microRNA mimic 序列信息

Table 1 microRNA mimic sequence information

microRNA	mimic 序列 mimic sequence(5'→3')
miR124-3p	F:TTAAGGCACGGCTGAATGCCA/R:TGGCATTACCGCGTGCCTTAA
miR142-3p	F:TGTAGTGTTTCCTACTTTATGG/R:CCATAAAGTAGGAAACACTACA
miR183	F:TATGGCACTGGTAGAATTCCTG/R:CAGTGAATTTCTACCAGTCCATA
miR18-5p	F:TAAGGTGCATCTAGTGCAGTTA/R:TAAGTGCATAGATGCACCTTA
miR204/211	F:TTCCCTTTGTCATCCTATGCCT/R:AGGCATAGGATGACAAAGGGAA
miR181a/181b	F:AACATTCACCGCTGTCGGTGAAGT/R:ACTCACCGACCGCTGAATGTT

### 1.2 试验方法

**1.2.1 生物信息学预测** 使用 MegAlign 软件对鸡、人、小鼠、大鼠 GR 3'UTR 区域的同源性进行比较。使用 TargetScan ([https://www.targetscan.org/mmu\\_80/](https://www.targetscan.org/mmu_80/))、PicTar (<https://pictar.mdc-berlin.de/>)、miRDB (<https://mirdb.org/>) 3 种在线软件分别预测靶向鸡 GR 3'UTR 的 microRNA 并取交集,获得潜在的 microRNA。使用 TargetScan 和 miRDB 两种软件分别预测交集 microRNA 的靶基因,使用 DAVID(<https://david.ncicrf.gov/tools.jsp>)在线软件对共同靶基因进行 GO 分析。

**1.2.2 GR 3'UTR 重组质粒的构建** 以鸡的肝脏 cDNA 作为模板,进行 PCR 扩增(GR-F/R:5'-GGAGGG-ATCGTGATGGACTTC-3'/5'-GCCTAAATCTTGGCCCTCTGT-3';GRVX-F/R:5'-GAGTTCCAGAAATGTTGGCAG-3'/5'-CACCTGAACTGCCATGAAACG-3')。使用 *Not I* 和 *Xho I* 酶对 PCR 扩增产物和 psi-check2 载体质粒于 37 °C 双酶切 3 h,产物 16 °C 过夜连接后转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ ,挑取菌落,37 °C 于恒温摇床中振荡 14 h 后取样送交测序和序列比对。

**1.2.3 293T 和 DF1 细胞的培养和转染** 用 1 mL 胰酶消化培养皿中的 293T 和 DF1 细胞 1 min,加入 3 mL 含体积分数 10%胎牛血清的 DMED 培养基终止消化,800 g 离心 5 min,接种 12 孔板,在 5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中 37 °C 培养。细胞密度达到 50%左右时,用 microRNA mimic 和 NC mimic 转染细胞:按照 jetPRIME 转染试剂的要求配制混合液(每孔 100  $\mu$ L buffer、10  $\mu$ L mimic、2  $\mu$ L jetPRIME),静置 15 min 后

加入到每个孔中。24 h 后收取细胞进行下一步试验,每组设 3 个重复。

**1.2.4 双荧光素酶试验** 按照双荧光素酶报告检测试剂盒说明书的步骤进行试验:弃去转染 24 h 的细胞培养基后 PBS 清洗 2 次,加入 100  $\mu$ L 细胞裂解液,室温静置 5 min;吹打并吸取细胞裂解产物至 1.5 mL 离心管中,12 000  $g$  离心 2 min,取上清液用于后续检测。使用生物发光仪分别检测萤火虫荧光素酶 (firefly luciferase) 以及海肾荧光素酶 (renilla luciferase) 活性反应强度值。结果用海肾荧光素酶/萤火虫荧光素酶活性强度比值来表示。

**1.2.5 Western blot 检测** 用细胞裂解液提取转染 microRNA mimic 和 NC mimic 24 h 后细胞的总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度后进行蛋白变性 (100  $^{\circ}$ C, 10 min)。SDS-PAGE:蛋白上样量为 20  $\mu$ g,80 V 30 min 后 120 V 1.5 h,100 V 1.5 h 转膜,50  $g \cdot L^{-1}$  脱脂奶粉封闭 2 h。加 GR 兔多克隆抗体 (1:1 000)、 $\beta$ -actin 兔多克隆抗体 (1:10 000)、GAPDH (1:10 000) 鼠单克隆抗体 (均自制),4  $^{\circ}$ C 过夜;TBST 洗 3 次后室温孵育二抗 (1:100 000) 2 h,使用 Tanon 发光仪获取图像,再用 Image J 对其灰度值进行分析。

**1.3 数据的处理与统计**

数据结果均以平均值 $\pm$ 标准误 ( $\bar{x} \pm SE$ ) 表示,用 Graphpad Prism 8 软件分析数据并绘图,采用 One-Way ANOVA 进行单因素方差分析和差异显著性检测 (分析 0.05、0.01 和 0.001 水平上的差异显著性)。

**2 结果与分析**

**2.1 生物信息学预测靶向鸡 GR 3'UTR 的 microRNA**

利用 MegAlign 软件对鸡、人、小鼠、大鼠的 GR 3'UTR 区域的同源性进行比较,结果显示 (图 1-A),鸡 GR 3'UTR 同其他三者的同源性分别为 58.8%、60.9%、61.3%。用 TargetScan、PicTar 和 miRDB 3 种软件分

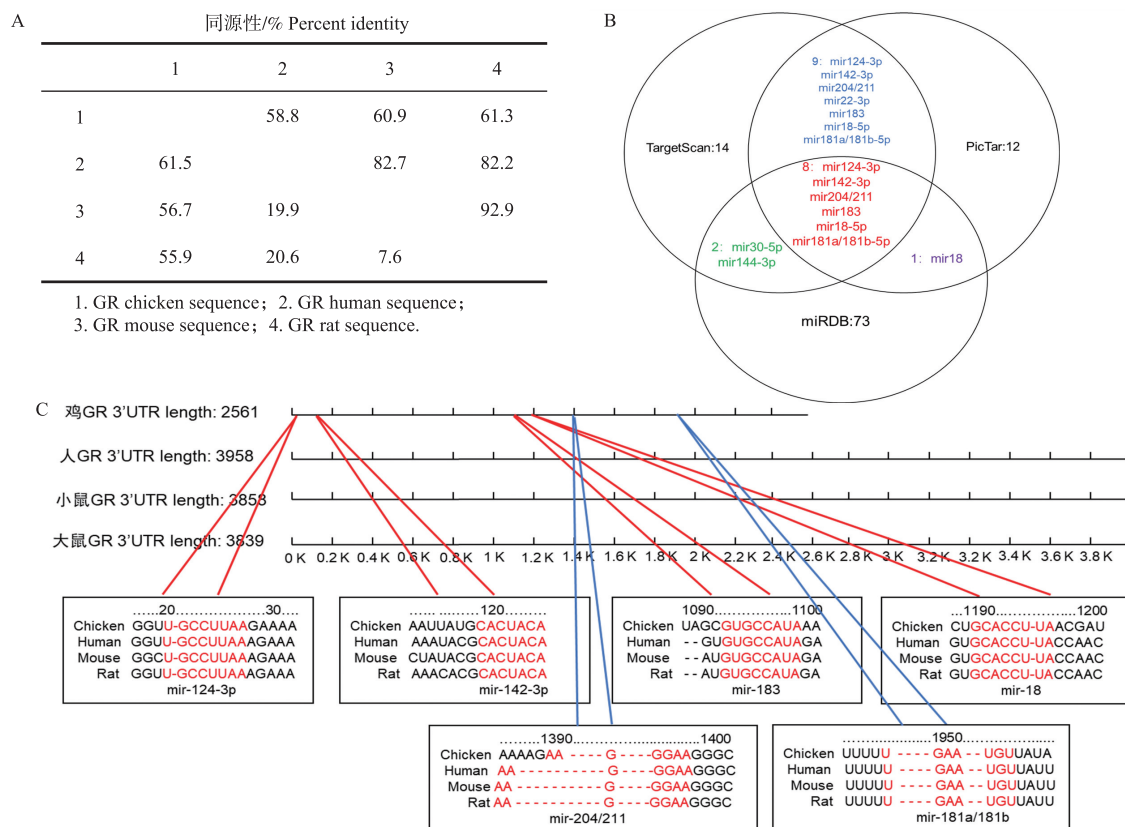


图 1 生物信息学预测靶向鸡 GR 3'UTR 的 microRNA

Fig. 1 Bioinformatics prediction of microRNA targeting chicken GR 3'UTR

A. 鸡、人、小鼠、大鼠的 GR 3'UTR 区域同源性比较 (左右角数据代表同源性); B. TargetScan、PicTar 和 miRDB 3 种软件预测靶向鸡 GR 3'UTR 的 microRNA 的数量及交集结果; C. 8 个 microRNA 在 GR 3'UTR 上的位置。

A. Comparison of GR 3'UTR homology in chicken, human, mouse and rat (Left and right corners represent the same percentage); B. The number and crossover results of microRNA of targeted chicken GR 3'UTR predicted by TargetScan, PicTar and miRDB; C. Positions of 8 microRNA on GR 3'UTR.



除 microRNA 结合 GR 位点的种子序列),并命名为 mut-124/142/18/183/204/211。双荧光素酶试验进一步表明 miR142-3p、miR18-5p 和 miR204/211 可以靶向结合 GR 3'UTR(图 3-B)。

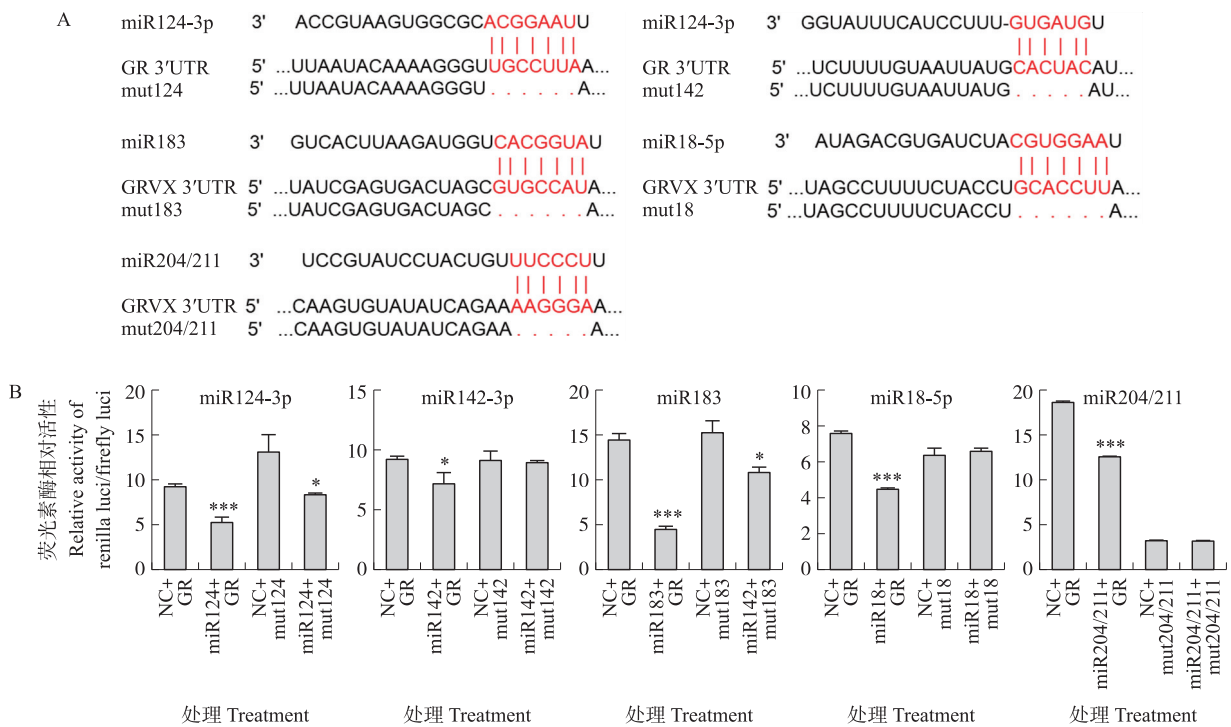


图 3 突变质粒构建以及双荧光素酶法验证

Fig. 3 Construction of mutant plasmid and double luciferase assay

A. 不同 microRNA 的突变位点;B. 293T 细胞中转染重组质粒、突变质粒及 NC/microRNA mimic 后肾脏荧光素酶/萤火虫荧光素酶(双荧光素酶相对)活性。\*  $P < 0.05$ 。

A. Mutation sites of different microRNA;B. Relative activity of double luciferase in 293T cells transfected with recombinant plasmid, mutant plasmid and NC/microRNA mimic. \*  $P < 0.05$ .

### 2.4 microRNA 预测靶基因的 GO 分析

使用 TargetScan 和 miRDB 2 种软件分别预测 miR142-3p、miR18-5p 和 miR204/211 的靶基因,取共同靶基因,发现编码 GR 的基因 NR3C1 存在于共同靶基因中(图 4-A)。使用 DAVID 在线软件对共同靶基因进行 GO 分子功能分析,结果表明 miR142-3p、miR18-5p 和 miR204/211 预测的靶基因富集的主要分子功能不同(图 4-B)。

### 2.5 DF1 细胞中过表达 microRNA 后 GR 蛋白表达

Western blot 检测在 DF1 细胞中过表达 microRNA mimic 后 GR 蛋白的表达水平。结果(图 5)显示,过表达 miR142-3p 和 miR204/211 后,DF1 细胞中 GR 蛋白表达量显著( $P < 0.05$ )或极显著( $P < 0.01$ )降低。

## 3 讨论

目前关于调控 GR 表达的 microRNA 研究大多是在哺乳动物上,而靶向调控鸡 GR 表达的确切 microRNA 的研究未见报道。本研究通过生物信息学预测靶向结合 GR 3'UTR 的 microRNA,并筛选出可以靶向结合 GR 3'UTR 的 microRNA 有 miR142-3p、miR204/211 和 miR18-5p,在 DF1 细胞中鉴定出的 miR142-3p 和 miR204/211 可以使 GR 蛋白表达下降,补充了调控鸡 GR 表达的 microRNA 研究的空白。在本研究基础上,可以通过调节筛选出的 microRNA 的表达,实现对 GR 功能的干预,为调控禽类应对各种外源刺激提供新思路。

GR 是一种调控数千种靶基因表达的转录因子,在人和哺乳动物的应激、免疫、代谢等方面起重要的调节作用,具有重要的生理功能<sup>[21-23]</sup>。在一些疾病治疗中,GR 作为靶基因被激活或抑制<sup>[24-25]</sup>。例如,GR 拮抗剂 RU486 有助于纠正创伤应激引起的小鼠恐惧和焦虑失调<sup>[26]</sup>;GR 激动剂改善新生大鼠博莱霉素诱导的肺部炎症<sup>[27]</sup>;肝脏 GR 特异性敲除小鼠的餐后葡萄糖摄取、磷酸化和糖原储存被破坏<sup>[28]</sup>。microRNA 作为一种降低靶基因表达的天然小型非编码 RNA 分子,已被开发成核酸药物。哺乳动物中,microRNA 对

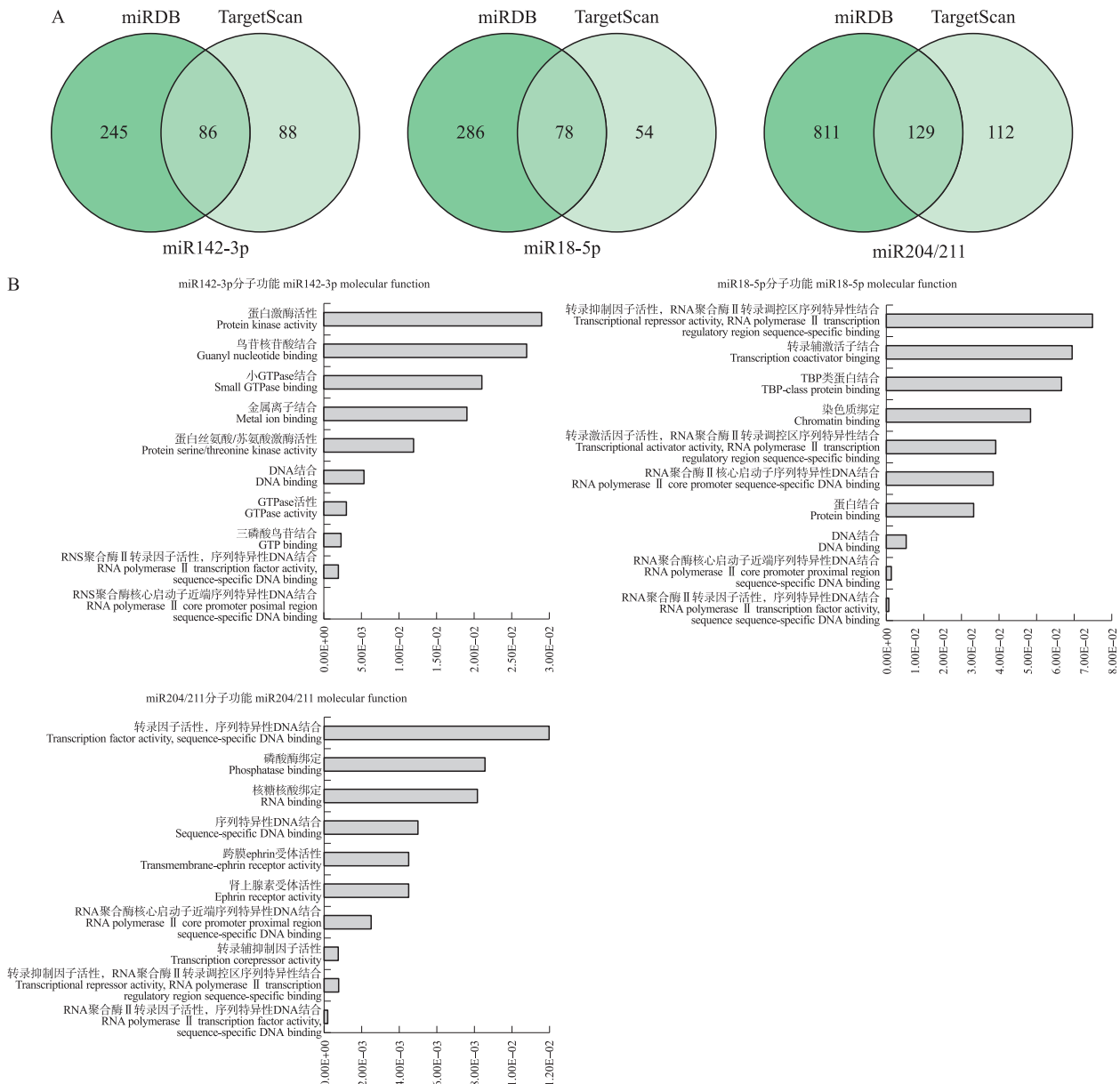


图 4 miR142-3p、miR18-5p 和 miR204/211 预测靶基因的交集(A)及其 GO 分析(B)

Fig. 4 Prediction of intersection of target genes by miR142-3p, miR18-5p and miR204/211(A) and their GO analysis(B)

GR 表达的调控在多种疾病中发挥作用,例如抑郁症、糖尿病等<sup>[29-31]</sup>。因此,通过调控 microRNA,进而改变 GR 的表达是疾病治疗的方法之一。本研究通过软件 MegAlign 对鸡、人、小鼠、大鼠的 GR 3'UTR 区域进行比较,发现鸡 GR 3'UTR 同另外 3 个物种的同源性均低于 70%,说明,在哺乳动物中已发现的靶向调控 GR 表达的 microRNA 不一定适用于鸡。因此,对于靶向调控鸡 GR 的 microRNA 的研究十分必要。

本研究使用的 3 种不同软件预测出的 6 个不同的 microRNA 在人、大鼠、小鼠和鸡中的保守性相对较高。研究表明,在大鼠和小鼠中,大脑中 miR124-3p 表达水平的升高与 GR 水平和 GC 敏感性的降低以及抑郁样症状的增加相关<sup>[29-30,32]</sup>。Fischer 344 大鼠室旁核 miR18a 表达水平增加,使得 GR 表达水平减少,对重复应激无适应性反应,应激相关障碍增加<sup>[33]</sup>。小鼠肾上腺被刺激后,miR142-3p 和 GR 的表达发生改变,且 miR142-3p 可以靶向 GR 3'UTR 区域并降低前期表达水平<sup>[34]</sup>。大鼠反复注射冰毒增加纹状体 miR-183-5p 的表达,并通过调节 GR 的表达改变行为<sup>[35]</sup>。在靶向调控鸡 GR 的 microRNA 研究中,强直性静止持续时间短的肉鸡下丘脑中预测靶向 GR 的 miR-22、miR-181a 和 miR-211 表达水平显著降低<sup>[13]</sup>。本研究最终确认 miR142-3p、miR204/211 和 miR18-5p 可以靶向结合 GR 3'UTR,在 DF1 细胞中鉴定出的 miR142-3p 和 miR204/211 可以使 GR 蛋白表达水平下降。由于不同软件对于预测的计算算法不同,交集出来的

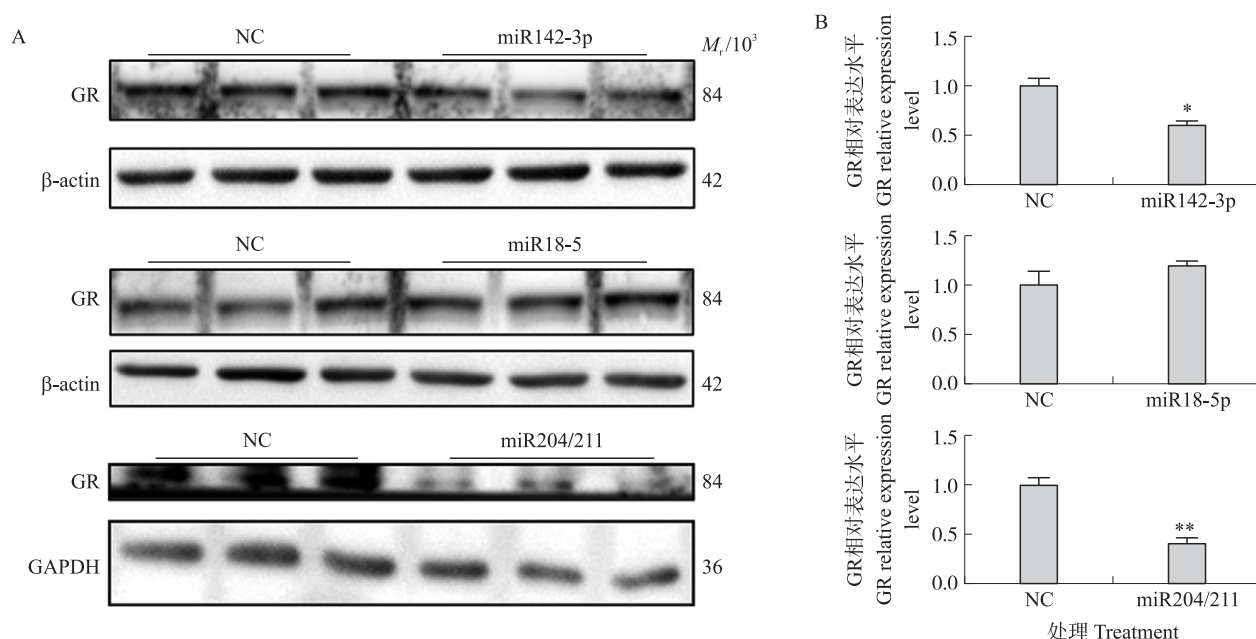


图5 DF1 细胞中 miR142-3p、miR18-5p、miR204/211 调控 GR 蛋白表达的 Western blot 鉴定(A)和统计(B)

Fig. 5 Western blot identification(A) and statistics(B) of miR142-3p, miR18-5p, miR204/211 regulated GR protein expression in DF1 cells

microRNA 并不代表所有结果,同时由于细胞特异性,可能在其他细胞中会有不同的 microRNA 可以降低 GR 的表达水平。

本研究使用不同软件预测 miR142-3p、miR204/211 和 miR18-5p 的靶基因,发现 GR 存在共同靶基因,对共同靶基因进行 GO 分子功能富集分析,不同 microRNA 的靶基因富集到的主要分子功能不同,表明这些 microRNA 在机体内发挥的主要功能不同。另外,已有研究证明在小鼠和大鼠中,miR142-3p 和 miR18-5p 可以靶向降低 GR 的表达水平<sup>[29,34]</sup>。由此,本研究结果具有一定意义,同时还需要进一步研究鉴定 microRNA 介导 GR 参与调控机体的具体机制。

#### 参考文献 References:

- [1] Vandewalle J, Luypaert A, de Bosscher K, et al. Therapeutic mechanisms of glucocorticoids[J]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2018, 29(1):42-54.
- [2] Ye C, Li W Y, Li L, et al. Glucocorticoid treatment strategies in liver failure[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13:846091.
- [3] Beaupere C, Liboz A, Fève B, et al. Molecular mechanisms of glucocorticoid-induced insulin resistance[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(2):623.
- [4] Caratti G, Stifel U, Caratti B, et al. Glucocorticoid activation of anti-inflammatory macrophages protects against insulin resistance[J]. Nature Communications, 2023, 14(1):2271.
- [5] Florido A, Velasco E R, Monari S, et al. Glucocorticoid-based pharmacotherapies preventing PTSD[J]. Neuropharmacology, 2023, 224:109344.
- [6] Deploey N, van Moortel L, Rogatsky I, et al. The biologist's guide to the glucocorticoid receptor's structure[J]. Cells, 2023, 12(12):1636.
- [7] Buonaiuto R, Neola G, Cecere S C, et al. Glucocorticoid receptor and ovarian cancer: from biology to therapeutic intervention[J]. Biomolecules, 2023, 13(4):653.
- [8] Yang M, Chen J Y, Wei W. Dimerization of glucocorticoid receptors and its role in inflammation and immune responses[J]. Pharmacological Research, 2021, 166:105334.
- [9] Dreumont N, Mimoun K, Pourié C, et al. Glucocorticoid receptor activation restores learning memory by modulating hippocampal plasticity in a mouse model of brain vitamin B12 deficiency[J]. Molecular Neurobiology, 2021, 58(3):1024-1035.
- [10] Wang X J, Song Z G, Jiao H C, et al. Dexamethasone facilitates lipid accumulation in chicken skeletal muscle[J]. Stress, 2012, 15(4):443-456.
- [11] Omer N A, Hu Y, Idriss A A, et al. Dietary betaine improves egg-laying rate in hens through hypomethylation and glucocorticoid receptor-mediated activation of hepatic lipogenesis-related genes[J]. Poultry Science, 2020, 99(6):3121-3132.
- [12] 李炎林, 蒋文夺, 冯跃, 等. 泽泻粉对高能低蛋白日粮诱导的蛋鸡肝脏脂肪沉积的缓解作用[J]. 畜牧与兽医, 2023, 55(12):13-20.  
Li Y L, Jiang W D, Feng Y, et al. *Alisma* powder alleviates high energy and low protein diet-induced hepatic lipid deposition in laying hens[J]. Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2023, 55(12):13-20(in Chinese with English abstract).

- [13] Wang S, Ni Y, Guo F, et al. Differential expression of hypothalamic fear- and stress-related genes in broiler chickens showing short or long tonic immobility[J]. *Domestic Animal Endocrinology*, 2014, 47:65-72.
- [14] Duan Y J, Fu W Y, Wang S, et al. Cholesterol deregulation induced by chronic corticosterone (CORT) stress in pectoralis major of broiler chickens[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2014, 176:59-64.
- [15] Ahmed A A, Ma W Q, Ni Y D, et al. Corticosterone *in ovo* modifies aggressive behaviors and reproductive performances through alterations of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the chicken[J]. *Animal Reproduction Science*, 2014, 146(3/4):193-201.
- [16] Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2010, 11(9):597-610.
- [17] Zhou Y T, Tian W H, Zhang M, et al. Transcriptom analysis revealed regulation of dexamethasone induced microRNAs in chicken thymus[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2019, 120(4):6570-6579.
- [18] Ma Z, Li H, Zheng H, et al. Hepatic ELOVL6 mRNA is regulated by the gga-miR-22-3p in egg-laying hen[J]. *Gene*, 2017, 623:72-79.
- [19] Li Y F, Zhai B, Yuan P T, et al. MiR-29b-1-5p regulates the proliferation and differentiation of chicken primary myoblasts and analysis of its effective targets[J]. *Poultry Science*, 2022, 101(2):101557.
- [20] Kisliouk T, Meiri N. MiR-138 promotes the migration of cultured chicken embryonic hypothalamic cells by targeting reelin[J]. *Neuroscience*, 2013, 238:114-124.
- [21] Lu C L, Ren J, Mo J W, et al. Glucocorticoid receptor-dependent astrocytes mediate stress vulnerability[J]. *Biological Psychiatry*, 2022, 92(3):204-215.
- [22] Loft A, Schmidt S F, Caratti G, et al. A macrophage-hepatocyte glucocorticoid receptor axis coordinates fasting ketogenesis[J]. *Cell Metabolism*, 2022, 34(3):473-486.
- [23] Nicolaides N C. The human glucocorticoid receptor beta: from molecular mechanisms to clinical implications[J]. *Endocrinology*, 2022, 163(11):1-7.
- [24] Lesovaya E A, Chudakova D, Baida G, et al. The long winding road to the safer glucocorticoid receptor (GR) targeting therapies[J]. *Oncotarget*, 2022, 13:408-424.
- [25] Molitch M E. Glucocorticoid receptor blockers[J]. *Pituitary*, 2022, 25(5):733-736.
- [26] Lin C C, Cheng P Y, Hsiao M, et al. Effects of RU486 in treatment of traumatic stress-induced glucocorticoid dysregulation and fear-related abnormalities: early versus late intervention[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(10):5494.
- [27] Ishikawa S, Ogihara T, Yamaoka S, et al. A glucocorticoid-receptor agonist ameliorates bleomycin-induced alveolar simplification in newborn rats[J]. *Pediatric Research*, 2023, 93(6):1551-1558.
- [28] Præstholt S M, Correia C M, Goitea V E, et al. Impaired glucocorticoid receptor expression in liver disrupts feeding-induced gene expression, glucose uptake, and glycogen storage[J]. *Cell Reports*, 2021, 37(5):109938.
- [29] Vreugdenhil E, Verissimo C S L, Mariman R, et al. MicroRNA 18 and 124a down-regulate the glucocorticoid receptor: implications for glucocorticoid responsiveness in the brain[J]. *Endocrinology*, 2009, 150(5):2220-2228.
- [30] Wang S S, Mu R H, Li C F, et al. MicroRNA-124 targets glucocorticoid receptor and is involved in depression-like behaviors[J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2017, 79:417-425.
- [31] Wang Z T, Miu K K, Zhang X Y, et al. Hepatic miR-192-3p reactivation alleviates steatosis by targeting glucocorticoid receptor[J]. *JHEP Reports*, 2020, 2(6):100179.
- [32] Xu J J, Wang R, Liu Y, et al. FKBP5 and specific microRNAs via glucocorticoid receptor in the basolateral amygdala involved in the susceptibility to depressive disorder in early adolescent stressed rats[J]. *Journal of Psychiatric Research*, 2017, 95:102-113.
- [33] Uchida S, Nishida A, Hara K, et al. Characterization of the vulnerability to repeated stress in Fischer 344 rats: possible involvement of microRNA-mediated down-regulation of the glucocorticoid receptor[J]. *The European Journal of Neuroscience*, 2008, 27(9):2250-2261.
- [34] Riester A, Issler O, Spyroglou A, et al. ACTH-dependent regulation of microRNA As endogenous modulators of glucocorticoid receptor expression in the adrenal gland[J]. *Endocrinology*, 2012, 153(1):212-222.
- [35] Song S H, Jang W J, Jang E Y, et al. Striatal miR-183-5p inhibits methamphetamine-induced locomotion by regulating glucocorticoid receptor signaling[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13:997701.

责任编辑:周广礼