

· 其他肝病 ·

DOI: 10.12449/JCH250922

微小RNA-544对脓毒症肝损伤小鼠模型的调控作用及其机制

官松美^{1a}, 黄培悟², 龚小保³, 林康强^{1b}, 段世刚^{1b}

1 广东医科大学附属第二医院 a. 药学部, b. 肝胆胰外科, 广东 湛江 524000

2 广东医科大学第一临床学院, 广东 湛江 524000

3 重庆大学附属肿瘤医院药学部, 重庆 400700

通信作者: 林康强, lkq1008@foxmail.com (ORCID: 0000-0002-6313-8336); 段世刚, 980233908@qq.com (ORCID: 0000-0002-4786-1612)

摘要: 目的 本研究旨在探讨微小RNA(miRNA)-544在脂多糖(LPS)诱导的脓毒症小鼠肝损伤中的作用及其潜在机制,为脓毒症肝损伤的治疗提供新靶点。方法 选取40只C57BL/6J小鼠,随机分为对照组(腹腔注射生理盐水)、模型组(腹腔注射LPS, 5 mg/kg)、激动剂组(腹腔注射LPS+miR-544抑制剂, 5 mg/kg)和miR-544抑制剂组(腹腔注射LPS+miR-544激动剂, 5 mg/kg),每组10只。采用全自动生化仪检测血清和肝组织中ALT、AST和TBil水平;Western Blot检测肝脏中单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)、CD16/32以及NF- κ B信号通路相关蛋白表达,实时定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)和酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的表达。计量资料多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。结果 与对照组相比,LPS诱导的脓毒症模型组小鼠血清和肝组织中miR-544表达水平显著降低(P 值均 <0.01),肝脏出现明显炎症细胞浸润、中央静脉充血等病理改变,肝损伤指标(ALT、AST、TBil)在血清和肝组织中均显著升高(P 值均 <0.001),炎症因子(MCP-1、CD16/32、TNF- α 、IL-6、IL-1 β)表达水平均显著升高(P 值均 <0.01),NF- κ B通路关键蛋白(p-IKK、p-I- κ B- α 、p-p65)磷酸化水平均显著升高(P 值均 <0.01)。与模型组相比,miR-544抑制剂组血清和肝组织中miR-544表达水平均显著降低(P 值均 <0.01),肝脏病理学进一步加重,同时,肝损伤指标和炎症因子(ALT、AST、TBil、MCP-1、CD16/32、TNF- α 、IL-6、IL-1 β)水平均显著升高(P 值均 <0.05),NF- κ B通路关键蛋白(p-IKK、p-I- κ B- α 、p-p65)磷酸化水平均显著升高(P 值均 <0.01),而miR-544激动剂组血清和肝组织中miR-544水平均显著升高(P 值均 <0.01),肝脏病理学显著减轻,肝损伤指标和炎症因子(ALT、AST、TBil、MCP-1、CD16/32、TNF- α 、IL-6、IL-1 β)水平均显著降低(P 值均 <0.05),NF- κ B通路关键蛋白(p-IKK、p-I- κ B- α 、p-p65)磷酸化水平均显著降低(P 值均 <0.05)。结论 miR-544可通过抑制炎症相关蛋白表达及NF- κ B信号通路激活,减轻LPS诱导的脓毒症小鼠肝损伤。

关键词: 脓毒症; 脂多糖类; 微RNAs; 小鼠, 近交C57BL**基金项目:** 湛江市科技发展专项(2021A05101, 2022A01147); 广东医科大学附属第二医院高层次人才启动项目(21H03, 23H02)

Regulatory effect of microRNA-544 on liver injury in mice with sepsis and its mechanism

GUAN Songmei^{1a}, HUANG Peiwu², GONG Xiaobao³, LIN Kangqiang^{1b}, DUAN Shigang^{1b}

1. a. Department of Pharmacy, b. Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, The Second Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524000, China; 2. The First Clinical College of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524000, China; 3. Department of Pharmacy, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing 400700, China

Corresponding authors: LIN Kangqiang, lkq1008@foxmail.com (ORCID: 0000-0002-6313-8336); DUAN Shigang, 980233908@qq.com (ORCID: 0000-0002-4786-1612)

Abstract: Objective To investigate the role and potential mechanism of microRNA-544 (miRNA-544) in lipopolysaccharide (LPS)-induced liver injury in mice with sepsis, and to provide a new target for the treatment of liver injury in sepsis. **Methods** A total of 40 C57BL/6J mice were randomly divided into control group (intraperitoneal injection of normal saline), model group

(intraperitoneal injection of LPS at a dose of 5 mg/kg), agonist group (intraperitoneal injection of LPS and miR-544 agonist at a dose of 5 mg/kg), and miR-544 inhibitor group (intraperitoneal injection of LPS and miR-544 inhibitor at a dose of 5 mg/kg), with 10 mice in each group. An automatic biochemical analyzer was used to measure the levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and total bilirubin (TBil) in serum and the liver; Western blot was used to measure the expression levels of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), CD16/32, and proteins associated with the NF- κ B signaling pathway in the liver; q-PCR and ELISA were used to measure the expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-1 β (IL-1 β) in serum. A one-way analysis of variance was used for comparison between multiple groups, and the least significant difference *t*-test was used for further comparison between two groups. **Results** Compared with the control group, the model group of LPS-induced sepsis had a significant reduction in the expression level of miR-544 in serum and liver tissue ($P<0.01$), significant pathological changes of the liver (such as inflammatory cell infiltration and central vein congestion), and significant increases in the levels of liver injury markers (ALT, AST, and TBil) in serum and the liver (all $P<0.001$), the expression levels of inflammatory factors (MCP-1, CD16/32, TNF- α , IL-6, and IL-1 β) (all $P<0.01$), and the phosphorylation levels of key proteins of the NF- κ B pathway (p-IKK, p-I-NF- κ , and p-p65) (all $P<0.01$). Compared with the model group, the miR-544 inhibitor group had a significant reduction in the expression level of miR-544 in serum and liver tissue ($P<0.01$), aggravated pathological changes of the liver, and significant increases in the levels of liver injury markers and inflammatory factors (ALT, AST, TBil, MCP-1, CD16/32, TNF- α , IL-6, and IL-1) (all $P<0.05$), as well as significant increases in the phosphorylation levels of key proteins of the NF- κ B pathway (p-IKK, p-I- κ B- α , and p-p65) (all $P<0.01$). On the contrary, the miR-544 agonist group had a significant increase in the expression level of miR-544 in serum and liver tissue ($P<0.01$), significant alleviation of liver pathological changes, and significant reductions in the levels of liver injury markers and inflammatory factors (ALT, AST, TBil, MCP-1, CD16/32, TNF- α , IL-6, and IL-1 β) (all $P<0.05$), as well as significant reductions in the phosphorylation levels of key proteins of the NF- κ B pathway (p-IKK, p-I- κ B- α , and p-p65) (all $P<0.05$). **Conclusion** This study shows that miR-544 can alleviate LPS-induced liver injury in mice with sepsis by inhibiting the expression of inflammatory-related proteins and the activation of the NF- κ B signaling pathway.

Key words: Sepsis; Lipopolysaccharides; MicroRNAs; Mice, Inbred C57BL

Research funding: Zhanjiang Science and Technology Development Special Projects (2021A05101, 2022A01147); High-level Talent Start-up Project of the Second Affiliated Hospital of Guangdong Medical University (21H03, 23H02)

脓毒症是一种由感染引发的全身性炎症反应性疾病,因宿主细胞免疫炎症反应失调,可导致脓毒性休克及多器官衰竭(涵盖心、脑、肺、肝等重要器官损伤),最终引发死亡^[1]。尽管在治疗方面取得了进展,脓毒症仍然是重症监护病房最常见死亡原因^[2-5]。脓毒症的发病机制与包括脂多糖(LPS)在内的感染性物质相互作用后由不同细胞亚群引发的促炎信号和抗炎信号之间的不平衡有关^[1,6],从而导致炎症介质的过度或不适当释放并最终导致宿主细胞和器官损伤^[7]。预防炎症和细胞凋亡可能潜在地改善脓毒症诱导的肝损伤。

微小RNA(microRNA, miRNA)是一种内源性小的非编码调节RNA,通过与靶mRNA的3'-UTR结合来调节基因表达,通常抑制翻译^[8]。越来越多的研究表明,miRNA在脓毒症诱导的炎症发病机制和多种细胞过程的进展中起关键作用^[9]。有研究表明,miRNA通过改变关键信号元件参与脓毒症诱导的炎症反应。例如,miR-212-3p通过靶向脓毒症中高迁移率族蛋白-1来抑制LPS诱导的炎症反应^[10]。此外,miR-130b的过表达可减轻LPS诱导的败血症小鼠模型中急性肺血管炎症^[11]。miR-544已被证

明参与多种细胞过程的调节^[12],包括干细胞自我更新^[13]、细胞分化和癌变^[14]。最新研究发现,miR-544通过靶向脂肪酸合酶抑制肾小球硬化和炎症,从而减轻糖尿病肾损伤^[15]。此外,来源于过表达miR-544的骨间充质干细胞的外泌体通过减轻脊髓损伤后的炎症来改善功能恢复并促进神经元存活^[16]。上述研究均强调了miR-544在炎症过程中的重要性,而炎症失衡是脓毒症发病机制的关键环节之一。因此,笔者推测miR-544具有通过抑制炎症信号通路改善脓毒症的潜在作用。尽管已有研究探讨了miR-544在其他疾病中的作用,但其在脓毒症肝损伤中的作用尚不清楚。本研究旨在分析脓毒症小鼠肝组织和血清中miR-544的表达,以及miR-544过表达和抑制后肝脏中相关炎症信号通路中蛋白的表达情况,为揭示miR-544在脓毒症中的生物学效应和潜在机制提供证据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和设备 RNA提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司),Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR(上海翊圣生物科技有限公

司), SuperReal PreMix Plus(北京天根生化科技有限公司), 全蛋白提取试剂盒(上海生工生物工程股份有限公司), miRNA-544抑制剂:SID3712249(上海皓元生物科技有限公司), LPS(Santa Cruz Biotechnology, 美国), 磷酸化 κ B抑制蛋白 α/κ B抑制蛋白 α (p-I κ B- α /I κ B- α)、磷酸化I- κ B激酶/I- κ B激酶(p-IKK/IKK)、磷酸化NF- κ B p65亚基/NF- κ B p65亚基(p-p65/p65)(武汉三鹰生物技术有限公司), ELISA试剂盒(上海酶联生物科技有限公司), BK-800分立式全自动生化仪(山东博科生物产业有限公司)。

1.2 动物实验和分组 雄性C57BL/6J小鼠(8~10周龄, 20~22 g, $n=40$)购自重庆恩斯维尔生物科技有限公司。在标准环境下饲养1周以适应环境, 期间自由摄食水和食物。随后将其进行简单随机分组(抽签法), 分为对照组、模型组、激动剂组和抑制剂组, 每组10只。对照组腹腔注射生理盐水, 模型组腹腔注射LPS(5 mg/kg), 抑制剂组在腹腔注射LPS的同时给予miR-544抑制剂(5 mg/kg), 激动剂组在腹腔注射LPS的同时给与miR-544激动剂(5 mg/kg)。给药7 d后, 收集血清和小鼠肝组织冻存于 -80°C 备用。

1.3 生化指标测定 采集血液后, 在室温下静置10 min, 4°C 、3 000 r/min离心10 min后收集血清, 使用全自动生化仪测定血清中ALT、AST和TBil水平。

1.4 HE染色 取每只小鼠的肝组织置于4%多聚甲醛中固定24 h, 包埋于石蜡中, 切取4 μm 切片, 置于载玻片上并将载玻片置于烘箱中干燥。通过对二甲苯、醇和水的短暂处理对载玻片进行水化, 以增强细胞对染料的亲和力。按照标准方法对切片进行HE染色, 并在光学显微镜下观察和记录结果。

1.5 RNA提取和实时定量聚合酶链式反应(qRT-PCR) 采用RNA提取试剂盒提取血清和肝组织中总RNA, 并通过Hifair[®] II 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR试剂盒进行逆转录。随后通过SuperReal PreMix Plus试剂盒进行实时PCR定量和分析相对mRNA表达量。qRT-PCR所用引物由擎科生物设计, 见表1。

1.6 Western Blot分析肝脏中炎症相关蛋白 通过全蛋白提取试剂盒提取肝组织中的全蛋白。通过BCA试剂盒测定蛋白浓度, 并在实验前对蛋白标本进行标准化处理。通过SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白, 转移至PVDF膜上, 使用5%脱脂奶粉对膜进行封闭, 随后分别加入MCP-1、

CD16/32、p-IKK/IKK、p-I κ B- α /I κ B- α 、p-p65/p65, 在 4°C 摇床孵育过夜。一抗孵育结束后, 加入HRP标记的二抗, 在室温孵育2 h。最后进行ECL显色, 通过凝胶成像仪对显色结果进行拍照记录。

1.7 免疫组化分析 将肝组织置于4%多聚甲醛中固定过夜, 随后包埋在石蜡中。制备4 μm 切片。将石蜡包埋的组织切片置于二甲苯中脱石蜡, 再通过梯度乙醇再水合。用3%过氧化氢(甲醇溶液)灭活内过氧化物酶30 min。随后将切片置于 121°C 下, 在柠檬酸钠缓冲液(pH=6.0)中高压灭菌15 min进行抗原修复。在室温下使用10%正常山羊血清对切片进行封闭处理30 min。随后加入MCP-1、CD16/32一抗置于 4°C 温育过夜。次日洗涤切片后, 依次加入生物素化的二抗和辣根过氧化物酶缀合的链霉抗生物素蛋白进行孵育。最后使用3,3'-二氨基联苯胺显色, 产生棕色标记。采用Image J软件对收集的图像进行统计分析。

1.8 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用LSD- t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脓毒症小鼠中miR-544的表达情况 与对照组相比, 模型组小鼠血清中miR-544的水平显著降低($P<0.01$); 与模型组相比, 抑制剂组小鼠血清中miR-544表达水平显著降低($P<0.01$), 而激动剂小鼠血清中miR-544的表达水平显著升高($P<0.01$)(图1a)。肝组织中miR-544的表达趋势与血清中一致(图1b)。为进一步研究miR-544在LPS诱导的脓毒症相关肝损伤中的有效性, 发现连续给药7 d后, 正常组小鼠存活率一直为100%, 而模型组小鼠第1天存活率下降至80%, 第3天存活率只有30%, 从第4天起存活率保持在20%。此外, 与模型组相比, 抑制剂组小鼠存活率同样持续降低, 于第4天起存活率只有10%, 而激动剂组存活率则较高, 从第4天起一直保持50%(图1c)。HE染色结果显示, 与正常组相比, 模型组小鼠肝脏出现炎症因子浸润、中央静脉充血等病理变化; 与模型组相比, 抑制剂组小鼠肝脏炎症因子浸润增多、中央静脉充血加重, 而在激动剂组小鼠中, 炎症因子浸润、中央静脉

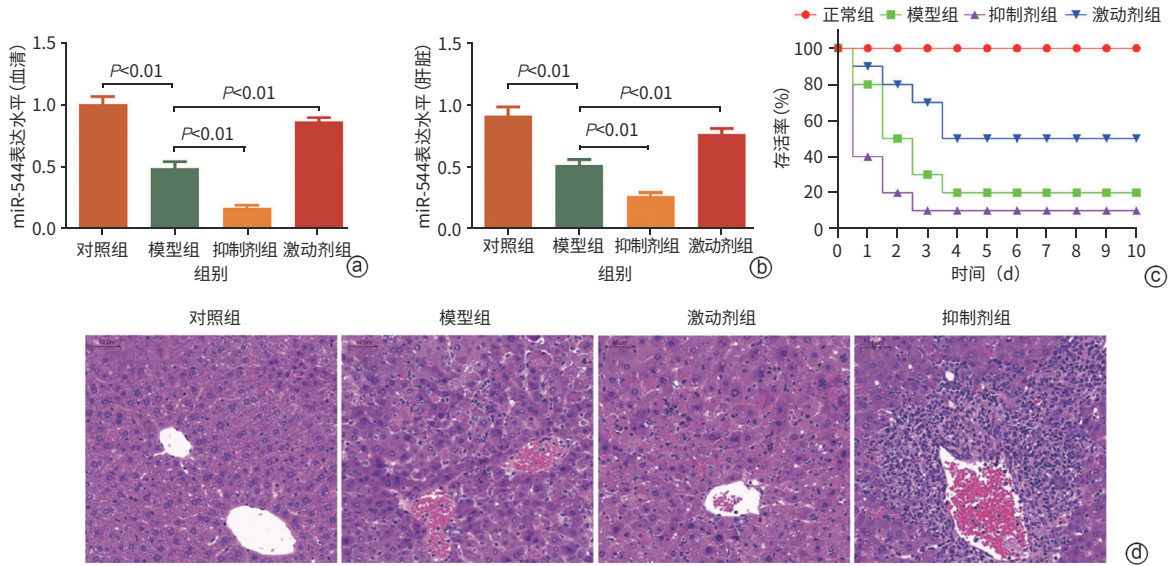
表1 用于qRT-PCR分析的引物
Table 1 Primers for qRT-PCR analysis

底物	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
miR-544	ACACTCCAGCTGGGATTCTG	TGCTGTCTGTGACTCG
IL-1 β	ATGGCAACTGTTCCCTGAACCAACT	CAGGACAGGTATAGATTCTTTTCCTTT
IL-6	GCTATGAAGTTCCTCTCTG	CTAGGTTTGCCGAGTAGATC
TNF- α	CCAGACCCTCACACTCAGAT	AACACCCATTCCCTTCACAG
GAPDH	ACCACAGTCCATGCCATCAC	TCCACCACCCTGTGCTGTA

充血等病理变化均得到改善(图1d)。

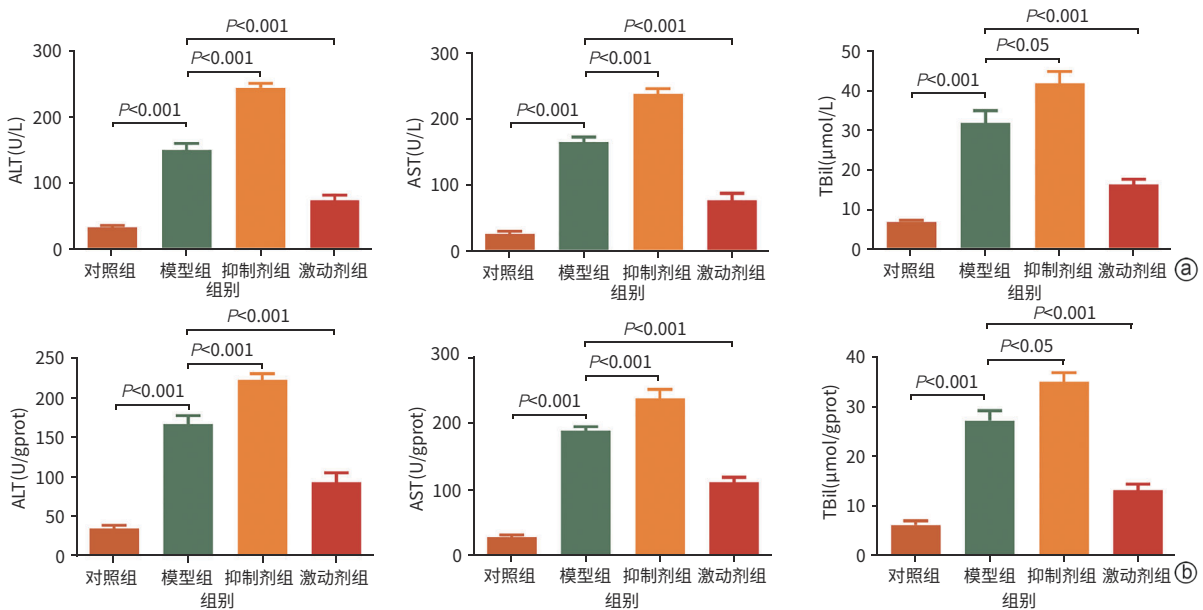
2.2 miR-544对LPS诱导的脓毒症小鼠肝功能的影响
与对照组相比,模型组小鼠血清和肝组织中的ALT、AST、TBil水平均显著升高(P 值均 <0.001);与模型组相比,抑制剂组小鼠血清和肝组织中的ALT、AST、TBil水平均显著升高(P 值均 <0.05),而激动剂组血清和肝组织中的ALT、AST、TBil水平均显著降低(P 值均 <0.001)(图2)。

2.3 miR-544对LPS诱导的脓毒症小鼠肝脏炎症的影响
与对照组相比,模型组小鼠肝组织中趋化因子MCP-1表达水平显著升高($P<0.05$);与模型组相比,抑制剂组小鼠肝组织中MCP-1表达水平显著升高($P<0.05$),而激动剂组MCP-1的表达水平显著降低($P<0.05$)。CD16/32作为巨噬细胞的标志物,其表达水平可反映炎症严重程度。本研究发现,与对照组相比,模型组小鼠肝组织中CD16/32表达



注:a,LPS诱导脓毒症小鼠的血清中miR-544的表达;b,LPS诱导脓毒症小鼠的肝脏中miR-544的表达;c,LPS处理的脓毒症小鼠存活率情况;d,LPS处理的脓毒症小鼠肝组织HE染色($\times 200$)。

图1 LPS诱导的脓毒症小鼠血清和肝组织中的miR-544表达水平
Figure 1 Underexpression of miR-544 in LPS-induced sepsis



注:a,血清肝功能指标;b,肝组织肝功能指标。

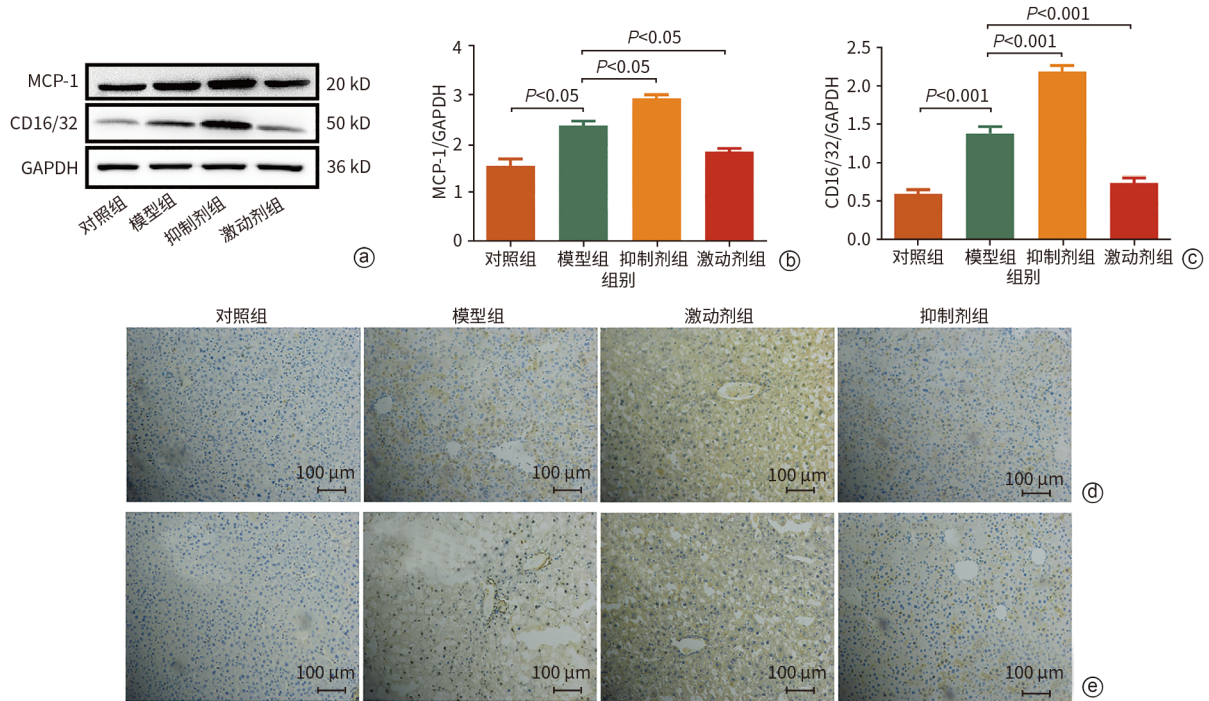
图2 miR-544对LPS诱导的脓毒症小鼠肝功能的影响
Figure 2 Effects of miR-544 on liver function in mice with LPS-induced sepsis

水平显著升高($P<0.001$);与模型组相比,抑制剂组小鼠肝组织中CD16/32表达水平显著升高($P<0.001$),而激动剂组CD16/32表达水平则显著降低($P<0.001$)(图3)。

2.4 miR-544抑制LPS诱导的脓毒症中肝脏促炎因子的产生 与对照组相比,模型组小鼠血清和肝组织中促炎因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的表达水平显著升高(P 值均<

0.05);与模型组相比,抑制剂组促炎因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的表达水平显著升高(P 值均<0.05),而激动剂组促炎因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的表达水平显著降低(P 值均<0.05)(图4)。

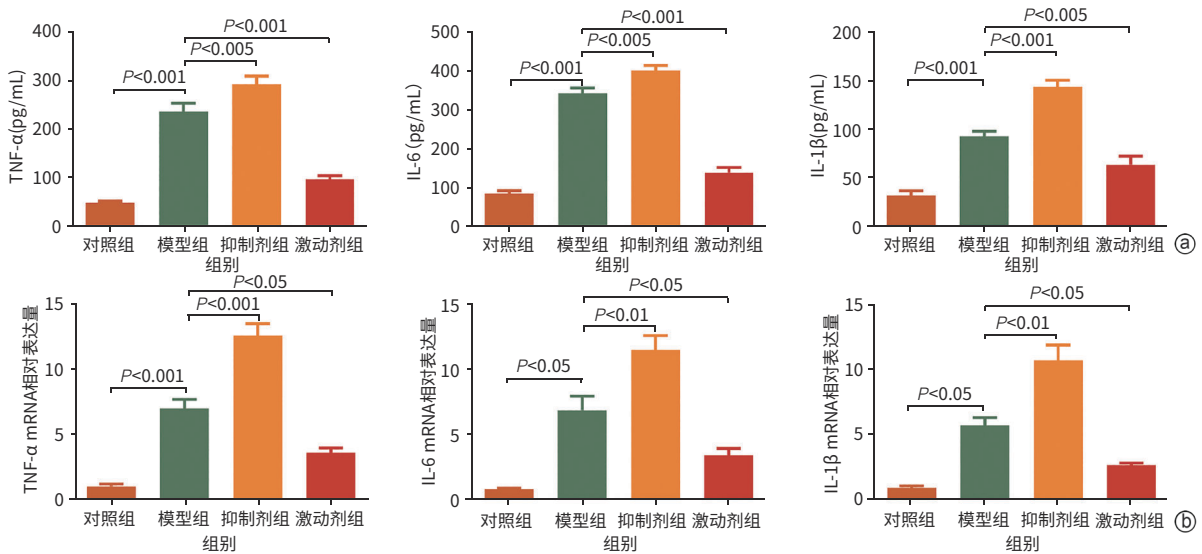
2.5 miR-544抑制脓毒症肝脏中NF- κ B信号的激活 与对照组相比,模型组小鼠肝组织中的p-IKK、p-I κ B- α 和



注:a, MCP-1和CD16/32蛋白免疫印迹分析;b, MCP-1蛋白免疫印迹分析的量化分析;c, CD16/32蛋白免疫印迹量化分析;d, MCP-1免疫组化分析(ECL, $\times 100$);e, CD16/32免疫组化分析(ECL, $\times 100$)。

图3 miR-544对LPS诱导的脓毒症小鼠肝脏炎症的影响

Figure 3 Effect of miR-544 on hepatic inflammation in LPS-induced sepsis



注:a,血清促炎因子;b,肝组织促炎因子。

图4 miR-544对LPS诱导的脓毒症小鼠血清和肝组织中炎症因子的影响

Figure 4 Effect of miR-544 on inflammatory factors in LPS-induced sepsis

p-p65的表达水平均显著升高(P 值均 <0.05);与模型组相比,抑制剂组肝组织中的p-IKK、p-I κ B- α 和p-p65的表达水平均显著升高(P 值均 <0.01),而激动剂组肝组织中的p-IKK、p-I κ B- α 和p-p65的表达水平均显著降低(P 值均 <0.05)(图5)。

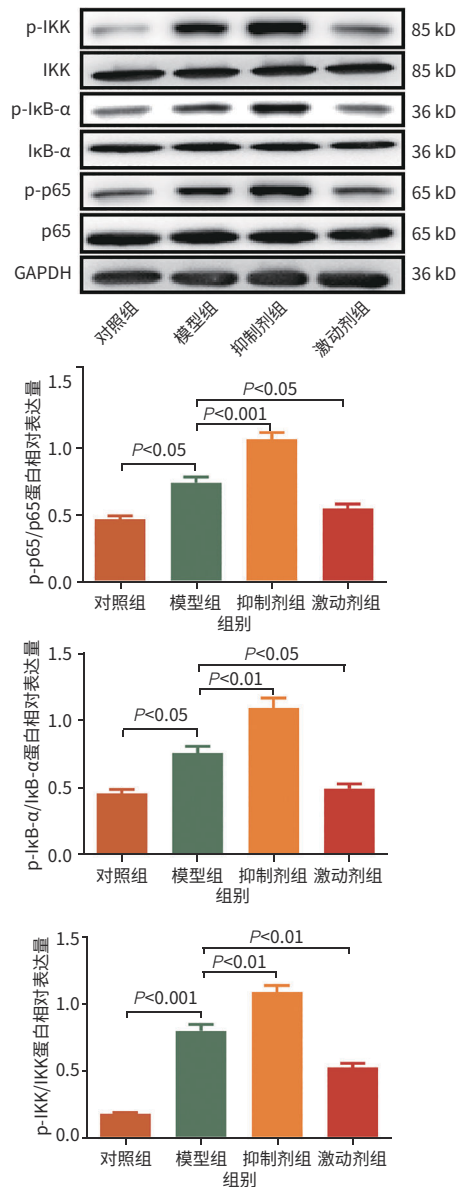


图5 miR-544抑制脓毒症小鼠肝组织中NF- κ B信号的激活
Figure 5 miR-544 inhibits activation of NF- κ B signaling in uremic liver

3 讨论

严重脓毒症与感染性休克仍然是重症监护病房发病率和病死率的重要因素,且其发病率和病死率呈逐年上升趋势^[6]。脓毒症引发的全身性炎症反应主要由促炎细胞因子驱动^[17]。炎症反应后的免疫抑制作为补偿性

机制,旨在保护宿主免受细胞因子和其他炎症因子的侵害,然而,在脓毒症中,白细胞失活现象导致继发性致命感染和大多数脓毒症相关死亡^[18]。因此,探索针对炎症反应的有效药物对脓毒症的治疗具有重要意义。本研究聚焦于miR-544对脓毒症引起的急性肝损伤的作用机制,发现miR-544主要通过抑制NF- κ B信号通路,对脓毒症小鼠急性肝损伤发挥保护作用。

肝脏通过控制凝血和炎症过程参与宿主防御和组织修复,因此肝损伤在脓毒症中较为常见^[19]。本研究通过腹腔注射LPS成功建立脓毒症模型,该模型表现出显著的肝损伤,其组织病理学和生化指标均发生明显改变^[20]。ALT、AST和TBil是临床肝损伤的重要评判指标,实验发现脓毒症模型组血清和肝脏中ALT、AST和TBil水平显著增加,miR-544抑制剂组水平更高,而miR-544激动剂组水平显著降低。这表明miR-544对脓毒症引起的肝损伤具有保护作用。

趋化因子MCP-1的释放主要刺激释放炎症细胞因子(如IL-1)的释放,CD16/32作为巨噬细胞的标志物,是炎症反应中重要评估指标^[21]。研究结果显示,与对照组相比,模型组小鼠MCP-1和CD16/32表达显著增加,miR-544抑制剂组表达更高,而miR-544激动剂组表达显著降低。促炎细胞因子的产生驱动的全身性炎症反应是脓毒症发生的关键因素。TNF- α 、IL-6和IL-1 β 参与LPS诱导的组织损伤,被认为是严重炎症性疾病的主要调节因子。一些炎症因子已被提议作为用于败血症患者的潜在生物标志物^[22-24]。本研究发现,LPS诱导脓毒症后,肝脏炎症因子显著增加,miR-544抑制剂使炎症因子进一步增加,而miR-544激动剂则显著降低肝脏中炎症,结果表明,miR-544介导了对LPS诱导脓毒症肝脏炎症的缓解。

多种研究表明,NF- κ B信号通路与脓毒症期间各种炎症介质的分泌密切相关,能够调节众多炎症基因的表达^[25]。近期研究发现,天然抑制剂通过特异性阻断NF- κ B信号通路,下调炎症介质产生,显著减轻内毒素引发的败血症反应。因此,抑制NF- κ B活化可能是脓毒症的潜在治疗方法^[2,26]。正常状态下,NF- κ B二聚体与I κ B- α 在细胞质中结合,受外界刺激时,IKK复合体磷酸化激活,使I κ B- α 蛋白磷酸化,NF- κ B与I κ B- α 分离,随后I κ B- α 蛋白被泛素化降解。NF- κ B活化后易位至细胞核,调节炎症反应^[27]。本研究通过Western Blot检测肝脏中NF- κ B信号通路蛋白发现,miR-544通过阻断脓毒症小鼠肝脏NF- κ B信号通路的激活,从而减少肝脏炎症。

综上所述,miR-544可通过抑制炎症反应,有效保护LPS诱导的脓毒症小鼠肝脏,且其抗炎机制与调控NF- κ B信号通路密切相关。这提示miR-544有望成为未来脓毒症相关肝损伤治疗的潜在新靶点。

伦理学声明: 本研究方案于2021年3月20日经由西南大学实验动物伦理委员会审批,批号:IACUC-20210320-02,符合实验室动物管理与使用准则。

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明: 段世刚负责研究构思与设计;黄培悟、龚小保负责实验操作和数据收集;林康强负责对结果分析与解释;段世刚、官松美负责文章撰写。

参考文献:

- [1] CAO LP, LI ZH, YANG ZZ, et al. Ferulic acid positively modulates the inflammatory response to septic liver injury through the GSK-3 β /NF- κ B/CREB pathway[J]. *Life Sci*, 2021, 277: 119584. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.119584.
- [2] ABDELNASER M, ALAAELDIN R, ATTYA ME, et al. Hepatoprotective potential of gabapentin in cecal ligation and puncture-induced sepsis; targeting oxidative stress, apoptosis, and NF- κ B/MAPK signaling pathways[J]. *Life Sci*, 2023, 320: 121562. DOI: 10.1016/j.lfs.2023.121562.
- [3] HAO CP, LI QH, ZHANG CC, et al. Analysis of the current status and influencing factors of quality of life of sepsis survivors in intensive care units[J]. *Chin J Crit Care Med*, 2024, 36(1): 23-27. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4350.2024.01.004.
郝翠平, 李秋华, 张翠琴, 等. 重症监护病房脓毒症存活者生活质量现状及其影响因素分析[J]. *中华危重病急救医学*, 2024, 36(1): 23-27. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4350.2024.01.004.
- [4] XU DZ, ZHANG SX, WANG K, et al. Value of the serum levels of Clusterin and sphingosine 1-phosphate in assessing the prognosis of sepsis patients with acute liver injury[J]. *J Clin Hepatol*, 2023, 39(12): 2867-2872. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2023.12.018.
徐大洲, 张树贤, 王坤, 等. 血清簇集蛋白、1-磷酸鞘氨醇水平对脓毒症急性肝损伤患者的预后价值[J]. *临床肝胆病杂志*, 2023, 39(12): 2867-2872. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2023.12.018.
- [5] HERRÁN-MONGE R, MURIEL-BOMBÍN A, GARCÍA-GARCÍA MM, et al. Epidemiology and changes in mortality of sepsis after the implementation of surviving sepsis campaign guidelines[J]. *J Intensive Care Med*, 2019, 34(9): 740-750. DOI: 10.1177/0885066617711882.
- [6] BIEBELBERG B, RHEE C, CHEN T, et al. Heterogeneity of sepsis presentations and mortality rates[J]. *Ann Intern Med*, 2024, 177(7): 985-987. DOI: 10.7326/M24-0400.
- [7] CHEN LF, LU Q, DENG FM, et al. miR-103a-3p could attenuate sepsis-induced liver injury by targeting HMGB1[J]. *Inflammation*, 2020, 43(6): 2075-2086. DOI: 10.1007/s10753-020-01275-0.
- [8] MITRA R, ADAMS CM, JIANG W, et al. Pan-cancer analysis reveals cooperativity of both strands of microRNA that regulate tumorigenesis and patient survival[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 968. DOI: 10.1038/s41467-020-14713-2.
- [9] SZILÁGYI B, FEJES Z, PÓLISKA S, et al. Reduced miR-26b expression in megakaryocytes and platelets contributes to elevated level of platelet activation status in sepsis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 866. DOI: 10.3390/ijms21030866.
- [10] CHEN WW, MA XY, ZHANG P, et al. miR-212-3p inhibits LPS-induced inflammatory response through targeting HMGB1 in murine macrophages[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 350(2): 318-326. DOI: 10.1016/j.yexcr.2016.12.008.
- [11] WANG P, ZHANG X, LI FL, et al. miR-130b attenuates vascular inflammation via negatively regulating tumor progression locus 2 (Tpl2) expression[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 51: 9-16. DOI: 10.1016/j.in-timp.2017.07.020.
- [12] ROY SG. Regulation of autophagy by miRNAs in human diseases[J]. *Nucleus (Calcutta)*, 2021, 64(3): 317-329. DOI: 10.1007/s13237-021-00378-9.
- [13] SONG WC, MU HL, WU J, et al. miR-544 regulates dairy goat male germline stem cell self-renewal via targeting PLZF[J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(10): 2155-2165. DOI: 10.1002/jcb.25172.
- [14] MO XM, LI HH, LIU M, et al. Downregulation of GSK3 β by miR-544a to maintain self-renewal ability of lung cancer stem cells[J]. *Oncol Lett*, 2014, 8(4): 1731-1734. DOI: 10.3892/ol.2014.2387.
- [15] SUN T, LIU Y, LIU LY, et al. microRNA-544 attenuates diabetic renal injury via suppressing glomerulosclerosis and inflammation by targeting FASN[J]. *Gene*, 2020, 723: 143986. DOI: 10.1016/j.gene.2019.143986.
- [16] LI CG, LI X, ZHAO BC, et al. Exosomes derived from miR-544-modified mesenchymal stem cells promote recovery after spinal cord injury[J]. *Arch Physiol Biochem*, 2020, 126(4): 369-375. DOI: 10.1080/13813455.2019.1691601.
- [17] GRONDMAN I, PIRVU A, RIZA A, et al. Biomarkers of inflammation and the etiology of sepsis[J]. *Biochem Soc Trans*, 2020, 48(1): 1-14. DOI: 10.1042/BST20190029.
- [18] DONG XJ, LIU QX, ZHENG Q, et al. Alterations of B cells in immunosuppressive phase of septic shock patients[J]. *Crit Care Med*, 2020, 48(6): 815-821. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004309.
- [19] LI H, CHEN Q, HAN XD. The role and mechanism of liver in the occurrence and development of sepsis[J]. *Med J Commun*, 2020, 34(1): 11-14. DOI: 10.19767/j.cnki.32-1412.2020.01.004.
李晗, 陈强, 韩旭东. 肝脏在脓毒症发生发展中的作用及机制[J]. *交通医学*, 2020, 34(1): 11-14. DOI: 10.19767/j.cnki.32-1412.2020.01.004.
- [20] LONG SR, LIU RD, KUMAR DV, et al. Immune protection of a helminth protein in the DSS-induced colitis model in mice[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 664998. DOI: 10.3389/fimmu.2021.664998.
- [21] WU YJ, WANG QH, LI M, et al. SLAMF7 regulates the inflammatory response in macrophages during polymicrobial sepsis[J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(6): e150224. DOI: 10.1172/JCI150224.
- [22] LIU D, HUANG SY, SUN JH, et al. Sepsis-induced immunosuppression: Mechanisms, diagnosis and current treatment options[J]. *Mil Med Res*, 2022, 9(1): 56. DOI: 10.1186/s40779-022-00422-y.
- [23] TONG X, TIAN L, XU JF, et al. Effect of Jinzhi on the expression of serum inflammatory factors in sepsis mice[J]. *J Emerg Tradit Chin Med*, 2023, 32(6): 954-957. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2023.06.004.
童昕, 田良, 许建峰, 等. 金汁对脓毒症小鼠血清炎症因子表达的影响[J]. *中国中医急症*, 2023, 32(6): 954-957. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2023.06.004.
- [24] DAS UN. Infection, inflammation, and immunity in sepsis[J]. *Biomolecules*, 2023, 13(9): 1332. DOI: 10.3390/biom13091332.
- [25] CHEN XS, WANG SH, LIU CY, et al. Losartan attenuates sepsis-induced cardiomyopathy by regulating macrophage polarization via TLR4-mediated NF- κ B and MAPK signaling[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 185: 106473. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106473.
- [26] JIA XH, LI XL, DONG FX, et al. Palmatine ameliorates CLP-induced sepsis via inhibition of NF- κ B signaling pathway[J]. *Cent South Pharm*, 2023, 21(3): 557-561. DOI: 10.7539/j.issn.1672-2981.2023.03.001.
贾鑫航, 李晓玲, 董方昕, 等. 巴马汀通过抑制NF- κ B信号通路改善CLP诱导的脓毒症[J]. *中南药学*, 2023, 21(3): 557-561. DOI: 10.7539/j.issn.1672-2981.2023.03.001.
- [27] GONG XB, YANG Y, HUANG LG, et al. Antioxidation, anti-inflammation and anti-apoptosis by paeonol in LPS/d-GalN-induced acute liver failure in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 46: 124-132. DOI: 10.1016/j.in-timp.2017.03.003.

收稿日期: 2025-01-22; 录用日期: 2025-06-06

本文编辑: 王莹

引证本文: GUAN SM, HUANG PW, GONG XB, et al. Regulatory effect of microRNA-544 on liver injury in mice with sepsis and its mechanism[J]. *J Clin Hepatol*, 2025, 41(9): 1861-1867.

官松美, 黄培悟, 龚小保, 等. 微小RNA-544对脓毒症肝损伤小鼠模型的调控作用及其机制[J]. *临床肝胆病杂志*, 2025, 41(9): 1861-1867.