

抑制 miR-34a 减轻慢性阻塞性肺疾病急性加重期炎症反应

杜敬宇¹, 应站专¹, 侯 宾², 多 杰², 赵 振^{1*}

- 南通大学杏林学院附属惠山医院 无锡市惠山区人民医院 呼吸内科, 江苏 无锡 214187;
- 青海省人民医院 呼吸内科, 青海 西宁 810007

摘要:目的 观察慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者肺泡灌洗液中 miR-34a 及其炎症相关因子的表达水平及其相关机制。方法 分别纳入 COPD 急性加重期患者 20 例为研究对象组, 同期 COPD 稳定期患者 20 例为对照组, 采集肺泡灌洗液, 同时培养鉴定 A549 细胞, 构建 AECOPD 模型, 分别对细胞进行过表达、抑制 miR-34a 及沉默 HIF-1 α , 采集上清液及肺泡上皮细胞。ELISA 法检测肺泡灌洗液及细胞上清液中炎症因子 IL-6、IL-8、TNF- α 、TGF- β 的水平, RT-qPCR 检测 miR-34a 和 HIF-1 α 表达, Western blot 检测 HIF-1 α 表达。结果 相比于对照组, AECOPD 组炎症因子、miR-34a 及 HIF-1 α 表达水平明显升高 ($P < 0.05$), 过表达 miR-34a 可致 HIF-1 α 和炎症因子表达水平进一步升高 ($P < 0.05$), 阻断 miR-34a 可使 HIF-1 α 和炎症因子表达水平明显下降 ($P < 0.05$)。AECOPD 组 HIF-1 α 表达明显升高 ($P < 0.05$), 沉默 HIF-1 α 可明显降低炎症因子表达水平 ($P < 0.05$), 而 miR-34a 表达水平无明显变化。结论 miR-34a 在 COPD 急性加重期患者中通过调控 HIF-1 α 参与炎症反应损伤, 干扰 miR-34a/HIF-1 α 通路可减轻炎症反应程度, 为 COPD 急性加重的靶向干预提供了新的可能性。

关键词: 慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD); 炎症反应; miR-34a; 缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)

中图分类号: R363.1 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2024.12.1670

Inhibition of miR-34a reduces inflammatory response in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease

DU Jingyu¹, YING Zhanzhuan¹, HOU Bin², DUO Jie², ZHAO Zhen^{1*}

- Department of Respiratory, Affiliated Hushan Hospital of Nantong University Xingling College, Wuxi Huishan District People's Hospital, Wuxi 214187;
- Department of Respiratory, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining 810007, China

Abstract: Objective To observe the expression levels and related mechanisms of miR-34a and its inflammatory-related factors in broncho-alveolar lavage fluid of patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods** Totally 20 patients with acute exacerbation of COPD were recruited as the study group and 20 patients in stable period of COPD were recruited as control group. Bronchoalveolar lavage fluid was collected, A549 cell was cultured and AECOPD cell model was built for evaluating the effects of over-expression of miR-34a, inhibition of miR-34a, and silencing of HIF-1 α in cells. ELISA assay was applied to detect the expression

收稿日期: 2024-03-05 修回日期: 2024-07-10

基金项目: 无锡市卫生健康委资助科研项目(Q202047); 无锡市第二届“双百”中青年医疗卫生拔尖人才项目(HB2023120)

* 通信作者 (corresponding author): eting@126.com

of inflammatory factors IL-6, IL-8, TNF- α and TGF- β in bronchoalveolar lavage fluid and cell supernatant. The expression of miR-34a and HIF-1 α were measured by RT-qPCR, and Western blot was used to detect the expression of HIF-1 α . **Results** Compared with the control group, the expression of inflammatory factors, miR-34a, and HIF-1 α in the AECOPD group were significantly elevated ($P < 0.05$). Over-expression of miR-34a led to further elevation of HIF-1 α and inflammatory factor expression ($P < 0.05$). Inhibition of miR-34a resulted in a significant decrease of HIF-1 α and inflammatory factors ($P < 0.05$). The expression of HIF-1 α in the AECOPD group was significantly elevated ($P < 0.05$), and silencing HIF-1 α significantly reduced the expression of inflammatory factors ($P < 0.05$). The expression of miR-34a had no significant change. **Conclusions** miR-34a is involved in the inflammatory damage in patients with acute exacerbation of COPD by regulating HIF-1 α . Interfering with the miR-34a/HIF-1 α pathway alleviates inflammatory response, so it is a potential target in the treatment of acute exacerbation of COPD.

Key words: acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD); inflammatory response; miR-34a; hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α)

近年来慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary diseases, COPD)患病率和死亡率呈逐年上升趋势,是全球共同关注的健康问题。COPD急性加重期(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)患者肺功能明显下降,诊治不及时可发展至呼吸衰竭,死亡风险明显增加。AECOPD的发病机制极其复杂,国内外进行了大量研究仍阐述不清,目前广泛认为炎性反应是其发病基础及推动疾病进展的关键。因此,减轻炎性反应是治疗AECOPD的根本方法,深入研究细胞炎性反应的分子机制能积极有效防治疾病进展。

miRNA与哮喘、肺动脉高压、急性肺损伤、肺纤维化等肺部多种疾病的发病机制相关^[1-2],其中也发现了与COPD有关的miRNA^[3-4]。miRNAs在COPD发病机制中的研究越来越受重视,但其具体分子机制并未得到证实。miR-34a是一个多功能的miRNA,在COPD患者肺组织中高表达,其上升程度与肺功能受损程度一致,可能在COPD发病机制中发挥重要作用。研究报道miR-34a参与并调节细胞炎性反应,在炎症疾病发病中起关键作用^[5]。因此,推测miR-34a可能在AECOPD细胞炎性反应中发挥着重要的作用。本研究通过采集AECOPD患者肺泡灌洗液,建立AECOPD细胞模型,在细胞水平采用过表达和干扰技术,明确miR-34a在AECOPD细胞炎性反应中所起的重要作用,并对其机制进行进一步的深入研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象分组及纳入排除标准:分别选取20例AECOPD患者(Ⅲ级、Ⅳ级)及COPD稳定期(chronic obstructive pulmonary disease in stable period, SCOPD)患者为实验组及对照组,均为南通大学杏林学院附属惠山医院,无锡市惠山区人民医院住院或门诊患者,该实验方案得到了南通大学杏林学院附属惠山医院,无锡市惠山区人民医院呼吸内科伦理委员会批准(编号:HYLL20200715002)。纳入标准:选取纳入患者参照《慢性阻塞性肺疾病诊治指南》诊断标准。排除标准:1)近期免疫制剂治疗或患有严重免疫系统疾病者;2)合并如气胸、间质性肺病等严重限制性通气功能障碍疾病者;3)支气管镜检查禁忌症患者,如合并严重肾、肝、心脑血管、造血系统及精神疾病不能配合支气管镜检查患者;4)患有严重肺部疾病者,如过敏性肺炎、肺结核、肺癌等;5)合并恶性肿瘤者。AECOPD组根据肺功能指标确定并选取Ⅲ级(重度)及Ⅳ级(极重度)患者。

1.1.2 细胞及试剂:A549肺癌细胞系,无血清F12K培养基,miR-34a mimic和miR-34a inhibitor(AB公司);Trizol试剂盒(Invitrogen公司);携带特异miR-34a、HIF-1 α -siRNA的质粒(武汉华联科生物技术有限公司);4%多聚甲醛(中科迈晨科技有限公司),TaqMan MicroRNA Assay试剂盒(ABI公司)。

1.2 方法

1.2.1 收集支气管肺泡灌洗液:所有患者均签署知情同意书,按照《支气管肺泡灌洗细胞学检测技术规范》进行规范支气管镜操作并收集肺泡灌洗液标本(约20~30 mL),离心后收集脱落肺泡上皮细胞,将收集到的肺泡上皮细胞分装冻存待检。

1.2.2 A549细胞的培养、鉴定及AECOPD模型构建:培养A549细胞,按比例1:3传代,对数增殖期细胞收集进行实验,完全培养基调整细胞悬液浓度,每孔2 mL装入6孔板中,每孔 5×10^5 个细胞,培养箱中培养24 h(5% CO₂、37 °C)。对照组及AECOPD组换为无血清F12 K培养基,然后依次加入5%的香烟提取物(cigarette smoke extract, CSE)和75 pg/mL的脂多糖(LPS),置于37 °C、5% CO₂培养箱中继续培养48 h,构建AECOPD细胞模型,收集细胞进行后续检测。

1.2.3 转染AECOPD细胞:质粒已通过酶切及测序验证正确,将对数增殖期的A549细胞按相同细胞数接种于96孔培养板中,准备细胞使转染细胞汇合度为70%,在37 °C、5% CO₂孵箱中培养24 h后,使用Lipofectamine® RNAiMAX,将miR-34a mimic、miR-34a inhibitor与HIF-1 α -siRNA按照分组分别转染A549细胞,实验重复3次,用Western blot、RT-qPCR及荧光染色法检测分析转染效率,取出细胞进行后续检测,操作严格按照说明书流程进行。

miR-34a mimic、miR-34a inhibitor、HIF-1 α -siRNA各自基因序列如下(表1)。

表1 miR-34a mimic、miR-34a inhibitor和HIF-1 α -siRNA序列

gene	sequence
miR-34a mimic	sense:5'-UGGCAGUGUCUUAGCUGUUGU-3' anti-sense:5'-AACCAGCUAAGACACUGCCAUU-3'
miR-34a inhibitor	5'-ACAACCAGCUAAGACACUGCCA-3'
HIF-1 α -siRNA1	5'-CCAUGUGACCAUGAGGAAATT-3'
HIF-1 α -siRNA2	5'-GCUCACCAUCAGUUUACUUUATT-3'
HIF-1 α -siRNA3	5'-GCCAGCAAGUCCUUCUGAUTT-3'

1.2.4 ELISA法检测炎症因子IL-6、IL-8、TNF- α 、TGF- β 水平:检测各组肺泡灌洗液及上清液中炎症

因子IL-6、IL-8、TNF- α 、TGF- β 水平,按ELISA试剂盒说明书操作。

1.2.5 RT-qPCR法检测miR-34a表达:检测各组肺泡上皮细胞的miR-34a表达。按照TRizol试剂盒说明书,提取各组肺泡上皮细胞总RNA,测定总RNA浓度和纯度,然后按照TaqManR MicroRNA RT kit和普通反转录试剂盒的要求分别进行miRNA和mRNA的反转录并获得相应的cDNA,以合成的cDNA为模板。严格按照TaqMan MicroRNA Assay试剂盒说明扩增miR-34a,以管家基因 β -actin作为内参,ABI 7500荧光定量PCR仪上扩增后目的基因按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行相对定量,每组样品重复试验3次,取平均值进行分析,引物由上海生工公司Primer Premier 5.0软件设计、合成(引物序列如表2)。

表2 引物序列
Table 2 The primer sequence

primer	sequence(5' to 3')
miR-34a-F	GGGTGGCAGTGTCTTAG
miR-34a-R	CTGGTCTCGTGGAGTCCG
U6-RT-F	CTCGCTTCGGCAGCACA
U6-RT-R	AACGCTTCACGAATTTGCGT
β -actin RT-F	AGCGAGCATCCCCAAAAGTT
β -actin RT-R	GGGCAGAAAGGCTCATCATT
HIF-1 α -F	GAAGTGTACCCTAACTAGCCG
HIF-1 α -R	TCACAAATCAGCACCAAGC

1.2.6 RT-qPCR及Western blot检测HIF-1 α 表达:加入RIPA强裂解液匀浆裂解细胞,离心取上清液,BCA法蛋白质定量后以每孔10~20 μ g总蛋白上样,跑胶分离转膜,室温孵育,TBST洗膜后加入适当浓度比例的HIF-1 α 一抗4 °C孵育12 h以上,TBST进行洗膜,继续二抗37 °C孵育2 h,ECL法显色,用凝胶成像仪照相保存,Image J软件分析吸光度值。

1.3 统计学分析

数据用均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用SPSS 19.0统计软件进行数据分析,采用单因素方差分析进行多组间比较,采用 t 检验或LSD检验进行两两比较。

2 结果

2.1 AECOPD肺泡灌洗液中炎症因子水平

与SCOPD患者相比,AECOPD患者肺泡灌洗液

中炎症因子 IL-6、IL-8、TNF- α 、TGF- β 水平均明显增加 ($P < 0.05$) (表 3)。

2.2 肺泡灌洗脱落肺泡上皮细胞 miR-34a 表达

AECOPD 患者肺泡灌洗脱落肺泡上皮细胞 miR-34a 表达为 17.47 ± 2.78 , 明显高于 SCOPD 患者的 1.93 ± 0.55 ($P < 0.05$)。

2.3 肺泡灌洗脱落肺泡上皮细胞 HIF-1 α 蛋白及 mRNA 表达

AECOPD 患者肺泡灌洗脱落肺泡上皮细胞 HIF-1 α 表达明显高于 SCOPD 患者, 其中蛋白质及 mRNA 表达水平趋势一致 ($P < 0.05$) (图 1)。

2.4 miR-34a mimic、miR-34a inhibitor、HIF-1 α -siRNA 在细胞中的转染效率评价

相比于对照组, miR-34a mimic 转染细胞后, miR-34a 的基因表达量显著升高 ($P < 0.001$); 与 NC 组比较, miR-34a inhibitor 转染细胞后 miR-34a 的基因表达量显著下降; 与对照组相比, HIF-1 α -siRNA 转染细胞后 HIF-1 α 蛋白表达量显著下降 (图 2A~C)。

2.5 干扰 miR-34a 对培养 AECOPD 细胞上清液中炎症因子水平的影响

与对照组相比, AECOPD 培养细胞上清液中炎症因子 IL-6、IL-8、TNF- α 、TGF- β 的水平均明显

增加 ($P < 0.05$), 过表达 miR-34a 后炎症因子水平较对照组及 AECOPD 组进一步升高, 而阻断 miR-34a 后炎症因子水平较 AECOPD 组明显下降 (表 4)。

2.6 干扰 miR-34a 对培养 AECOPD 肺泡上皮细胞 HIF-1 α 表达的影响

与对照组相比, AECOPD 培养细胞上清液中 HIF-1 α 及 miR-34a 的表达均明显增加 (均 $P < 0.05$), 过表达 miR-34a 后 HIF-1 α 表达较对照组及 AECOPD 组进一步升高, 而阻断 miR-34a 后 HIF-1 α 表达较 AECOPD 组明显下降 (图 3)。

2.7 沉默 HIF-1 α 对培养 AECOPD 细胞上清液中炎症因子水平的影响

与对照组相比, AECOPD 细胞上清液中炎症因子 IL-6、IL-8、TNF- α 、TGF- β 的水平均明显增加 ($P < 0.05$)。沉默 HIF-1 α 后炎症因子水平较 AECOPD 组明显下降 (表 5)。

2.8 沉默 HIF-1 α 对培养 AECOPD 肺泡上皮细胞中 miR-34a 表达的影响

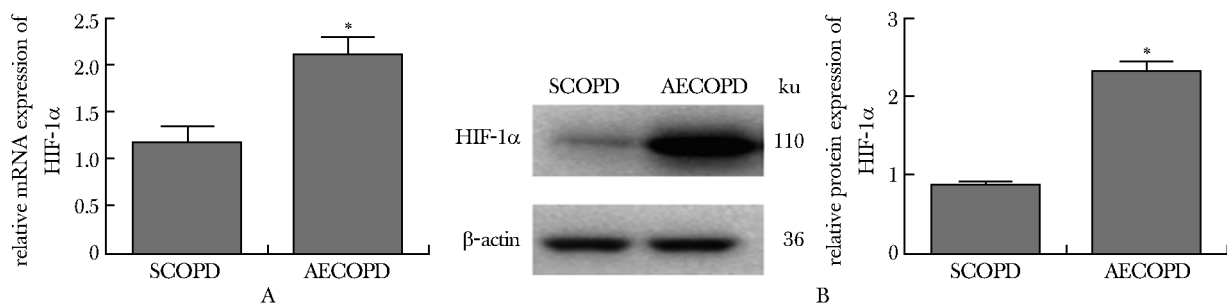
与对照组相比, 培养 AECOPD 肺泡上皮细胞中 HIF-1 α 及 miR-34a 的表达均增高 ($P < 0.05$), 沉默 HIF-1 α 后 miR-34a 表达较对照组及 AECOPD 组无明显变化 (图 4)。

表 3 肺泡灌洗液中 IL-8、IL-6、TGF- β 和 TNF- α 的水平

Table 3 Levels of IL-8, IL-6, TGF- β and TNF- α in alveolar lavage fluid ($\bar{x} \pm s$, pg/mL, $n = 20$)

group	IL-8	IL-6	TGF- β	TNF- α
SCOPD	361 \pm 107	3.33 \pm 2.56	50.22 \pm 20.99	10.50 \pm 4.53
AECOPD	466 \pm 44*	6.04 \pm 2.65*	86.37 \pm 11.39*	16.79 \pm 3.50*

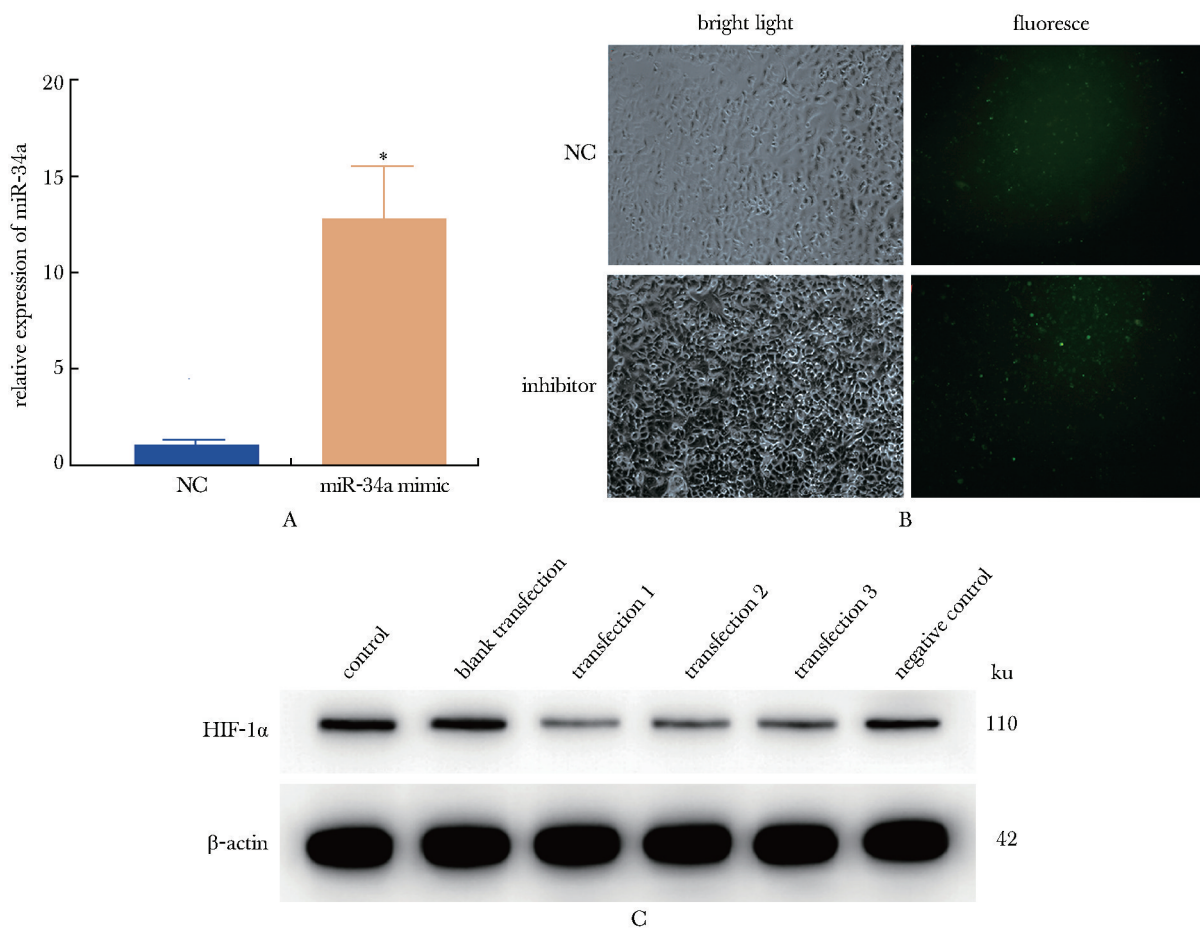
* $P < 0.05$ compared with SCOPD group.



A. HIF-1 α mRNA expressions; B. HIF-1 α protein expressions; * $P < 0.05$ compared with SCOPD group.

图 1 灌洗脱落肺泡上皮细胞 HIF-1 α 蛋白及 mRNA 表达

Fig 1 Expressions of HIF-1 α in exfoliated alveolar epithelial cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)



A. RT-qPCR detection of miR-34a mimic transfection efficiency; * $P < 0.001$ compared with NC group; B. fluorescence detection of miR-34a inhibitor transfection efficiency in cells; C. Western blot analysis of HIF-1 α -siRNA transfection efficiency in cells; NC. negative control.

图2 miR-34a mimic、miR-34a inhibitor、HIF-1 α -siRNA 在细胞中的转染效率评价

Fig 2 Evaluation of transfection efficiency of miR-34a mimic, miR-34a inhibitor, and HIF-1 α -siRNA in cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$) ($\times 200$)

表4 细胞培养上清液中 IL-8、IL-6、TGF- β 和 TNF- α 的水平

Table 4 Levels of IL-8、IL-6、TGF- β and TNF- α in culture cell supernatant ($\bar{x} \pm s$, pg/mL, $n = 20$)

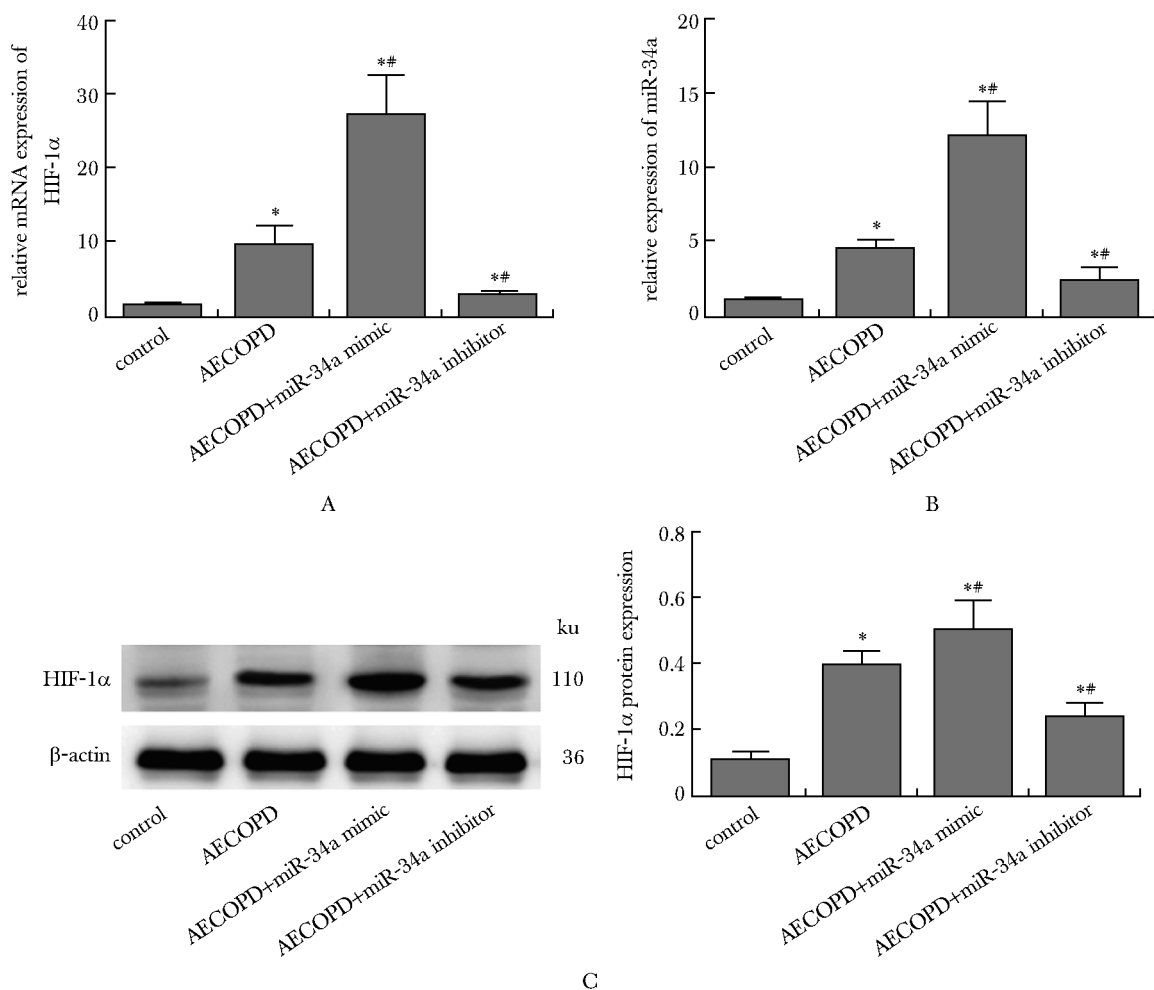
group	IL-8	IL-6	TGF- β	TNF- α
control	121 \pm 26	47 \pm 6	274 \pm 55	108 \pm 15
AECOPD	392 \pm 53*	139 \pm 19*	762 \pm 172*	387 \pm 55
AECOPD+miR-34a mimic	431 \pm 48*	185 \pm 18*	873 \pm 200*	495 \pm 80
AECOPD+miR-34a inhibitor	242 \pm 19**	93 \pm 10**	464 \pm 86**	228 \pm 65**

* $P < 0.05$ compared with control; ** $P < 0.05$ compared with AECOPD.

3 讨论

AECOPD 患者炎症反应增强, 炎性细胞在肺组织及气道浸润, 激活释放多种炎性介质致肺组织反复破坏, 加剧气道重塑及肺功能降低, 死亡风险增加^[6]。

IL-6、IL-8、TNF- α 、TGF- β 是 AECOPD 促炎反应的关键因子, 其水平可作为评价 AECOPD 严重程度的指标。本研究显示 AECOPD 组患者肺泡灌洗液及细胞上清液中炎性因子 IL-8、IL-6、TGF- β 、TNF- α 水平显著升高, 说明 AECOPD 炎症反应明显增强。



A, B. RT-qPCR assay of the expression of HIF-1 α (A) and miR-34a (B); C. Western blot assay of HIF-1 α protein expressions; * P <0.05 compared with control; # P <0.05 compared with AECOPD.

图3 肺泡上皮细胞 HIF-1 α 表达

Fig 3 Expressions of HIF-1 α in alveolar epithelial cells ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

表5 细胞培养上清液中 IL-8、IL-6、TGF- β 和 TNF- α 的水平

Table 5 Levels of IL-8, IL-6, TGF- β and TNF- α in culture cell supernatant ($\bar{x}\pm s$, pg/mL, $n=20$)

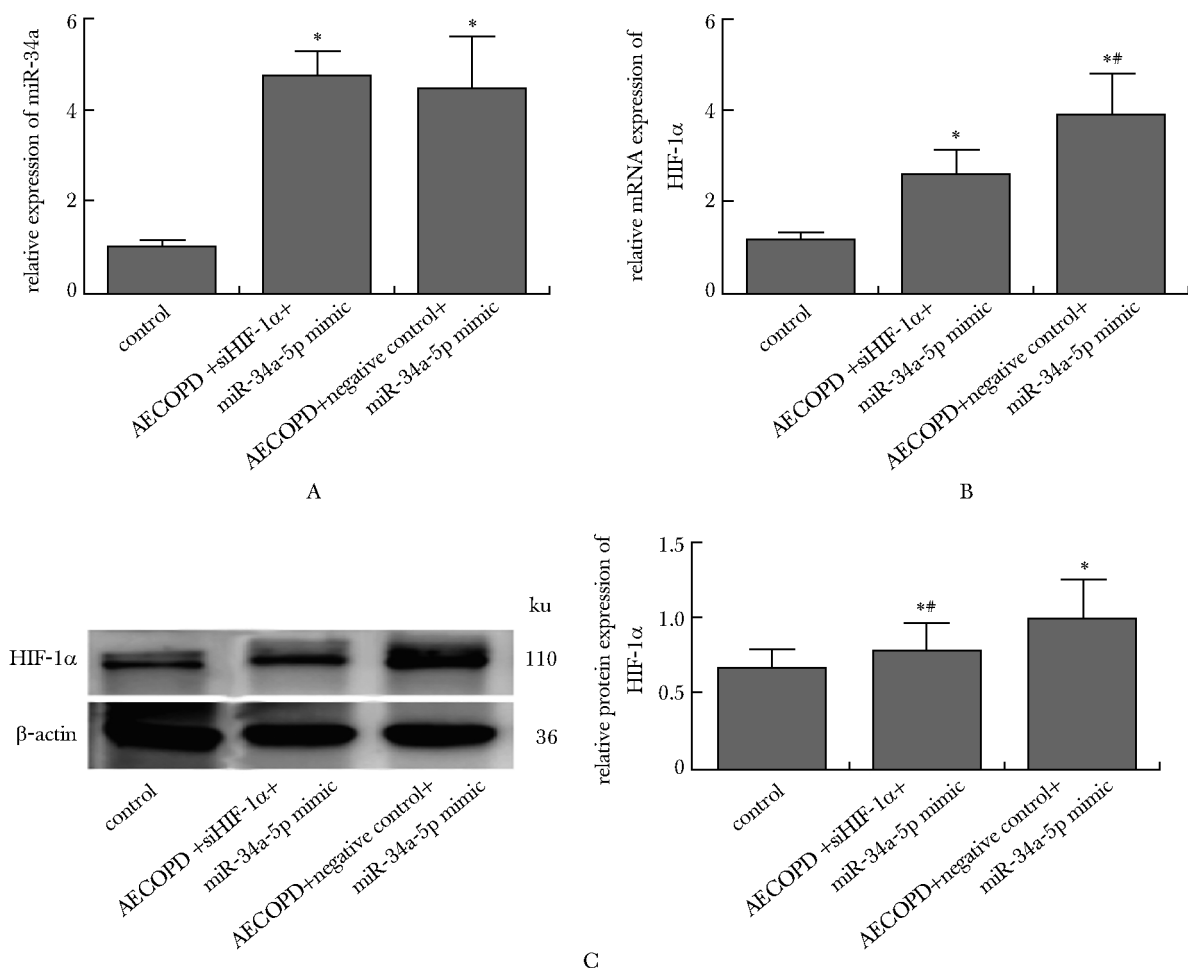
group	IL-8	IL-6	TGF- β	TNF- α
control	110 \pm 24	53 \pm 11	250 \pm 55	100 \pm 16
AECOPD+negative control+miR-34a mimic	520 \pm 100*	203 \pm 29*	1 023 \pm 381*	498 \pm 100*
AECOPD+siHIF-1 α +miR-34a mimic	338 \pm 60**	135 \pm 35**	710 \pm 25**	351 \pm 65#

* P <0.05 compared with control; # P <0.05 compared with AECOPD+negative control+miR34a mimic.

miRNAs 在 COPD 发病机制中的作用越来越受到重视,可能涉及炎症反应、细胞增殖凋亡、肺血管重塑等^[7-8]。miR-34a 近年来备受关注,其参与了肿瘤、炎症疾病、代谢性疾病等的发生发展^[9-11]。有研究发现 COPD 患者肺组织中 miR-34a 表达增加,且上升程度与肺功能受损程度一致。本研究也显示

AECOPD 组肺泡上皮细胞中 miR-34a 表达明显升高。

炎症反应是众多疾病发病的核心机制,尤其在 AECOPD 患者中。相关报道认为 miR-34a 参与并调节机体细胞炎症反应^[12]。miR-34a 介导 FOXP3 表达致炎症因子水平升高在哮喘发作中起重要作用,



A, B. RT-qPCR assay of the expression of miR-34a (A) and HIF-1α (B); C. Western blot assay of HIF-1α expressions; * $P < 0.05$ compared with control; ** $P < 0.05$ compared with AECOPD + negative control + miR-34a-5p mimic.

图4 肺泡上皮细胞中 miR-34a 表达

Fig 4 Expressions of miR-34a in alveolar epithelial cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

miR-34a 调控 Klf4 和巨噬细胞极化调控 LPS 诱导的肺损伤和炎症反应^[13], miR-34a 参与 HIV-1 tat 介导的小胶质细胞炎症反应。本研究发现给予 miR-34a 诱导剂后,肺泡上皮细胞炎症损伤进一步加重,给予抑制剂后,炎症损伤明显减轻,说明 miR-34a 致细胞炎症损伤是 AECOPD 的重要发病机制。

HIF-1α 是炎症反应中关键调节因子,在 COPD 患者中表达增加,致炎症因子上调,与疾病严重程度有关^[14-15]。HIF-1α 的表达受 miRNA 的调控,miR-34a 调控 HIF-1α 参与糖尿病大鼠心脏血管生成^[16],miR-34a 调节 HIF-1α 影响肝细胞再生。本研究显示 AECOPD 患者 HIF-1α 表达升高,干扰

HIF-1α 表达后炎症因子水平下降,给予 miR-34a 诱导剂后,HIF-1α 表达升高,炎症损伤进一步加重,给予 miR-34a 抑制剂后,HIF-1α 表达下降,炎症损伤明显减轻,而干扰 HIF-1α 后 miR-34a 表达无变化,均提示 HIF-1α 可能是 miR-34a 的下游靶基因。

综上所述,miR-34a 通过诱导 HIF-1α 促进炎症介质表达是 AECOPD 炎症反应损伤的关键因素,干扰 miR-34a/HIF-1α 通路可减轻 AECOPD 炎症损伤,为靶向干预和防治 AECOPD 提供理论基础及新的靶点。但由于本研究阻断 miR-34a/HIF-1α 的效果研究只是在细胞水平进行,病例数也不够多,不能完全代表体内的表达情况,需进一步验证。

参考文献:

- [1] Sharma R, Tiwari A, McGeachie MJ. Recent miRNA research in asthma [J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2022, 22:231-258.
- [2] Jiao Y, Zhang T, Zhang C, *et al.* Exosomal miR-30d-5p of neutrophils induces M1 macrophage polarization and primes macrophage pyroptosis in sepsis-related acute lung injury[J]. *Crit Care*, 2021, 25:356-371.
- [3] Zhu M, Ye M, Wang J, *et al.* Construction of potential miRNA-mRNA regulatory network in COPD plasma by bioinformatics analysis[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2020, 15:2135-2145.
- [4] Wu H, Ma H, Wang L, *et al.* Regulation of lung epithelial cell senescence in smoking-induced COPD/emphysema by microR-125a-5p via Sp1 mediation of SIRT1/HIF-1 α [J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18:661-674.
- [5] Chen S, Ding R, Hu Z, *et al.* MicroRNA-34a inhibition alleviates lung injury in cecal ligation and puncture induced septic mice [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1829-1843.
- [6] Ritchie AI, Wedzicha JA. Definition, causes, pathogenesis, and consequences of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations [J]. *Clin Chest Med*, 2020, 41: 421-438.
- [7] Najrana T, Mahadeo A, Abu-Eid R, *et al.* Mechanical stretch regulates the expression of specific miRNA in extracellular vesicles released from lung epithelial cells[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235:8210-8223.
- [8] Goel K, Egersdorf N, Gill A, *et al.* Characterization of pulmonary vascular remodeling and MicroRNA-126-targets in COPD-pulmonary hypertension[J]. *Respir Res*, 2022, 23:349-359.
- [9] Xie L, Wang Y, Li Q, *et al.* The HIF-1 α /p53/miRNA-34a/Klotho axis in retinal pigment epithelial cells promotes subretinal fibrosis and exacerbates choroidal neovascularization[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25:1700-1711.
- [10] Rezk NA, Lashin MB, Sabbah NA. MiRNA 34-a regulate SIRT-1 and Foxo-1 expression in endometriosis[J]. *Non-coding RNA Res*, 2021, 6:35-41.
- [11] Maeda H, Yao H, Go H, *et al.* Involvement of miRNA-34a regulated Kruppel-like factor 4 expression in hyperoxia-induced senescence in lung epithelial cells[J]. *Respir Res*, 2022, 23:340-354.
- [12] 张风云, 赵志浩, 张卓琦. miR-34a 对高糖状态下小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 极化及炎症因子分泌的影响 [J]. *基础医学与临床*, 2023, 43:1808-1813.
- [13] Khan MJ, Singh P, Dohare R, *et al.* Inhibition of miRNA-34a promotes M2 macrophage polarization and Improves LPS-Induced lung injury by targeting Klf4[J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11:966. doi: 10.3390/genes11090966.
- [14] Fu Y, Zhao J, Chen J, *et al.* miR-186-5p regulates the inflammatory response of chronic obstructive pulmonary disorder by targeting HIF1 α [J]. *Mol Med Rep*, 2024, 29:34. doi: 10.3892/mmr.2024.13158.
- [15] Chen LJ, Xu W, Li YP, *et al.* Lycium barbarum polysaccharide inhibited hypoxia-inducible factor 1 in COPD patients[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2020, 15: 1997-2004.
- [16] Sarlak Z, Eidi A, Ghorbanzadeh V, *et al.* miR-34a/SIRT1/HIF-1 α axis is involved in cardiac angiogenesis of type 2 diabetic rats: the protective effect of sodium butyrate combined with treadmill exercise[J]. *Biofactors*, 2023, 49:1085-1098.