

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20218421

· 论 著 ·

## miR-216a-5p 在 HMGB1 介导的表皮葡萄球菌感染致腹膜透析相关腹膜炎中的作用

贾 磊<sup>1</sup>, 刘 冰<sup>2</sup>, 李卫光<sup>1</sup>

(1. 山东第一医科大学附属省立医院医院感染管理办公室, 山东 济南 250021; 2. 山东大学附属省立医院肾内科, 山东 济南 250021)

**[摘要]** **目的** 探讨 miR-216a-5p 在高迁移率蛋白 B1(HMGB1)介导的表皮葡萄球菌感染致小鼠腹膜透析相关腹膜炎(PDAP)中的作用及机制。**方法** 选取健康雄性 C57BL/6J 小鼠,随机分为对照组、感染组、感染 + HMGB1 抑制剂组,收集腹腔积液及腹膜组织分别进行白细胞计数、HE 和免疫组织染色; Real-time PCR 和 Western Blot 检测白细胞介素-1 $\alpha$ (IL-1 $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、HMGB1、核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)和核转录因子抑制蛋白(I- $\kappa$ B)的 mRNA 和蛋白表达水平;生信预测发现,miR-216a-5p 可能与 HMGB1 结合,参与其诱导的 PDAP 的发生,并构建感染 + miR-216a-5p mimics 组小鼠,通过双荧光素酶报告基因检测验证 miR-216a-5p 和 HMGB1 的关系,采用 Real-time PCR、Western Blot、免疫组织染色检测 HMGB1 的表达变化。**结果** 与对照组相比,感染组小鼠腹腔积液白细胞计数增多,炎性浸润明显,IL-1 $\alpha$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ ,以及 HMGB1 mRNA 和蛋白表达均升高(均  $P < 0.05$ );HMGB1 抑制剂(甘草素)干预后,小鼠腹腔积液白细胞计数下降,炎性浸润改善,IL-1 $\alpha$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ ,以及 HMGB1 mRNA 和蛋白表达均下降(均  $P < 0.05$ )。感染组小鼠 NF- $\kappa$ B 表达高于对照组,I- $\kappa$ B 表达低于对照组;HMGB1 抑制剂干预后 NF- $\kappa$ B 表达降低,I- $\kappa$ B 表达升高(均  $P < 0.05$ )。Real-time PCR 结果证实,与对照组相比,miR-216a-5p 的含量在感染组中显著减少;双荧光素酶报告基因检测提示,miR-216a-5p 可直接作用于 HMGB1 的 3'UTR 区;与感染组相比,感染 + miR-216a-5p mimics 组小鼠中 HMGB1 mRNA 和蛋白表达均下降(均  $P < 0.05$ )。**结论** HMGB1 在表皮葡萄球菌感染致小鼠 PDAP 中发挥重要作用,抑制 HMGB1 可改善小鼠炎症反应,miR-216a-5p 可通过靶向 HMGB1 参与表皮葡萄球菌感染致 PDAP 的发生。

**[关键词]** HMGB1; miR-216a-5p; 表皮葡萄球菌; 腹膜透析相关腹膜炎**[中图分类号]** R378.1 R446.5

## The role of miR-216a-5p in HMGB1-mediated peritoneal dialysis-associated peritonitis induced by *Staphylococcus epidermidis* infection

JIA Lei<sup>1</sup>, LIU Bing<sup>2</sup>, LI Wei-guang<sup>1</sup> (1. Department of Healthcare-associated Infection Management, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan 250021, China; 2. Department of Nephrology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the role and mechanism of miR-216a-5p in high mobility group protein-B1 (HMGB1)-mediated peritoneal dialysis-associated peritonitis (PDAP) induced by *Staphylococcus epidermidis* infection in mice. **Methods** Healthy male C57BL/6J mice were selected and randomly divided into control group, infection group, and infection + HMGB1 inhibitor group, peritoneal effusion and peritoneal tissue was collected for detection of white blood cell (WBC) count, HE and immunohistochemical staining; mRNA and protein expression levels of interleukin-1 $\alpha$ (IL-1 $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factors- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), HMGB1, NF- $\kappa$ B, and I- $\kappa$ B were

[收稿日期] 2021-05-20

[作者简介] 贾磊(1964-),女(汉族),山东省济南市人,副主任护师,主要从事医院感染管理研究。

[通信作者] 李卫光 E-mail: emlwg@sina.com

detected by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western Blot; bioinformatics prediction found that miR-216a-5p may bind with HMGB1 and participate in the occurrence of HMGB1-mediated PDAP, and construct infection + miR-216a-5p mimics mice group, relationship between miR-216a-5p and HMGB1 was verified by double luciferase reporter gene assay, changes in expression of HMGB1 were detected by RT-PCR, Western blot and immunohistochemical staining. **Results** Compared with control group, WBC count of peritoneal effusion in mice in infection group increased, inflammatory infiltration was obvious, expression of mRNA and protein of IL-1 $\alpha$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and HMGB1 all increased (all  $P < 0.05$ ); after intervention by HMGB1 inhibitor (glycyrrhizin), WBC count of mice peritoneal effusion decreased, inflammatory infiltration improved, expression of mRNA and protein of IL-1 $\alpha$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and HMGB1 all decreased (all  $P < 0.05$ ). The expression of NF- $\kappa$ B in mice in infection group was higher than that in control group, I- $\kappa$ Bi was lower than that in control group; after HMGB1 inhibitor intervention, NF- $\kappa$ B expression decreased, I- $\kappa$ B expression increased (both  $P < 0.05$ ). RT-PCR results confirmed that the content of miR-216a-5p decreased significantly in infection group compared with control group; dual-luciferase reporter gene assay suggested that miR-216a-5p could directly act on the 3' UTR region of HMGB1; compared with infection group, the expression of mRNA and protein of HMGB1 decreased in mice in infection + miR-216a-5p mimics group (both  $P < 0.05$ ). **Conclusion** HMGB1 plays an important role in PDAP induced by *Staphylococcus epidermidis* infection, inhibiting HMGB1 can improve the inflammatory response in mice, miR-216a-5p can participate in the occurrence of PDAP induced by *Staphylococcus epidermidis* infection through targeting HMGB1.

**[Key words]** HMGB1; miR-216a-5p; *Staphylococcus epidermidis*; peritoneal dialysis-associated peritonitis

全世界每年有超过 10 万终末期肾病患者接受腹膜透析治疗,约占透析总人数的 10%~15%<sup>[1]</sup>。我国腹膜透析患者每年呈 15% 以上的速度增长,新增患者近 8 000 人/年<sup>[2]</sup>。腹膜透析并发症中以腹膜透析相关腹膜炎(peritoneal dialysis-associated peritonitis, PDAP)最为常见,而表皮葡萄球菌感染是导致 PDAP 的主要原因之一。高迁移率蛋白 B1 (high mobility group protein-B1, HMGB1) 是一种高度保守的核蛋白,也是一种晚期重要炎症介质。研究<sup>[3]</sup>表明, HMGB1 抑制剂(甘草素)治疗可显著降低脂多糖大鼠的死亡率,而 PDAP 患者腹膜透析液中 HMGB1 表达升高<sup>[4]</sup>,提示 HMGB1 可能在 PDAP 发生及发展中起着一定的作用。MicroRNA 是一类由内源基因编码的长度约为 22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子,参与转录后基因表达调控,已经成为许多疾病的治疗靶点<sup>[5]</sup>。大量研究<sup>[6-7]</sup>提示, miR-216a-5p 在非小细胞肺癌、哮喘等疾病中发挥关键作用,并与炎症反应关系密切。前期我们通过生信预测发现 miR-216a-5p 与 HMGB1 存在相互结合,但目前 miR-216a-5p 是否通过调控 HMGB1 参与表皮葡萄球菌感染致 PDAP 发生发展,尚缺乏研究。本研究建立表皮葡萄球菌感染致 PDAP 的小鼠模型,并使用甘草素和 miR-216a-5p mimics 进行干预,探究抑制 HMGB1 对表皮葡萄球菌感染致 PDAP 的作用及机制。

## 1 材料与方法

1.1 试验材料 60 只健康雄性 C57BL/6J 小鼠,购自山东大学实验动物中心;白细胞介素-1 $\alpha$ (IL-1 $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、HMGB1、核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)、核转录因子抑制蛋白(I- $\kappa$ B)抗体,购自中国 Proteintech 公司;引物、miR-216a-5p mimics、阴性对照 miR-216a-5p NC 及双荧光素酶 HMGB1 野生和突变载体,购自中国 GenePharma 公司;Lipofectamine 3000 转染试剂、RT-PCR 反转录试剂盒,购自美国 invitrogen 公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 建模及分组 成年雄性 C57BL/6J 小鼠随机分组。对照组:腹腔注射生理盐水 200  $\mu$ L。感染组:腹腔注射表皮葡萄球菌溶液 10<sup>7</sup> CFU/mL(用 3.86% 透析液稀释 10<sup>8</sup>/mL 的表皮葡萄球菌菌株)<sup>[8]</sup>,建立表皮葡萄球菌感染致 PDAP 小鼠模型后注射生理盐水 200  $\mu$ L。感染 + HMGB1 抑制剂组:腹腔注射表皮葡萄球菌溶液 10<sup>7</sup> CFU/mL + 腹腔注射甘草素(15 mg/kg,溶于 200  $\mu$ L 生理盐水)。感染 + miR-216a-5p mimics 组:腹腔注射表皮葡萄球菌溶液 10<sup>7</sup> CFU/mL + 尾部静脉注射 miR-216a-5p mimics(3 mg/kg,溶于 200  $\mu$ L 生理盐水),每组 15 只。

1.2.2 腹腔积液白细胞计数、标本采集 药物干预 48 h 后麻醉小鼠,腹腔内注射 1 mL 腹膜透析液,2 h 后切开小鼠腹部,留取腹膜透析液,使用血细胞计数板对腹腔积液白细胞进行计数。取腹膜组织,部分 4% 多聚甲醛固定,部分液氮保存。

1.2.3 免疫组化染色 冰冻切片 65℃ 烤片,二甲苯脱蜡,乙醇水化;0.01 mol/L 的枸橼酸钠进行抗原修复,静置冷却到室温,过氧化氢酶溶液孵育 10 min, PBS 清洗,山羊血清封闭 30 min,滴加一抗 4℃ 孵育过夜。次日切片恢复室温, PBS 清洗,加生物素标记的二抗室温孵育 1 h,滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液室温孵育 30 min, DAB 试剂显色,流水冲洗终止显色,脱水风干后,中性树胶封片,显微镜观察拍照。

1.2.4 Real-time PCR 检测基因表达 使用 Trizol 试剂按说明书提取总 RNA。依据 PrimeScript™ RT reagent Kit (TaKaRa) 试剂盒将 RNA 样品逆转录成 cDNA。利用 Light Cycler 480 II 实时荧光定量 PCR 系统,以 cDNA 为模板进行扩增,计算 mRNA 相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 PCR 检测引物序列

Table 1 Primer sequences of PCR

引物名称	序列(5'-3')
IL-1 $\alpha$ -F	TCAGCAACGTC AAGCAACGG
IL-1 $\alpha$ -R	GGTGCTGATCTGGGTTGGATG
IL-6-F	CTTCTTGGGACTGATGCTGGT
IL-6-R	CTCTGTGAAGTCTCTCTCCG
TNF- $\alpha$ -F	AGCCGATGGGTTGTACCTTG
TNF- $\alpha$ -R	ATAGCAAATCGGCTGACGGT
HMGB1-F	AGGCTGACAAGGCTCGTT
HMGB1-R	GATTTTGGGGCGGTA CT CAGA

1.2.5 Western Blot 检测蛋白表达 取冻存组织,按说明书提取各组总蛋白。用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度,确定蛋白上样量。蛋白样品经过 SDS-PAGE 电泳浓缩分离,转移至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭 1~2 h,一抗 4℃ 过夜孵育。主要抗体如下:anti-IL-1 $\alpha$  (1:600)、anti-IL-6 (1:1 000)、anti-TNF- $\alpha$  (1:1 000)、anti-HMGB1 (1:1 500)、anti-NF- $\kappa$ B (1:2 000)、anti-I- $\kappa$ B (1:2 000)。TBST 洗膜,然后用 HRP 标记的二抗(1:5 000)室温孵育 1 h, TBST 洗膜。电化学发光(ECL)试剂曝光显影。以  $\beta$ -actin 作为内参,使用 Image J 软件进行半定量分析。

1.2.6 双荧光素酶报告基因检测 构建 HMGB1 的野生型(WT)和突变型(MUT)双荧光素酶报告载体。使用 Lipofectamin 3000 将报告基因质粒与 miR-216a-5p mimics 或 miR-216a-5p NC 共转染 293T 细胞,48 h 后用双荧光素酶报告基因检测系统测量荧光素酶活性。

1.3 统计分析 试验至少重复 3 次。应用 SPSS 13.0 软件进行数据分析,多组独立数据正态分布方差齐时,数值以均值  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多样本间比较采用单因素方差分析,各组间采用 LSD-*t* 检验。以  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 表皮葡萄球菌感染致 PDAP 情况 对照组小鼠精神状态良好,进食饮水、活动正常;感染组、感染 + HMGB1 抑制剂组、感染 + miR-216a-5p mimics 组小鼠精神状态欠佳、活动相对减少、进食饮水无明显异常。动物试验过程中,4 组小鼠体重、心率差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ ),4 组均无死亡。感染组小鼠腹腔积液白细胞计数高于对照组( $P < 0.05$ ),见表 2。HE 染色显示,对照组小鼠腹膜组织无炎性浸润现象,腹膜组织结构完整;感染组小鼠腹膜出现明显的炎症浸润,炎症细胞增多(见图 1a)。免疫组织化学染色显示,感染组 IL-1 $\alpha$  比对照组增多(均  $P < 0.05$ ) (见图 1b); Western Blot 和 Real-time PCR 结果显示,感染组 IL-1 $\alpha$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的蛋白和 mRNA 的表达均高于对照组(均  $P < 0.05$ ) (见图 1c, 1d)。

表 2 各组小鼠腹腔积液白细胞计数情况( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 White blood cell count in peritoneal effusion of mice in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

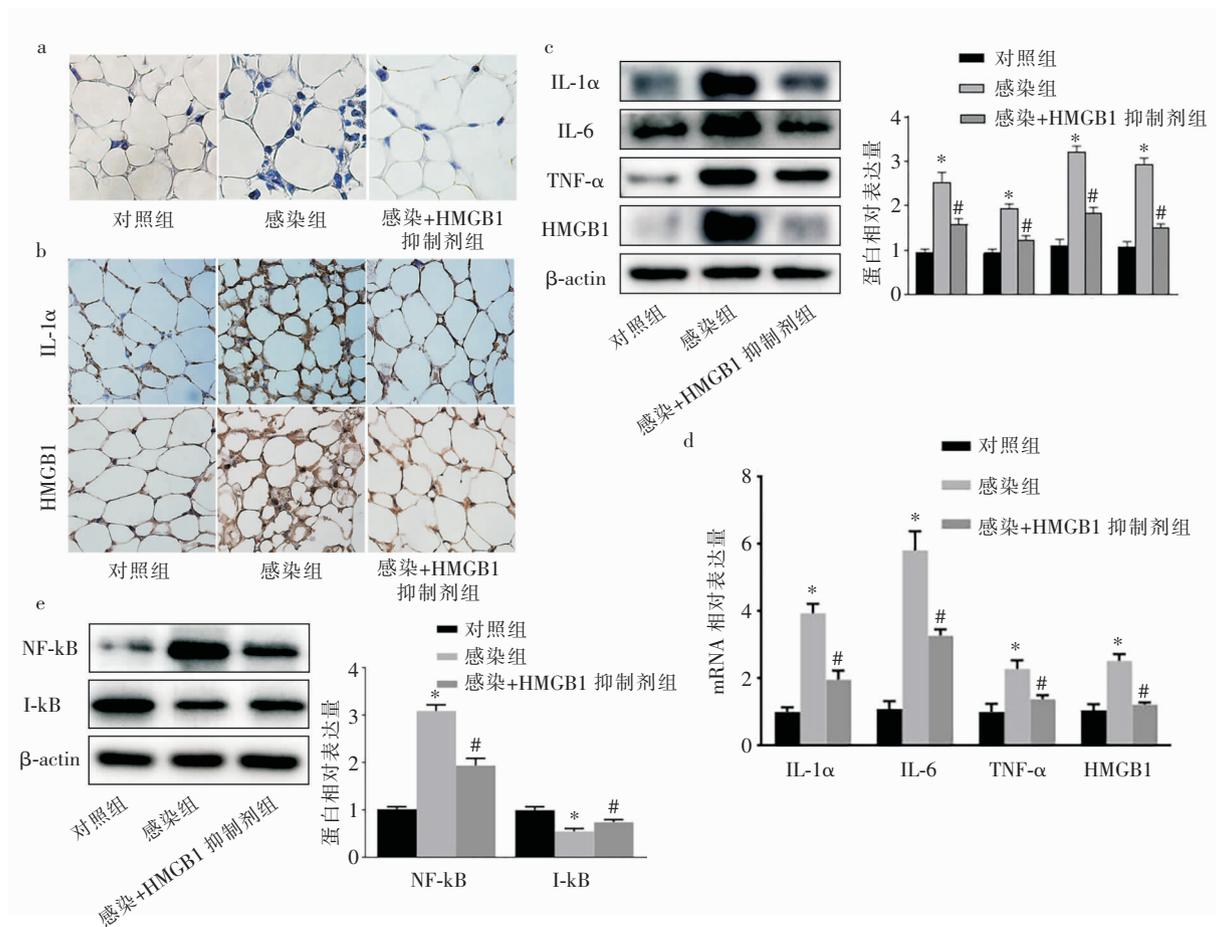
组别	腹腔积液白细胞计数 ( $\times 10^9/L$ )
对照组( $n = 15$ )	0.585 $\pm$ 0.16
感染组( $n = 15$ )	1.230 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>
感染 + HMGB1 抑制剂组( $n = 15$ )	0.833 $\pm$ 0.22 <sup>bc</sup>

注:a 为感染组与对照组相比, $P < 0.001$ ; b 为感染 + HMGB1 抑制剂组与对照组相比, $P < 0.01$ ; c 为感染 + HMGB1 抑制剂组与感染组相比, $P < 0.001$ 。

2.2 HMGB1 在 PDAP 的作用 免疫组织化学染色、Western Blot 和 Real-time PCR 结果显示,感染

组 HMGB1 表达均高于对照组(均  $P < 0.05$ ) (见图 1b~d)。与感染组相比,感染 + HMGB1 抑制剂组 HE 染色显示炎性浸润改善,炎症细胞减少;免疫组织化学染色显示 IL-1 $\alpha$  表达下降 ( $P < 0.05$ ); Real-time PCR 和 Western Blot 结果均提示 IL-1 $\alpha$ 、IL-6、

TNF- $\alpha$  mRNA 和蛋白表达下降(均  $P < 0.05$ ) (见图 1b~d)。Western Blot 结果显示,感染组 NF- $\kappa$ B 蛋白的表达高于对照组、感染 + HMGB1 抑制剂组(均  $P < 0.05$ );感染组 I- $\kappa$ B 蛋白的表达低于对照组、感染 + HMGB1 抑制剂组(均  $P < 0.05$ ) (见图 1e)。



a: HE 染色观察腹膜组织炎性浸润情况 ( $\times 400$ ); b: 免疫组化染色图 ( $\times 400$ ); c: Western Blot 检测蛋白表达情况; d: Real-time PCR 检测 mRNA 表达情况; e: NF- $\kappa$ B、I- $\kappa$ B 蛋白表达情况; \* 表示感染组与对照组相比,  $P < 0.05$ ; # 表示感染 + HMGB1 抑制剂组与感染组相比,  $P < 0.05$ 。

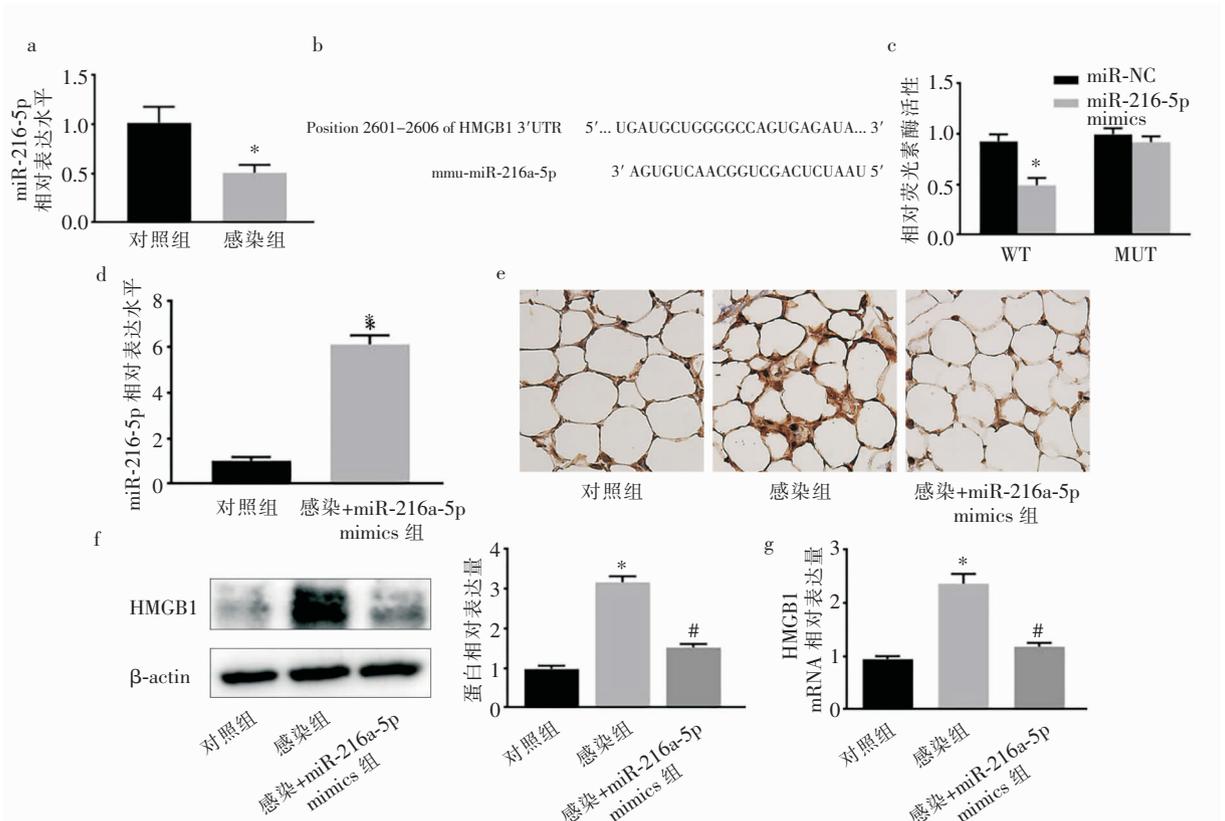
图 1 表皮葡萄球菌感染致小鼠 PDAP 相关检测结果

Figure 1 Testing results of mice PDAP induced by *Staphylococcus epidermidis* infection

### 2.3 miR-216a-5p 靶向 HMGB1 参与 PDAP 情况

Real-time PCR 结果显示,感染组 miR-216a-5p 较对照组明显减少 ( $P < 0.05$ ) (见图 2a)。双荧光素酶报告基因检测结果显示,miR-216a-5p mimics 可显著抑制 HMGB1 野生报告基因质粒 (HMGB1-WT) 组荧光素酶活性,而 HMGB1-3' UTR 区突变 (HMGB1-MUT) 后未受影响,提示 miR-216a-5p 可直接作用于 HMGB1 的 3' UTR 区 (见图 2b~c)。

Real-time PCR 结果显示,感染 + miR-216a-5p mimics 组较对照组明显升高,转染效率差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (见图 2d)。免疫组织化学染色结果显示,感染 + miR-216a-5p mimics 组 HMGB1 表达较感染组减弱 ( $P < 0.05$ ) (见图 2e); Real-time PCR 和 Western Blot 结果显示,感染 + miR-216a-5p mimics 组 HMGB1 mRNA 和蛋白的表达均较感染组下降 (均  $P < 0.05$ ) (见图 2f~g)。



a: Real-time PCR 检测 miR-216a-5p 的表达水平; b: HMGB1 3'UTR 与 miR-216a-5p 互补序列; c: 双荧光素酶报告基因检测结果; d: miR-216a-5p mimics 的转染效率; e: HMGB1 免疫组化染色图 (×400); f: Western Blot 检测 HMGB1 蛋白表达情况; g: Real-time PCR 检测 HMGB1 mRNA 表达水平; \* 表示与对照组相比,  $P < 0.05$ ; # 表示与感染组相比,  $P < 0.05$ 。

**图 2** miR-216a-5p 靶向 HMGB1 参与表皮葡萄球菌感染致小鼠 PDAP 相关检测结果

**Figure 2** Testing results of miR-216a-5p targeting HMGB1 involved in mice PDAP induced by *Staphylococcus epidermidis* infection

### 3 讨论

慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD) 发病率逐年升高, 全球患病率约为 13.4%<sup>[9]</sup>, 我国患病率约为 10.8%<sup>[10]</sup>, 部分患者进展至终末期肾病 (end-stage renal disease, ESRD), 需要接受肾替代治疗, 其中腹膜透析 (peritoneal dialysis, PD) 是主要替代治疗方法之一。PDAP 是腹膜透析的常见并发症, 也是腹膜透析患者死亡的主要原因之一<sup>[11-13]</sup>。

研究<sup>[14-15]</sup>发现, PDAP 主要以革兰阳性菌感染为主, 其中又以表皮葡萄球菌居多。表皮葡萄球菌是一种凝固酶阴性的条件致病菌, 广泛存在于人体皮肤和黏膜表面, 其导致的感染常与换液操作不规范和污染有关。研究<sup>[8]</sup>发现, 表皮葡萄球菌最易在腹膜透析管内形成细菌生物膜, 抗菌药物难以清除, 从而造成腹膜炎复发, 影响患者治疗与预后。但目前

前关于表皮葡萄球菌感染致 PDAP 的发生发展机制仍需进一步探讨。

HMGB1 是一种广泛存在于真核细胞的核内因子, 同时也是一种重要的炎症介质, 在不同急性慢性免疫疾病中起重要作用<sup>[16]</sup>。HMGB1 可调节细胞因子的释放, 如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-8, 与炎症过程密切相关<sup>[17]</sup>。研究<sup>[4]</sup>发现, 在大鼠腹腔局部注射 HMGB1 抑制剂可显著减轻脂多糖引起的腹膜功能及腹膜形态损伤, 提示 HMGB1 在腹膜炎发展中有着一定的作用, 然而 HMGB1 是否与表皮葡萄球菌感染致 PDAP 有关, 目前尚缺乏研究。本组研究发现, 表皮葡萄球菌感染小鼠腹膜组织, HMGB1 表达明显升高, 同时 IL-1 $\alpha$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达也明显增加; HMGB1 抑制剂干预后, HMGB1、IL-1 $\alpha$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达降低, 证实 HMGB1 在表皮葡萄球菌感染致 PDAP 中表达升高, 同时参与调节 IL-1 $\alpha$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的释放。NF- $\kappa$ B 是一种重要的核转录

因子, NF- $\kappa$ B 介导的信号通路在乙型病毒性肝炎、戊型病毒性肝炎等感染性疾病, 小胶质细胞介导的神经炎症等炎症疾病中发挥重要作用, 其中包括 HMGB1 介导的炎症反应<sup>[18-20]</sup>。I- $\kappa$ B 的降解是 NF- $\kappa$ B 激活的重要标志, 随着 I- $\kappa$ B 的降解, NF- $\kappa$ B 的复合物被释放到细胞核中, 进而激活 NF- $\kappa$ B 通路<sup>[21]</sup>。本研究发现表皮葡萄球菌感染后 NF- $\kappa$ B 表达升高, I- $\kappa$ B 表达降低; 甘草素处理后逆转 NF- $\kappa$ B、I- $\kappa$ B 表达, 因此推测 HMGB1 可以通过影响 NF- $\kappa$ B 介导的信号通路诱导 IL-1 $\alpha$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达, 参与表皮葡萄球菌感染致 PDAP 的发生。

MicroRNA 是由大约 20 个左右核苷酸组成的一种非编码、小 RNA, 通过靶向 3'-UTR 区抑制靶基因翻译过程<sup>[22]</sup>, 同时参与调节细胞增殖、细胞凋亡和细胞分化等多种细胞过程<sup>[23]</sup>。通过 TargrtS-acn 和 miRDB 数据库分析, 发现 miR-216a-5p 和 HMGB1 有相互作用位点, 可能存在靶向作用关系, 且双荧光素酶报告基因试验结果证实 miR-216a-5p 可直接作用于 HMGB1 的 3' UTR 区。miR-216a 被认为是急性胰腺炎期间判断胰腺损伤的重要血清生物标志物<sup>[24]</sup>, 通过介导不同的靶基因参与梅毒、骨关节炎等疾病的发生<sup>[25-27]</sup>, 通过抑制 NF- $\kappa$ B 通路的激活, 抑制炎症反应<sup>[28]</sup>。本研究构建 miR-216a-5p 过表达载体, 证实 miR-216a-5p 可逆转表皮葡萄球菌感染致 PDAP HMGB1 表达, 推测 miR-216a-5p 是 HMGB1 的负性调控因子, 通过调控 HMGB1 参与表皮葡萄球菌感染致 PDAP。对于 miR-216a-5p 在 PDAP 中的作用及具体机制, 仍需进一步试验探讨。

本研究各组小鼠均于药物干预 48 h 后处死, 并留取腹膜透析液和腹膜标本用于研究。研究存在周期较短、未设置抗感染治疗对照组, 未能系统观察 HMGB1 对表皮葡萄球菌感染致 PDAP 小鼠模型转归和预后的影响, 未来将进一步研究, 为证实 miR-216a-5p 在 HMGB1 介导的表皮葡萄球菌感染致 PDAP 中的作用提供更为充分的试验依据。

综上所述, 表皮葡萄球菌感染可导致小鼠腹膜组织 HMGB1、NF- $\kappa$ B 的活化, 并诱导炎症因子 IL-1 $\alpha$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  表达水平增高, 而 HMGB1 抑制剂可显著刺激 HMGB1、NF- $\kappa$ B 的活化以及炎症因子的表达; 同时过表达 miR-216-5p 可明显抑制 HMGB1 的表达。因此, 推测 HMGB1 在表皮葡萄球菌感染致 PDAP 发挥重要作用, 抑制 HMGB1 可明显改善炎症反应, miR-216a-5p 可通过靶向

HMGB1 参与表皮葡萄球菌感染致 PDAP 的发生, 将为深入研究表皮葡萄球菌感染致 PDAP 的发生发展和治疗提供试验依据。

#### [参考文献]

- [1] Li PKT, Chow KM, Van de Luitgaarden MWM, et al. Changes in the worldwide epidemiology of peritoneal dialysis[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(2): 90-103.
- [2] Liakopoulos V, Nikitidou O, Kalathas T, et al. Peritoneal dialysis-related infections recommendations: 2016 update. What is new? [J]. *Int Urol Nephrol*, 2017, 49(12): 2177-2184.
- [3] Zhang H, Zhang R, Chen J, et al. High mobility group box1 inhibitor glycyrrhizic acid attenuates kidney injury in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2017, 42(5): 894-904.
- [4] Cao SR, Li S, Li HY, et al. The potential role of HMGB1 release in peritoneal dialysis-related peritonitis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54647.
- [5] Domingo S, Solé C, Moliné T, et al. MicroRNAs in several cutaneous autoimmune diseases: psoriasis, cutaneous lupus erythematosus and atopic dermatitis [J]. *Cells*, 2020, 9(12): 2656.
- [6] Dong Y, Xu T, Zhong SP, et al. Circ\_0076305 regulates cisplatin resistance of non-small cell lung cancer via positively modulating STAT3 by sponging miR-296-5p [J]. *Life Sci*, 2019, 239: 116984.
- [7] Yin CY, Bai QF, Feng JX. MiR-216a-5p protects 16HBE cells from H2O2-induced oxidative stress through targeting HMGB1/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 508(2): 416-420.
- [8] Reis M, Ribeiro C, Gomes AM, et al. Repeat and relapsing peritonitis microbiological trends and outcomes: a 21-year single-center experience [J]. *Int J Nephrol*, 2021, 2021: 6662488.
- [9] Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, et al. Global prevalence of chronic kidney disease - a systematic review and Meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0158765.
- [10] hang LX, Wang F, Wang L, et al. Prevalence of chronic kidney disease in China: a cross-sectional survey [J]. *Lancet*, 2012, 379(9818): 815-822.
- [11] Boudville N, Kemp A, Clayton P, et al. Recent peritonitis associates with mortality among patients treated with peritoneal dialysis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(8): 1398-1405.
- [12] Mehrotra R, Devuyt O, Davies SJ, et al. The current state of peritoneal dialysis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(11): 3238-3252.
- [13] Szeto CC, Li PKT. Peritoneal dialysis-associated peritonitis [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2019, 14(7): 1100-1105.
- [14] Xu Y, Zhang YH, Yang B, et al. Prevention of peritoneal dialysis-related peritonitis by regular patient retraining via technique inspection or oral education: a randomized controlled tri-

- al[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2020, 35(4): 676 – 686.
- [15] Ueda R, Nakao M, Maruyama Y, et al. Effect of diabetes on incidence of peritoneal dialysis-associated peritonitis[J]. *PLoS One*, 2019, 14(12): e0225316.
- [16] Zenerino C, Nuzzo AM, Giuffrida D, et al. The HMGB1/RAGE pro-inflammatory axis in the human placenta; modulating effect of low molecular weight heparin[J]. *Molecules*, 2017, 22(11): 1997.
- [17] Arrigo T, Chirico V, Salpietro V, et al. High-mobility group protein B1: a new biomarker of metabolic syndrome in obese children[J]. *Eur J Endocrinol*, 2013, 168(4): 631 – 638.
- [18] Sun XJ, Zeng HY, Wang QS, et al. Glycyrrhizin ameliorates inflammatory pain by inhibiting microglial activation-mediated inflammatory response via blockage of the HMGB1-TLR4-NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 369(1): 112 – 119.
- [19] Shi YB, Zhang LL, Teng JF, et al. HMGB1 mediates microglia activation via the TLR4/NF- $\kappa$ B pathway in coriaria lactone induced epilepsy[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4): 5125 – 5131.
- [20] Qu CB, Li Y, Li YL, et al. FDA-drug screening identifies deproline inhibiting hepatitis E virus involving the NF- $\kappa$ B-RIPK1-caspase axis[J]. *Antiviral Res*, 2019, 170: 104588.
- [21] Liang WJ, Yang HW, Liu HN, et al. HMGB1 upregulates NF- $\kappa$ B by inhibiting IKB- $\alpha$  and associates with diabetic retinopathy[J]. *Life Sci*, 2020, 241: 117146.
- [22] Chen QS, Lin GF, Huang JC, et al. Inhibition of miR-193a-3p protects human umbilical vein endothelial cells against intermittent hypoxia-induced endothelial injury by targeting FAIM2 [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(2): 1899 – 1909.
- [23] Liu Q, Wu DH, Han L, et al. Roles of microRNAs in psoriasis: immunological functions and potential biomarkers[J]. *Exp Dermatol*, 2017, 26(4): 359 – 367.
- [24] Li H, Li T, Fan J, et al. miR-216a rescues dexamethasone suppression of osteogenesis, promotes osteoblast differentiation and enhances bone formation, by regulating c-Cbl-mediated PI3K/AKT pathway [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(12): 1935 – 1945.
- [25] Xu HY, Jia ZL, Ma K, et al. Protective effect of BMSCs-derived exosomes mediated by BDNF on TBI via miR-216a-5p [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e920855.
- [26] Peng RR, Shang SX, Zhao LS, et al. MiR-216a-5p-containing exosomes suppress rTp17-induced inflammatory response by targeting TLR4[J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(8): BSR20190686.
- [27] Zhang L, Zhang P, Sun XY, et al. Long non-coding RNA DANCR regulates proliferation and apoptosis of chondrocytes in osteoarthritis via miR-216a-5p-JAK2-STAT3 axis[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(6): BSR20181228.
- [28] Xu TJ, Chu Q, Cui JX, et al. MicroRNA-216a inhibits NF- $\kappa$ B-mediated inflammatory cytokine production in teleost fish by modulating p65[J]. *Infect Immun*, 2018, 86(6): e00256 – 18.

(本文编辑:刘思娣、左双燕)

**本文引用格式:**贾磊,刘冰,李卫光. miR-216a-5p 在 HMGB1 介导的表皮葡萄球菌感染致腹膜透析相关腹膜炎中的作用[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(11): 1028 – 1034. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 – 9638. 20218421.

**Cite this article as:** JIA Lei, LIU Bing, LI Wei-guang. The role of miR-216a-5p in HMGB1-mediated peritoneal dialysis-associated peritonitis induced by *Staphylococcus epidermidis* infection[J]. *Chin J Infect Control*, 2021, 20(11): 1028 – 1034. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 – 9638. 20218421.