

· 论 著 ·

lncRNA LINC00943 通过调节 TLR4/NF- κ B 通路对结核杆菌感染的巨噬细胞活性的机制研究

金慧敏, 王欢

(黑龙江省传染病防治院结核内科三病区, 黑龙江 哈尔滨 150500)

[摘要] **目的** 探讨 LINC00943 在结核杆菌感染的巨噬细胞自噬中的作用。**方法** 收集活动性结核病 (tuberculosis, TB) 患者 15 例和健康志愿者 15 例的外周血样本。实时定量反转录聚合酶链式反应检测 LINC00943 的表达。免疫荧光和透射电子显微镜检测自噬。蛋白质免疫印迹法检测 LC3-I、LC3-II 以及 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 通路相关蛋白的表达。细胞计数盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) 检测细胞活力; 流式细胞术检测细胞凋亡。**结果** 与健康对照组相比, TB 患者的单核细胞凋亡减少、自噬增强。与健康对照的单核细胞相比, TB 患者单核细胞中 LINC00943、TLR4 和 MyD88 的表达显著上调。结核病患者单核细胞中 LINC00943 的表达上调。过表达 LINC00943 可诱导巨噬细胞自噬。LINC00943 通过调节 TLR4/NF- κ B 通路调节巨噬细胞自噬。TLR4/NF- κ B 通路抑制剂处理可以逆转 LINC00943 对巨噬细胞自噬的促进作用。**结论** LINC00943 通过调节 TLR4/NF- κ B 通路抑制结核病中的巨噬细胞自噬, 这意味着治疗由结核分枝杆菌免疫逃逸引起的活动性肺结核发生的新策略。

[关键词] 巨噬细胞; 结核分枝杆菌; 自噬 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2024.07.013

[中图分类号] R521 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2024)07-0816-07

Mechanism of lncRNA LINC00943 regulating TLR4/NF- κ B pathway against macrophage activity in Mycobacterium tuberculosis infection

JIN Hui-min, WANG Huan

(The Third Department of Tuberculosis, Infectious Disease Prevention and Control Hospital, Heilongjiang Province, Harbin 150500, China)

[Abstract] **Objective** To explore the role of macrophage autophagy induced by Mycobacterium tuberculosis (TB) infection. **Methods** Peripheral blood samples were collected from 15 active TB patients and 15 healthy volunteers respectively. The expression of LINC00943 was detected by real time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR). Autophagy was detected by immunofluorescence and transmission electron microscopy. Expressions of LC3-I, LC3-II and Toll-like receptor 4 (TLR4)/ nuclear factor kappa-B (NF- κ B) pathway-related proteins were detected by Western blot. Cell viability was detected by cell counting kit-8 (CCK-8), and apoptosis was detected by flow cytometry. **Results** Compared with the healthy control group, monocyte apoptosis was reduced and autophagy was enhanced in TB patients. Compared with the monocytes of healthy controls, the expression of LINC00943, TLR4 and MyD88 in the monocytes of TB patients was significantly upregulated. Overexpression of LINC00943 induced macrophage autophagy, and LINC00943 regulated macrophage autophagy by modulating the TLR4/NF- κ B pathway. TLR4/NF- κ B pathway inhibitor treatment could

[收稿日期] 2023-03-29

[基金项目] 黑龙江省教育厅科学技术研究项目 (14251746)

[作者简介] 金慧敏 (1982-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 黑龙江省传染病防治院副主任医师, 医学学士, 从事结核病诊治研究。

reverse the promotion of macrophage autophagy by LINC00943. **Conclusion** LINC00943 inhibits macrophage autophagy in tuberculosis by modulating the TLR4/NF- κ B pathway, suggesting a new strategy for treating the occurrence of active TB caused by immune escape from *Mycobacterium tuberculosis*.

[Key words] mycobacterium tuberculosis; macrophages; autophagy

结核病(tuberculosis, TB)是一种由结核分枝杆菌(*mycobacterium tuberculosis*, Mtb)引起的慢性肺部传染病,是最常见的慢性传染病之一^[1]。由于TB发病机制复杂,临床症状不典型,很难早期诊断,这将导致TB感染源难以有效控制^[2]。因此,找到一种早期和准确的诊断方法对于预防和治疗TB非常重要。目前已有诸多研究报道巨噬细胞与Mtb有密切关系^[3]。巨噬细胞作为抵抗Mtb感染的第一道防线,在宿主抗Mtb感染免疫应答的发展中发挥着至关重要的作用^[4]。活化的巨噬细胞表现出强大的抗分枝杆菌活性,以清除细胞内Mtb感染。然而,巨噬细胞对Mtb应答调控的确切机制尚未完全阐明。因此,充分了解TB的病理机制,对今后防治TB具有重要意义。lncRNAs在宿主对Mtb感染的免疫反应中发挥调节作用的潜力。在Mtb感染的人巨噬细胞中观察到异常表达的lncRNA^[5-7]。如lncRNA MIAT通过miR-665诱导Mtb感染的巨噬细胞的自噬和凋亡^[8]。其中lncRNA LINC00943是最新发现的lncRNA,其被报道在肿瘤^[9]、帕金森病^[10]中发挥关键作用。然而,LINC00943在PTB中的作用尚未有研究报道,并且LINC00943调节巨噬细胞对Mtb免疫应答中的功能尚不清楚。本研究在TB患者的人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中发现LINC00943上调,并进行了进一步的体外功能测定,以确定LINC00943对巨噬细胞存活率的作用以及Mtb感染的巨噬细胞的自噬水平。此外,还通过体外功能测定评估了潜在的分子机制。提示LINC00943在Mtb感染期间宿主与细菌相互作用中的可能机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2022年1月—2023年2月活动性TB患者15例和健康志愿者15例的外周血样本。所有入选活动性TB患者均根据典型临床症状、胸部X线片、Mtb阳性培养和PCR进行诊断。纳入标准:①符合《临床诊疗指南·结核病分册》中活动性肺结核相关诊断标准,即胸部X线检查出现纤维、渗出或干酪样病变,同时可伴随钙化空洞;②

痰涂片镜检可见Mtb;③所有TB患者均为首次诊断;④既往未采取过抗结核治疗。排除标准:①合并支气管扩张、肺炎等其他呼吸系统疾病;②合并恶性肿瘤;③合并自身免疫性疾病;④伴体重或免疫力低下、艾滋病、精神疾病。健康志愿者为因胸痛经纤维支气管镜检查并排除TB,且Mtb痰涂片为阴性结果。

本研究经黑龙江省传染病防治院伦理委员会审查批准。所有参与者均知情同意并签署知情同意协议。

1.2 细胞分离和培养 使用Hypaque Ficoll(GE Healthcare Biosciences AB, Sweden)离心样品以分离PBMC。人骨髓单核细胞白血病细胞系THP-1购自美国细胞培养物收藏中心。PBMC和THP-1细胞都在含有10%胎牛血清(Hy Clone)的RPMI-1640培养基(Hy Clone, China)中培养。将PBMC和THP-1分化为单核细胞衍生巨噬细胞(monocyte derived macrophages, MDM)/THP-1衍生巨噬细胞(THP-1 Derived Macrophages, TDM)。参考Daigneault等^[11]的方法进行。使用MACS单核细胞分离试剂盒II和MACS分选柱(Miltenyi Biotec)从新鲜分离的PBMC中富集单核细胞,平均纯度为98%。为了将PBMC分化为MDM,将 2×10^6 个PBMC接种在含有2 mmol/L L-glutamine(Gibco BRL)的RPMI-1640培养基中,该培养基含有10%的人AB血清[First Link(UK) LTD],置于24孔板中。24 h后,去除非贴壁细胞,将贴壁细胞在RPMI中培养,RPMI中含有10%热处理的FBS,5% CO₂, 37 °C, 14 d时最终浓度约为 2×10^5 MDMs/mL。THP-1细胞系在补充10% FCS和2 mmol/L L-谷氨酰胺的RPMI-1640培养基中保持在 2×10^5 细胞/mL。用100 nmol/L 维生素D3(Sigma-Aldrich)分化THP-1细胞(2×10^5 /mL)。用75 nmol/L 自噬通量抑制剂Baf-A1(Med Chem Express)处理MDM或TDM 24 h。以等体积DMSO处理的细胞作为对照。

1.3 细胞感染 H37Rv菌株购自美国细胞培养物收藏中心(USA),用生理盐水(NS)和Sauton's Defined Broth(Teknova, USA)进行处理。H37Rv

用含 12% 胎牛血清 (Thermo Fisher, USA) 的 Ham's F12K 培养基孵育处理得到菌悬液。将 H37Rv 的密度调整为 1×10^7 /mL。接下来,将细胞植入 6 孔板,每孔 2×10^6 个细胞,在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 24 h。当细胞融合度达到 80% 时,用 PBS 洗涤细胞,每孔加入 H37Rv 悬液。H37Rv 与 THP-1 的比例为 10:1,继续孵育 24 h,使 H37Rv 感染巨噬细胞。24 h 后于激光共聚焦显微镜下观察 THP-1 细胞形态,发现 THP-1 巨噬细胞发生皱缩,甚至裂解。

1.4 细胞转染 LINC00943 shRNA (sh-LINC00943)、LINC00943 过表达载体 (oe-LINC00943) 以及对应的阴性对照购自于 Ribobio (China)。使用 Lipofectamine 2000 试剂盒

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 qRT-PCR primer sequences

基因	正向引物	反向引物
LINC00943	5'-ACTAGGATTGGGGTGGGGTT-3'	5'-CCTGTCCAGCATCCACACTT-3'
GAPDH	5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'	5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'

1.6 蛋白质免疫印迹法 (Western blot) 蛋白质提取以及 Western Blot 检验的相关步骤参考 Jiang 等^[8]的方法进行。一抗主要有兔抗人 LC3 I、LC3-II、GAPDH、TLR4、MyD88 (Abcam)。二抗山羊抗兔 IgG (Thermo Fisher Scientific, USA)。

1.7 细胞计数盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) 将细胞以 2×10^3 个细胞/孔的密度接种到 96 孔板中,并孵育 0 h, 24 h, 48 h, 72 h。加入 10 μ L CCK-8 溶液 (Sigma, USA), 继续培养细胞 4 h。用酶标仪在 450 nm 处检测吸光度。

1.8 透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 将细胞进行胰蛋白酶处理,并以 1×10^4 个细胞/孔的密度接种在 Nunc Lab-Tek 腔室盖玻片 (USA) 上,在 1 mL 含有 10% FBS 的培养基中培养 48 h。对于 TEM,将处理过的细胞洗涤并用 2.5% 戊二醛在 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.4) 中固定 2 h,然后在相同的缓冲液中用 1% 四氧化钨固定 2 h。在乙醇中脱水,并包埋在 Epon 812 中。切片用 4% 乙酸铀酰和柠檬酸铅染色。在电子显微镜下拍摄和观察自噬空泡^[12]。

1.9 免疫荧光 将细胞用 4% 多聚甲醛固定 20 min,并用 0.1% Triton X-100 (Sigma) 透化 10 min。然后用 5% 的正常山羊血清阻断细胞。接着,将细胞与 LC3B 抗体在室温下孵育培养过夜。然后,用 Alexa Fluor 488 标记的山羊抗兔抗体

(Thermo Fisher Scientific, USA),并根据试剂盒操作说明书将上述质粒转染到 H37Rv 感染的巨噬细胞中。自噬抑制剂 Baf-A1 和 TLR4/NF- κ B 通路抑制剂 HY-11109 购自 Sigma-Aldrich。

1.5 定量反转录聚合酶连锁反应 (quantificational rt-PCR, qRT-PCR) 使用 RNApure Total RNA Fast Extraction Kit (BioTeke Corporation) 提取细胞和组织的总 RNA,并按照试剂盒的说明使用 PromeScript RT Kit (Takara Biotechnology Ltd.) 反转录成 cDNA。使用 iQ SYBR Green Supermix kit (BIO-RAD) 在 ABI 7300 仪器 (Applied Biosystem) 上进行 qRT-PCR。以 GAPDH 作为 lncRNA 的内参,使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法测定目的基因的相对表达。qRT-PCR 引物序列见表 1。

(Abcam) 孵育 1 h。DAPI (Invitrogen) 染色细胞核。在共聚焦显微镜观察。使用 Leica LAS AF Lite 软件进行数据分析。每个细胞的 GFP-LC3 斑点数在 10 个非重叠区域进行评估。

1.10 流式细胞术 采用 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒 (ThermoFisher, USA),按照厂商说明书进行。简单地说,在结合缓冲液中悬浮后,细胞在避光条件下用 PI 和 Annexin V 染色。流式细胞仪 (BD Biosciences, USA) 用于分析染色细胞。

1.11 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计软件分析数据。计量资料比较采用 *t* 检验、单因素方差分析和 SNK-*q* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 LINC00943 在 TB 患者单核细胞中高表达 与健康对照组相比, TB 患者的单核细胞凋亡减少 ($P < 0.05$, 图 1A, 表 2) 和自噬增强 (图 1B)。qRT-PCR 结果表明,与健康对照的单核细胞相比, TB 患者单核细胞中 LINC00943 的表达显著上调 ($P < 0.05$, 表 3)。与健康对照的单核细胞相比, TB 患者单核细胞中 TLR4 和 MyD88 的表达显著上调 (图 1C)。TB 患者的单核细胞中 LINC00943 表达上调,并且 TB 患者的单核细胞凋亡明显减弱,自噬增强。

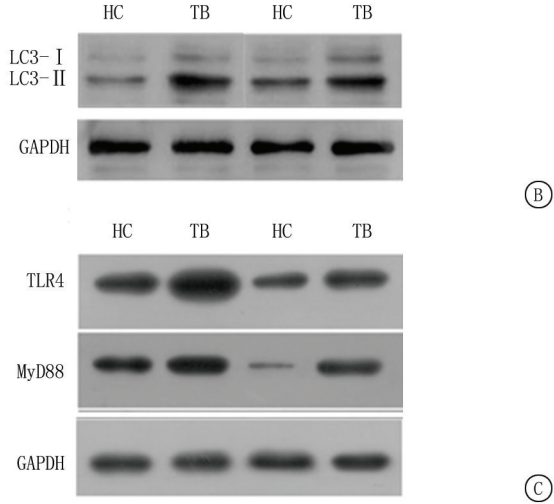
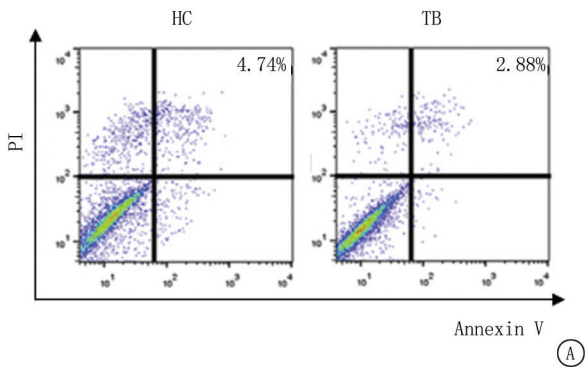


图 1 LINC00943 在 TB 患者的单核细胞中高表达
A.检测单核细胞凋亡;B.检测 LC3- I 、LC3- II 的表达;C.检测 TLR4 和 MyD88 的表达。

Figure 1 Highly expressed LINC00943 in monocytes of TB patients

表 2 各组患者单核细胞凋亡率比较

Table 2 Comparison of monocyte apoptosis rates among the patients in each group

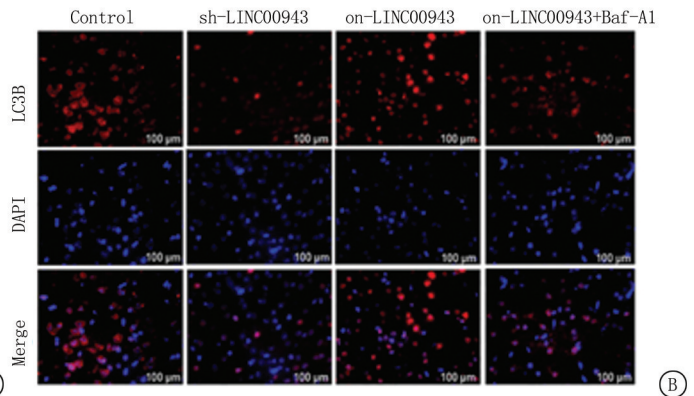
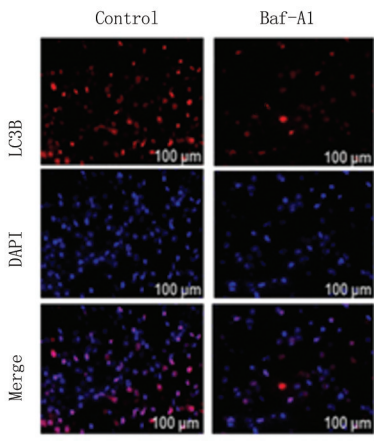
组别	单核细胞凋亡率
HC	4.74±0.37
TB	2.88±0.24
<i>t</i> 值	16.334
<i>P</i> 值	<0.001

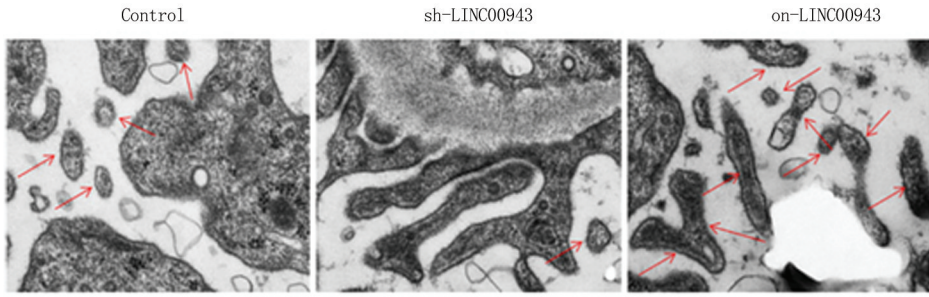
表 3 各组患者单核细胞中 LINC00943 的表达

Table 3 Expression of LINC00943 in monocytes of patients in each group

组别	LINC00943
HC	1.00±0.11
TB	5.24±0.35
<i>t</i> 值	44.760
<i>P</i> 值	<0.001

2.2 过表达 LINC00943 诱导巨噬细胞自噬 为了解 LINC00943 对巨噬细胞凋亡和自噬的影响,首先,使用自噬抑制剂 Baf-A1 验证了自噬通量的变化。结果表明,Baf-A1 显著减少了自噬点的数量(图 2A)。接着将 sh-NC/sh-LINC00943 和 oe-NC/oe-LINC00943 分别转染到 H37Rv 感染的 THP-1 细胞中,qRT-PCR 结果显示,过表达 LINC00943 提高了 THP-1 细胞中 LINC00943 的表达,而敲低 LINC00943 显著下调了 THP-1 细胞中 LINC00943 的表达($P<0.05$),见表 4。CCK-8 结果表明过表达 LINC00943 提高了 THP-1 细胞活力;而敲低 LINC00943 降低了 THP-1 细胞活力($P<0.05$),见表 5。研究了 LINC00943 在 Baf-A1 处理下的功能。结果表明,LINC00943 的下调显著减少了巨噬细胞中自噬点的数量,并抑制了巨噬细胞中的自噬体形成,这与 Baf-A1 的作用类似。而 LINC00943 的上调明显增加了巨噬细胞中自噬点的数量,并诱导了巨噬细胞中的自噬体形成,这被 Baf-A1 处理逆转(图 2B)。TEM 的观察结果进一步验证了 LINC00943 过表达或敲低的功能(图 2C)。此外,与对照组相比,下调 LINC00943 的巨噬细胞中 LC3-II/LC3-I 的比值显著降低,而过表达 LINC00943 的巨噬细胞中 LC3-II/LC3-I 的比值升高(图 2D)。过表达 LINC00943 促进了巨噬细胞的自噬。





Ⓒ

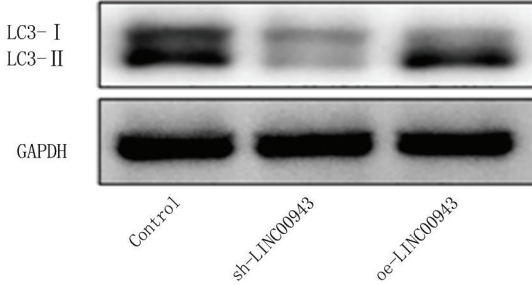


图2 过表达 LINC00943 诱导巨噬细胞自噬

A.检测 LC3B 的表达;B.检测 LINC00943 的表达;C.检测细胞活力;D.检测 LC3B 的表达

Figure 2 Overexpression LINC00943 inducing macrophage autophagy

表4 各组患者单核细胞中 LINC00943 的表达
Table 4 Expression of LINC00943 in monocytes of patients in each group

($n=3, \bar{x} \pm s$)

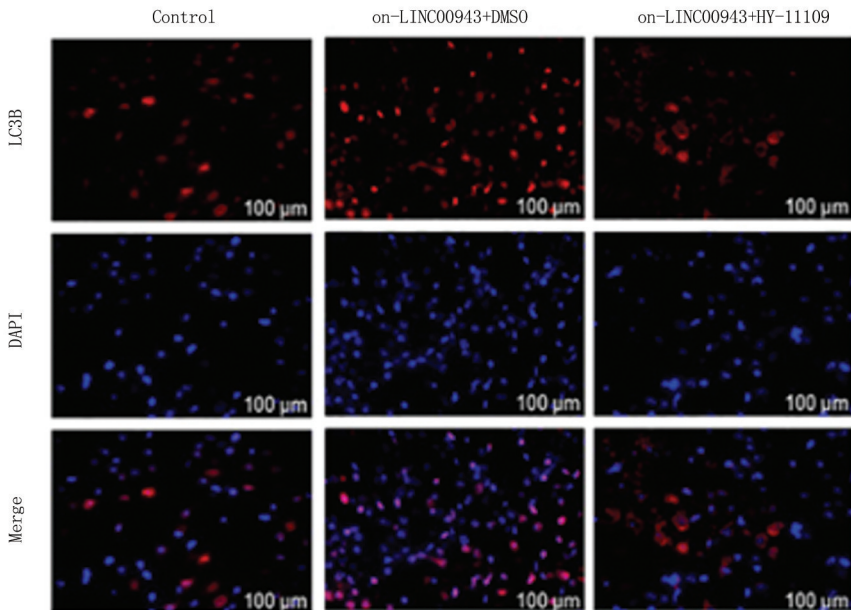
组别	Mrna 表达
sh-NC 组	1.00±0.12
sh-LINC00943 组	0.35±0.04 *
oe-NC 组	1.00±0.11
oe-LINC00943 组	2.32±0.19#
F 值	127.923
P 值	<0.001

* P 值<0.05 与 sh-NC 组比较 # P 值<0.05 与 oe-NC 组比较 (SNK-q 检验)

2.3 LINC00943 通过调节 TLR4/NF-κB 通路对

Ⓓ

Mtb 感染的巨噬细胞自噬的影响 LINC00943 可能通过调节 TLR4/NF-κB 通路影响 Mtb 感染的巨噬细胞自噬。通过免疫荧光和透射电镜检测结果表明,LINC00943 过表达显著增加了巨噬细胞自噬点的数量并诱导自噬体的形成,而进一步添加 TLR4/NF-κB 通路抑制剂 (HY-11109) 则减弱了 LINC00943 过表达对自噬点的数量和自噬体形成的促进作用(图 3A 和 B)。此外,与对照组相比,oe-LINC00943+DMSO 组的 LC3-II/LC3-I 比值显著增加,而 oe-LINC00943+HY-11109 组 LC3-II/LC3-I 比值显著降低(图 3C)。



Ⓐ

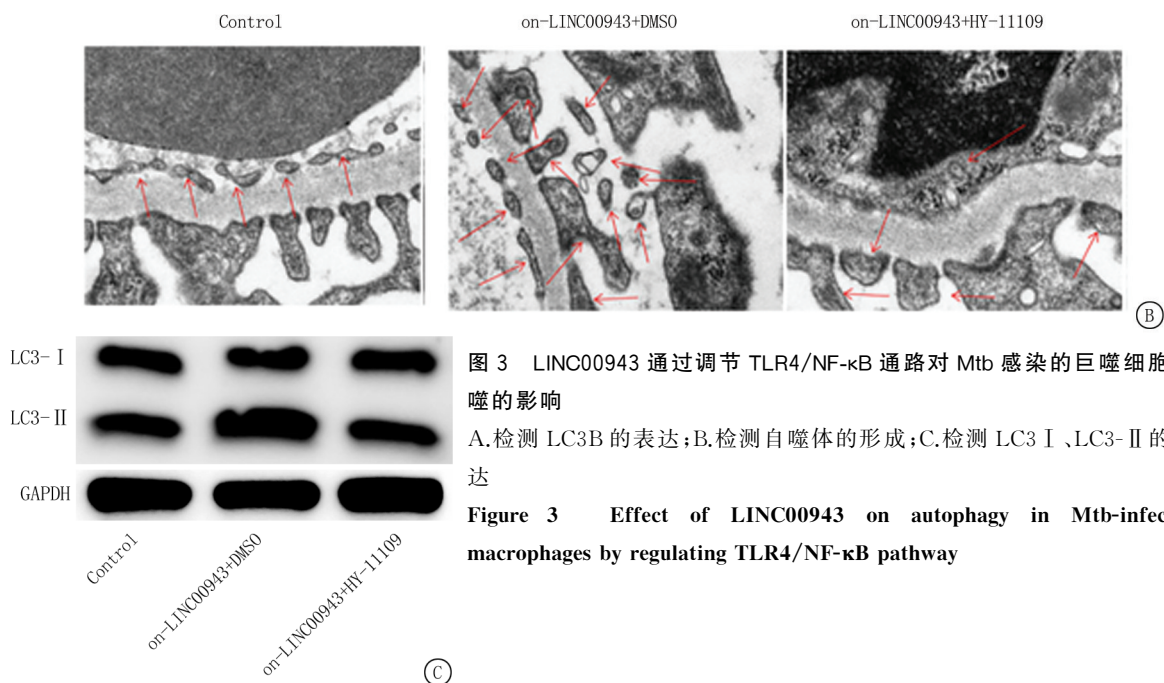


图3 LINC00943通过调节TLR4/NF- κ B通路对Mtb感染的巨噬细胞自噬的影响

A.检测LC3B的表达;B.检测自噬体的形成;C.检测LC3 I、LC3-II的表达

Figure 3 Effect of LINC00943 on autophagy in Mtb-infected macrophages by regulating TLR4/NF- κ B pathway

表5 各组 THP-1 细胞活力

Table 5 THP-1 cell viability in each group

($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
sh-NC组	0.23 \pm 0.03	0.39 \pm 0.04	0.65 \pm 0.07	0.92 \pm 0.09
sh-LINC00943组	0.21 \pm 0.03	0.31 \pm 0.03*	0.42 \pm 0.04*	0.53 \pm 0.05*
oe-NC组	0.22 \pm 0.03	0.41 \pm 0.04	0.59 \pm 0.07	0.96 \pm 0.08
oe-LINC00943组	0.24 \pm 0.03	0.55 \pm 0.06#	0.83 \pm 0.09#	1.33 \pm 0.13#
F值	0.556	15.532	17.623	37.861
P值	0.659	0.001	<0.001	<0.001

* P值<0.05与sh-NC组比较 # P值<0.05与oe-NC组比较 (SNK-q检验)

3 讨论

TB是世界上最常见的慢性传染病之一。巨噬细胞自噬在TB发病机制中对Mtb的清除起着关键作用。然而,lncRNA在调控Mtb感染的巨噬细胞自噬中的作用机制尚未完全阐明。本研究证明LINC00943/TLR4/NF- κ B轴在诱导Mtb感染巨噬细胞自噬中新作用机制。

Mtb是一种导致结核病的致病细菌^[13]。Mtb可以通过多种免疫逃逸机制逃脱巨噬细胞的清除,并长期寄生于巨噬细胞内^[14]。越来越多的证据表明,巨噬细胞自噬在结核病中发挥重要作用^[15-16]。Franco等^[17]报道,SMAD特异性E3泛素蛋白连接酶1(Smad ubiquitin regulatory factor 1, SMURF1)控制人巨噬细胞中的Mtb复制,并与肺结核患者肺部的细菌相关,表明SMURF1是Mtb选择性自噬和宿主防御结核病感染所必需的。Hu等^[18]发现,Ibrutinib通过诱导巨噬细胞自噬抑制细

胞内Mtb生长。

LncRNAs广泛参与多种生物过程,可作为多种疾病的诊断标志物和潜在治疗靶点^[19-20]。越来越多的lncRNAs被证明在TB中起着至关重要的作用。Li等^[21]研究发现,TB患者血清中GAS5表达水平降低,而在Mtb感染细胞中,GAS5表达下调可能通过海绵吸附miR-18a-5p促进细胞活力和炎症反应。Jianfang等^[22]发现在Mtb感染的PBMC中LINC00870显著增加,LINC00870过表达抑制了Mtb感染的PBMC中Th1分泌细胞因子,同时促进了Th2分泌细胞因子。本研究结果表明,LINC00943在H37Rv感染的THP-1细胞中高表达,过表达LINC00943可以诱导巨噬细胞自噬。先前研究发现LINC00943参与疾病进展,如LINC00943通过has-miR-101-3p促进胃癌细胞增殖和化疗敏感性^[9]。小檗碱通过调节SK-N-SH细胞中LINC00943/miR-142-5p/核转运蛋白亚基alpha 4(Karyopherin Subunit Alpha 4, KPNA4)/NF- κ B通路减轻MPP+诱导的神经元损伤^[10]。本研究首次揭示LINC00943在TB中的作用,提示LINC00943可能是TB治疗的潜在靶点。

TLR4/NF- κ B信号通路与疾病进展密切相关。一项研究报道,cir_0001204通过TLR4/nf- κ B信号通路抑制Mtb感染的巨噬细胞的炎症反应^[23]。Liu等^[24]报道,microRNA-502-3p通过靶向Rho相关激酶1(Rho-associated protein kinase 1, ROCK1)激活TLR4/NF- κ B信号通路调节炎症反应,促进Mtb在巨噬细胞中的存活率。本研究中,通过TLR4/

NF- κ B 信号通路抑制剂处理证实,TLR4/NF- κ B 通路处理可以逆转 LINC00943 对 Mtb 感染的巨噬细胞自噬的促进作用。总之,LINC00943/TLR4/NF- κ B 轴可以提高巨噬细胞内 Mtb 的存活率,这可能为 TB 提供一个有前途的治疗靶点。

综上所述,Mtb 感染的单核细胞中 LINC00943 的表达上调。LINC00943 通过 TLR4/NF- κ B 信号通路信号通路在巨噬细胞自噬中发挥关键作用,揭示了抗 Mtb 先天免疫的新机制。LINC00943/TLR4/NF- κ B 调控网络可能有助于开发潜在的 TB 患者治疗干预措施。

[参考文献]

[1] Pai M, Nicol MP, Boehme CC. Tuberculosis diagnostics: state of the art and future direction[J]. *Microbiol Spectr*, 2016, 4(5):1-15.

[2] Suarez I, Funger SM, Kroger S, et al. The diagnosis and treatment of tuberculosis[J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2019, 116(43):729-735.

[3] Sia JK, Georgieva M, Rengarajan J. Innate immune defenses in human tuberculosis: an overview of the interactions between mycobacterium tuberculosis and innate immune cells[J]. *J Immunol Res*, 2015, 2015:747543.

[4] Queval CJ, Brosch R, Simeone R. The macrophage: a disputed fortress in the battle against mycobacterium tuberculosis[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8:2284.

[5] He J, Ou Q, Liu C, et al. Differential expression of long non-coding RNAs in patients with tuberculosis infection [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2017, 107:73-79.

[6] Fu Y, Gao K, Tao E, et al. Aberrantly expressed long non-coding RNAs In CD8 (+) T cells response to active tuberculosis[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(12):4275-4284.

[7] Jiang TT, Wei LL, Shi LY, et al. Microarray expression profile analysis of mRNAs and long non-coding RNAs in pulmonary tuberculosis with different traditional Chinese medicine syndromes [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16(1):472.

[8] Jiang F, Lou J, Zheng XM, et al. LncRNA MIAT regulates autophagy and apoptosis of macrophage infected by Mycobacterium tuberculosis through the miR-665/ULK1 signaling axis[J]. *Mol Immunol*, 2021, 139:42-49.

[9] Xu Y, Ji T, An N, et al. LINC00943 is correlated with gastric cancer and regulates cancer cell proliferation and chemosensitivity via hsa-miR-101-3p[J]. *Int J Clin Oncol*, 2021, 26(9):1650-1660.

[10] Li X, Su Y, Li N, et al. Berberine attenuates MPP (+)-induced neuronal injury by regulating LINC00943/miR-142-5p/KPNA4/NF-kappaB pathway in SK-N-SH cells [J]. *Neurochem Res*, 2021, 46(12):3286-3300.

[11] Daigneault M, Preston JA, Marriott HM, et al. The identification of markers of macrophage differentiation in PMA-stimulated THP-1 cells and monocyte-derived macrophages[J]. *PLoS One*, 2010, 5(1):e8668.

[12] Li Q, Fang Y, Zhu P, et al. Burkholderia pseudomallei survival in lung epithelial cells benefits from miRNA-mediated suppression of ATG10 [J]. *Autophagy*, 2015, 11(8):1293-1307.

[13] Furlow B. Tuberculosis: a review and update [J]. *Radiol Technol*, 2010, 82(1):33-52.

[14] Kumar SV, Deka MK, Bagga M, et al. A systematic review of different type of tuberculosis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2010, 14(10):831-843.

[15] Strong EJ, Jurcic Smith KL, Saini NK, et al. Identification of autophagy-inhibiting factors of mycobacterium tuberculosis by high-throughput loss-of-function screening [J]. *Infect Immun*, 2020, 88(12):e00269-e00320.

[16] Moraco AH, Kornfeld H. Cell death and autophagy in tuberculosis[J]. *Semin Immunol*, 2014, 26(6):497-511.

[17] Franco LH, Nair VR, Scharn CR, et al. The ubiquitin ligase smurf1 functions in selective autophagy of mycobacterium tuberculosis and anti-tuberculous host defense[J]. *Cell Host Microbe*, 2017, 21(1):59-72.

[18] Hu Y, Wen Z, Liu S, et al. Ibrutinib suppresses intracellular mycobacterium tuberculosis growth by inducing macrophage autophagy[J]. *J Infect*, 2020, 80(6):e19-e26.

[19] Ye T, Zhang J, Zeng X, et al. LncRNA CCAT1 is overexpressed in tuberculosis patients and predicts their survival[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2022, 10(2):218-224.

[20] Zheng J, Wang X, Shi J, et al. Expression and clinical significance of lncRNA NEAT1 in patients with spinal tuberculosis[J]. *Dis Markers*, 2022, 2022:5748756.

[21] Li Y, Sun L, Liu J, et al. Down-regulation of GAS5 has diagnostic value for tuberculosis and regulates the inflammatory response in mycobacterium tuberculosis infected THP-1 cells [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2022, 132:102141.

[22] Jianfang W, Hui W, Le K. LINC00870 regulates Th1/Th2 via the JAK/STAT pathway in peripheral blood mononuclear cells infected with Mycobacterium tuberculosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 102:107188.

[23] Ma X, Wang F, Zhen L, et al. Hsa_circ_0001204 modulates inflammatory response of macrophages infected by Mycobacterium tuberculosis via TLR4/NF-kappaB signalling pathway[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2023, 50(2):132-139.

[24] Liu F, Dong Z, Lin Y, et al. MicroRNA-502-3p promotes mycobacterium tuberculosis survival in macrophages by modulating the inflammatory response by targeting ROCK1 [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(5):753.

(本文编辑:赵丽洁)