

文章编号:2095-7386(2024)01-0028-06

DOI:10.3969/j.issn.2095-7386.2024.01.004

过表达 miR-144-3p 下调感染巨噬细胞 IL-6 mRNA 抑制 BCG 的存活

江升升¹,李 杨¹,李淑萍²,李雪芳¹,张 叶¹,周怀珩¹,刘晓倩¹,余晓丽¹

(1. 武汉轻工大学 生命科学与技术学院,武汉 430023;2. 亳州学院 生物与食品工程学院,亳州 236800)

摘要:探究 miR-144-3p 对巨噬细胞 IL-6 mRNA 表达量和巨噬细胞免疫能力的影响,为结核诊疗提供理论参考。方法(1)建立 BCG 感染 THP-1 巨噬细胞模型,qPCR 检测感染不同时间 miR-144-3p 和 IL-6 mRNA 表达变化;(2)瞬转 miR-144-3p 模拟物/抑制剂来过表达/抑制 miR-144-3p 后,qPCR 检测感染不同时间 miR-144-3p 和 IL-6 mRNA 表达变化;皮尔森相关系数分析 miR-144-3p 和 IL-6 mRNA 的相关性;(3)CCK-8 检测瞬转 miR-144-3p 模拟物/抑制剂后,CCK-8 检测 BCG 感染的巨噬细胞增殖能力;CFU 检测 BCG 存活状态。结果显示:(1)巨噬细胞感染 BCG 后,miR-144-3p 和 IL-6 mRNA 表达均显著上升($P<0.05$),miR-144-3p 表达量在 12 h 达到峰值,IL-6 mRNA 表达量在 24 h 达到峰值;(2)巨噬细胞感染 BCG 后,过表达 miR-144-3p 使 IL-6 mRNA 表达显著下降($P<0.01$);抑制 miR-144-3p 使 IL-6 mRNA 表达显著上升($P<0.01$);皮尔森相关系数分析结果显示两者存在负相关性;(3)过表达/抑制 miR-144-3p 不影响巨噬细胞增殖能力,但过表达 miR-144-3p 能抑制巨噬细胞中 BCG 的存活。结论:BCG 感染巨噬细胞后 miR-144-3p 和 IL-6 mRNA 表达均显著上升;过表达/抑制巨噬细胞 miR-144-3p,miR-144-3p 可能负调控 IL-6 mRNA 表达;过表达 miR-144-3p 能抑制 BCG 存活,进而增强巨噬细胞的先天免疫能力。

关键词:结核病;BCG;THP-1 巨噬细胞;miR-144-3p;IL-6 mRNA

中图分类号:R 392.12

文献标识码:A

Overexpression of miR-144-3p downregulates IL-6 mRNA in infected macrophages to inhibit BCG survival

JIANG Shengsheng¹,LI Yang¹,LI Shuping²,LI Xuefang¹,

ZHANG Ye¹,ZHOU Huaiheng¹,LIU Xiaoqian¹,YU Xiaoli¹

(1. School of Life Science and Technology, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. School of Biological and Food Engineering, Bozhou University, Bozhou 236800, China)

Abstract: To investigate the effect of miR-144-3p on macrophage IL-6 mRNA expression and macrophage

收稿日期:2023-10-23.

作者简介:江升升(2000—),男,硕士研究生,E-mail:1791855752@qq.com.

通信作者:余晓丽(1963—),女,教授,E-mail:yxl268@126.com.

基金项目:武汉市科技局 2020 年度应用基础前沿科研项目(编号:2020020601012231)

immunocompetence, and to provide theoretical reference for tuberculosis diagnosis and treatment. The method is establish a BCG-infected THP-1 macrophage model, qPCR to detect changes in miR-144-3p and IL-6 mRNA expression at different times of infection; transiently transfect miR-144-3p mimics/inhibitors to overpress/inhibiel miR-144-3p after the qPCR to detect miR-144-3p and IL-6 mRNA expression changes at different times of infution; Pearson's correlation coefficient analysis the miR-144-3p and IL-6 mRNA correlation; CCK-8 to detect the proliferative capacity of BCG-infected macrophages after t-ransiently transfecting miR-144-3p was used mimics/inhibitors; and CFU was used to detect BCG survival stat-us. Both miR-144-3p and IL-6 mRNA expression increased significantly ($P < 0.05$) after macrophages were infected with BCG, with miR-144-3p expression peaking at 12 h, and IL-6 mRNA expression peaking at 24 h. Overexpression of miR-144-3p after macrophages were infected with BCG resulted in a significant decrease ($P < 0.01$) in IL-6 mRNA expression; inhibition of miR-144-3p significantly increased IL-6 mRNA expression ($P < 0.01$); there was a negative correlation between the two as analyzed by Pearson's correlation coefficient; overexpression/inhibition of miR-144-3p did not affect the proliferative capacity of macrophages, but overexpression of miR-144-3p inhibited the survival of BCG in macrophages. Both miR-144-3p and IL-6 mRNA expression were significantly increased in BCG-infected macrophages; overexpression/inhibition of miR-144-3p in macrophages and miR-144-3p may negatively regulate IL-6 mRNA expression; overexpression of miR-144-3p inhibits BCG survival and thus enhances the innate immunity of macrophages.

Key words: tuberculosis; BCG; THP-1 macrophages; miR-144-3p; IL-6 mRNA

0 引言

据 2023 年 WHO 全球结核病报告:2022 年全球结核患者人数估计 1 060 万,其中有 750 万人被诊断为肺结核患者,我国估算结核病发病人数排全球第 3 位^[1]。巨噬细胞是一类重要的免疫细胞,是结核分枝杆菌(Mtb)侵入机体的主要靶细胞,在 Mtb 感染宿主时,其可以通过吞噬作用、自噬、凋亡等机制对细胞内 Mtb 进行清除^[2,3]。近年来,miR-144-3p 在肿瘤、癌症等方面得到了广泛研究,研究发现 miR-144-3p 可以靶向数千个基因,能直接或间接影响这些基因的表达^[4]。Mtb 感染宿主期间会诱导宿主产生细胞因子,如 IL-6,参与宿主免疫,杀死结核分枝杆菌,故 IL-6 的分泌增加有利于提高宿主的先天性免疫应答^[5]。资料显示感染分枝杆菌脓肿亚种患者 PBMC 中 miR-144-3p 和 IL-6 会显著上调^[6]。我们在前期研究中也发现 HupB 可以刺激 THP-1 巨噬细胞表达 IL-6,此外 HupB 刺激结核患者 PBMC 后 IL-6 mRNA 表达量显著高于非结核肺部疾病组和健康组,同时 miR-144-3p 的表达量显著高于非结核肺部疾病组和健康组^[7]。

鉴于此,本研究旨在探讨在巨噬细胞中 miR-144-3p 与 IL-6 mRNA 之间是否存在相关性,进而

探究 miR-144-3p 对巨噬细胞 IL-6 mRNA 表达和巨噬细胞免疫能力的影响,为结核诊疗提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 材料

BCG 菌株以及人 THP-1 细胞由本实验室提供,胎牛血清购自 QmSuero 公司, CCK-8 试剂盒购自 biosharp 公司, TRIpure 购自 aidlab 公司, Mir-X miRNA First-Strand Synthesis Kit, PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)、TB Green © Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) 购自 TaKaRa 公司。lipo3000、Opti-MEM 购自 Invitrogen 公司。

引物由上海生工合成,序列如下: miR-144-3p 正向引物: GCGCTACAGTATAGATGATGTAC; 反向引物: mRQ 3' 试剂盒提供。IL-6 正向引物: GACAGCCACTCACCTCTTCAGAAC; 反向引物: GCCTCTTTGCTGCTTTTCACACATG。 miRNA 实验组内参基因为 U6 (试剂盒提供), mRNA 实验组内参基因人 ACTB 正向引物: CAGGCAC-CAGGGCGTGAT; 反向引物: TAGCAACGTACATGGCTGGG。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及诱导

THP-1 单核细胞培养在含有 10% 胎牛血清、1% 青霉素/链霉素的 RPMI 1640 培养基中,在 37 °C, 5% CO₂ 的培养箱中培养,细胞处于对数生长期且状态良好时以 $4-5 \times 10^5$ cells/mL 的密度加入 24 孔板,每孔 500 μ L 细胞悬液加入 75 ng 的 PMA,诱导 24 h 后,细胞由悬浮细胞转为贴壁细胞,由圆形变成不规则形态,少数细胞伸出伪足成为梭型,表明细胞已诱导分化为 THP-1 巨噬细胞。

1.2.2 BCG 的培养与感染

BCG 培养于含 5% OADC 增菌液的 7H9 液体培养基中,在 37 °C 培养箱中静置培养,菌落计数后备用。BCG 以 10:1 的感染复数感染 THP-1 巨噬细胞。

1.2.3 细胞总 RNA 提取

24 孔板中每孔细胞加入 500 μ L TRIpure,吹打至细胞应完全裂解。转移至离心管中,加入 200 μ L 的预冷氯仿混匀,12 000 r/min 4 °C 离心 15 min,吸取含总 RNA 的上层水相至一新的离心管中,再加入 500 μ L 预冷异丙醇后混匀, -80 °C 沉淀 2 h; 12 000 r/min 4 °C 离心 10 min,在管侧壁或管底可见 RNA 沉淀;弃上清,加入 1 mL 75% 乙醇以清洗 RNA 沉淀,12 000 r/min 4 °C 离心 3 min,开盖晾干,加入 10 μ L DEPC 水溶解 RNA 沉淀,室温静置 5~10 min。

1.2.4 逆转录合成 cDNA

(1) miRNA 逆转录合成 cDNA

按照 TaKaRa Mir-X miRNA First-Strand Synthesis Kit 试剂盒说明书进行逆转录反应实验。

(2) mRNA 逆转录合成 cDNA

按照 TaKaRa PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒说明书进行逆转录反应实验。

1.2.5 实时荧光定量 PCR

按照 TaKaRa qPCR 试剂盒 TB Green © Premix Ex Taq™ II 的说明书进行反应体系的配制,应用荧光定量 PCR 仪 CFX96 Real-Time PCR Detection System 按两步法设置 PCR 扩增程序。

1.2.6 转染

由上海生工完成 miR-144-3p 模拟物(mimics)、miR-144-3p 抑制剂(inhibitor)及相应阴性对照

(NC-mimics 及 NC-inhibitor)的合成,按照 lipo3000 使用说明书进行转染。对应序列信息如下:

miR-144-3p mimics: 5'-3': UACAGUAUAGA UGAUGUACU; 5'-3': AGUACAUCUAUAC UGUA。NC-mimics: 5'-3': UCACAACCUCCUA-GAAAGAGUAGA; 5'-3': UCUACUCUUUC-UAGGAGGUUGUGA。

miR-144-3p inhibitor: 5'-3': (mA)(mG)(mU)(mA)(mC)(mA)(mU)(mC)(mA)(mU)(mC)(mA)(mU)(mA)(mC)(mU)(mG)(mU)(mA); NC-inhibitor: 5'-3': (mC)(mA)(mG)(mU)(mA)(mC)(mU)(mU)(mU)(mU)(mG)(mU)(mG)(mU)(mA)(mG)(mU)(mA)(mC)(mA)(mA)。

1.2.7 细胞增殖实验

将细胞铺板在 96 孔,培养不同时间后,从培养箱中取出 96 孔细胞培养板,PBS 清洗细胞一次,更换 RPMI 1640 培养基 100 μ L/孔。避光条件下,将 1/10 体积的 CCK-8 直接加入培养基中的细胞中混匀。

在细胞培养箱内继续孵育 4 h,直到颜色变为橙色,将 96 孔板置于摇床上约 1 min 后用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光值,对得到的 OD 值进行计算及数据分析作图。

1.2.8 菌落计数

用 PBS 缓冲液洗涤细胞 3 次以去除胞外细菌,收集细胞样本,用 0.5% SDS 裂解细胞分别稀释 10、100、1 000 倍后接种在含有 10% OADC 的 7H10 固体培养基平板上,并在 37 °C 孵育 3 周后进行计数。

1.2.9 数据统计与分析

荧光定量 PCR 结果采用 $\Delta\Delta C_t$ 法计算样本 miRNA/mRNA 相对表达量,运用 GraphPad Prism 8.0.2 软件对数据进行统计分析并绘制相应结果图,对符合条件的两组样本比较采用 t 检验,对符合条件的三组及以上样本比较采用 one-way anova 两两匹配, $P < 0.05$ 时具有统计学意义。每组数据表示形式为:平均值 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm S$)。

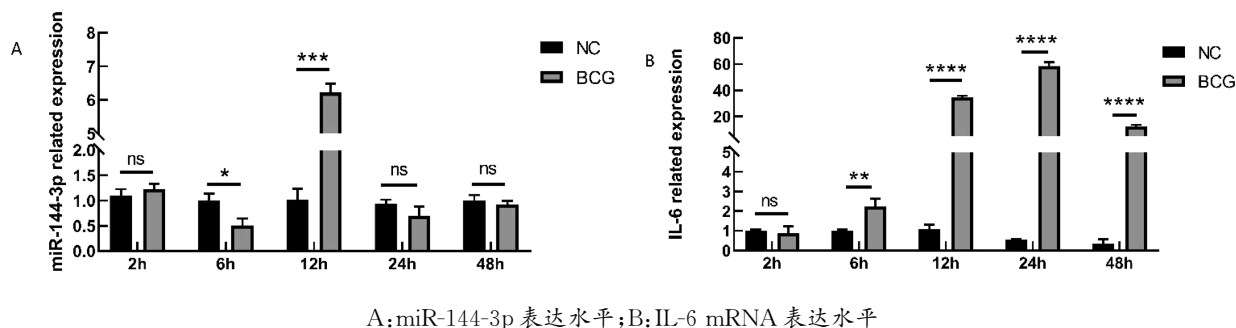
1.2.10 相关性分析

采用皮尔森相关系数(Pearson correlation coefficient)评估 miR-144-3p 与 IL-6 mRNA 相关性, R 取值越靠近 -1,表示两个随机变量之间负相关性越强。

2 结果

2.1 巨噬细胞感染 BCG 后 miR-144-3p 和 IL-6 mRNA 表达变化

BCG 感染 THP-1 巨噬细胞不同时间后,qPCR 检测 miR-144-3p 和 IL-6 mRNA 表达量。结果显



A:miR-144-3p 表达水平;B:IL-6 mRNA 表达水平

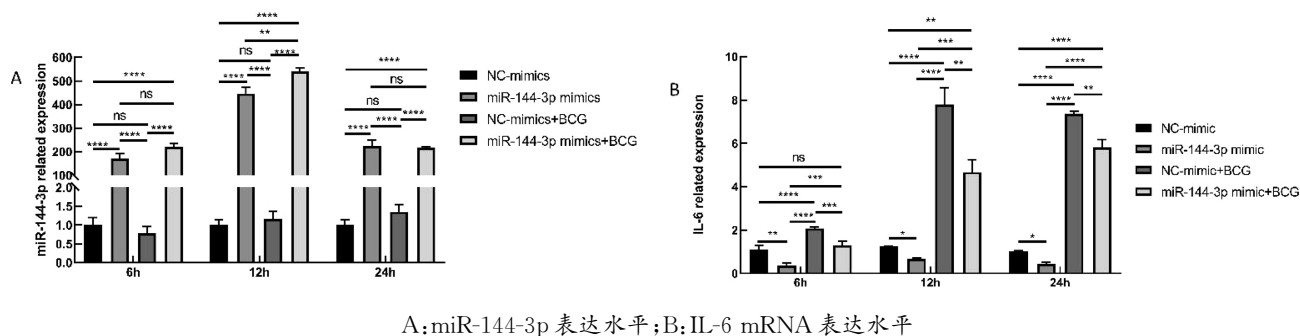
图 1 THP-1 巨噬细胞感染 BCG 前后 RNA 表达水平

A:miR-144-3p expression level ns;B:IL-6 mRNA expression level ns
 $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$; ****, $P<0.0001$.

Fig. 1 RNA expression level of THP-1 macrophages before and after BCG infection

2.2 过表达/抑制 miR-144-3p 对巨噬细胞 IL-6 mRNA 表达水平的影响

经转染时间优化,在 THP-1 巨噬细胞中瞬转 miR-144-3p mimics/NC-mimics 24 h 或者 miR-144-3p inhibitor/NC-inhibitor 48 h,BCG 感染不同时间后,qPCR 检测巨噬细胞中 miR-144-3p 和 IL-6 mRNA 表达量。



A:miR-144-3p 表达水平;B:IL-6 mRNA 表达水平

图 2 瞬转 miR-144-3p mimics/NC-mimics 后 THP-1 巨噬细胞感染 BCG 前后 RNA 表达水平

A:miR-144-3p expression level ns;B:IL-6 mRNA expression level ns
 $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$; ****, $P<0.0001$.

Fig. 2 RNA expression levels of THP-1 macrophages infected with BCG after transient miR-144-3p mimics/NC-mimics

在 6 h、12 h、24 h 感染 BCG 和未感染组中,瞬转 miR-144-3p inhibitor 组 miR-144-3p 表达量均显著上升,在 12 h 时达到峰值(图 3A)。在感染 BCG

示 THP-1 巨噬细胞在 BCG 感染 6 h miR-144-3p 表达量与未感染前相比下降,而在 12 h miR-144-3p 表达量与未感染前相比显著上升达到峰值(图 1A)。IL-6 mRNA 表达量在 2 h 以外的其他时间点显著上升,在 24 h 达到峰值(图 1B)。

结果显示在 6 h、12 h、24 h 感染 BCG 和未感染组中,瞬转 miR-144-3p mimics 组 miR-144-3p 表达量均显著上升,在 12 h 时达到峰值(图 2A)。在 6 h、12 h、24 h 感染 BCG 与未感染组相比,IL-6 mRNA 表达量均显著上升,在 12 h 时达到峰值。瞬转 miR-144-3p mimics 与对照组相比,在不同时间 IL-6 mRNA 表达量均下降(图 2B)。

后 6 h、12 h,瞬转 miR-144-3p inhibitor 组与对照组相比,IL-6 mRNA 表达量均上升,说明抑制 miR-144-3p 促进 IL-6 mRNA 表达(图 3B)。

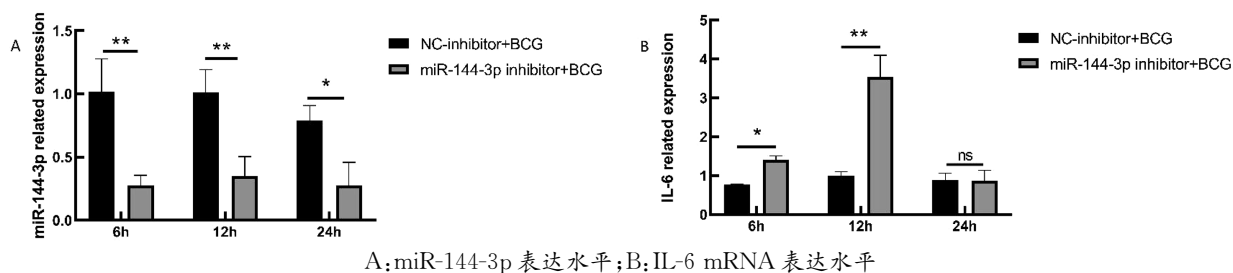


图 3 瞬转 miR-144-3p inhibitor/NC-inhibitor 后 THP-1 巨噬细胞感染 BCG 前后 RNA 表达水平

A: miR-144-3p expression level ns; B: IL-6 mRNA expression level ns, $P > 0.05$; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Fig. 3 RNA expression levels of THP-1 macrophages infected with BCG

after transient miR-144-3p inhibitor/NC-inhibitor

皮尔森相关系数分析结果显示:瞬转 miR-144-3p mimics, 在 6 h、12 h 及 24 h, miR-144-3p 表达水平与 IL-6 mRNA 表达水平存在负相关关系($R = -0.88$, $P < 0.009$; $R = -0.8$, $P < 0.054$; $R = -0.87$, $P < 0.13$);瞬转 miR-144-3p inhibitor, 在 6 h、12 h 及 24 h, miR-144-3p 表达水平与 IL-6 mRNA 表达水平存在负相关关系($R = -0.98$, $P < 0.019$; $R = -0.84$, $P < 0.072$; $R = -0.46$, $P < 0.54$).

2.3 过表达/抑制 miR-144-3p 对巨噬细胞增殖能力的影响

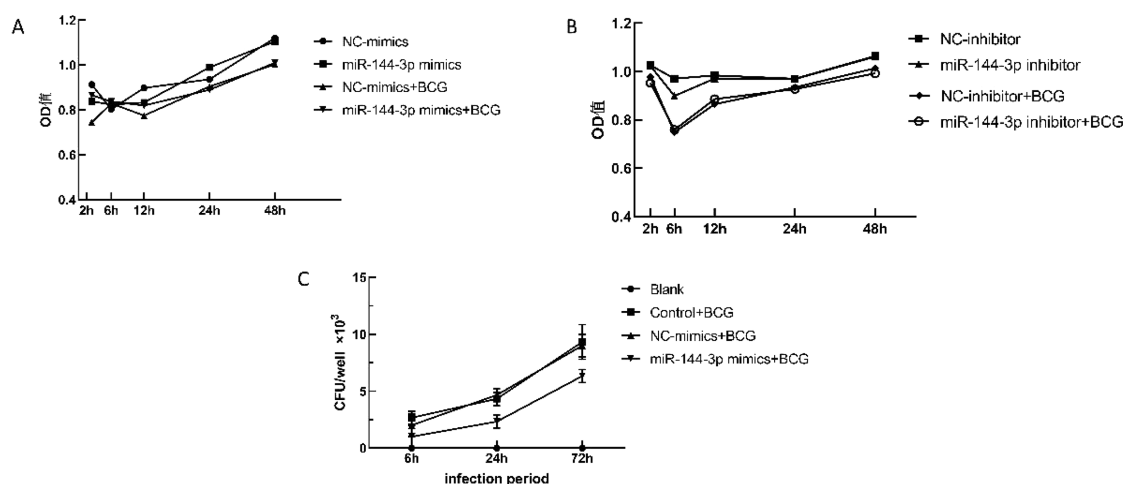
在 THP-1 巨噬细胞中瞬转 miR-144-3p mimics/NC-mimics 24 h 或者 miR-144-3p inhibitor/NC-inhibitor 48 h, BCG 感染不同时间后, 用 CCK-8 试剂盒检测巨噬细胞增殖情况。结果显示转染不同时间后 BCG 感染的巨噬细胞增殖能力均无显著变

化, 说明过表达/抑制 miR-144-3p 均不影响巨噬细胞增殖(图 4A、图 4B)。

2.4 过表达 miR-144-3p 对 BCG 存活的影响

在 THP-1 巨噬细胞中瞬转 miR-144-3p mimics/NC-mimics 24 h, 并在 BCG 感染巨噬细胞不同时间后采用 CFU 试验统计巨噬细胞内 BCG 数量。结果显示 Control+BCG 组及 NC-mimics+BCG 组差异均不明显, 符合实验预期; miR-144-3p mimic+BCG 组在 6 h、24 h 及 72 h 菌落数均低于 Control+BCG 组和 NC-mimics+BCG 组, 表明过表达 miR-144-3p 后巨噬细胞内 BCG 存活受到抑制(图 4C)。

综上所述, 过表达 miR-144-3p 能够抑制巨噬细胞内 BCG 存活, 推测 miR-144-3p 有助于巨噬细胞抗结核反应。



A: 瞬转 miR-144-3p mimics/NC-mimics 后巨噬细胞增殖情况; B: 瞬转 miR-144-3p inhibitor/NC-inhibitor 后巨噬细胞增殖情况;

C: 瞬转 miR-144-3p mimics/NC-mimics 后巨噬细胞内 BCG 存活情况

图 4 瞬转后巨噬细胞增殖情况及胞内 BCG 存活情况

A: Macrophage proliferation after instantaneous miR-144-3p mimics/NC-mimics;

B: Macrophage proliferation after instantaneous miR-144-3p inhibitor/NC-inhibitor;

C: Survival of BCG in macrophages at different infection times after instantaneous miR-144-3p inhibitor/NC-mimics

Fig. 4 Proliferation of macrophages after instantaneous transfer and survival of BCG in macrophages

3 讨论

miRNA 是参与转录后基因调控的非编码 RNA,它们参与生物体内的各种生理和病理过程,如细胞增殖、分化、发育和凋亡等^[8,9]。

越来越多的研究表明 miRNA 参与宿主对 M. tb 感染的反应。Pu R 等^[10]研究 miR-144 通过靶向 toll 样受体 2 在非小细胞肺癌中抑制细胞迁移和侵袭并调节炎症细胞因子分泌,发现 miR-144 通过下调 A549 细胞 TLR2 表达,抑制 IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 的迁移、侵袭和分泌。Li RD 等^[11]研究发现 miR-144 在肝移植患者成熟 DCs、巨噬细胞和 PBMCs 中表达量下调,miR-144 模拟物可抑制成熟 DCs 中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-23 的表达。类似的,大量文献资料显示 miR-144 与 IL-6 之间也同样存在联系,而 miR-144 属于 miR-144 大类,提示 miR-144-3p 与 IL-6 之间也有可能存在联系^[12]。miRNA let-7 过表达会降低 M. tb 存活率并增加包括 TNF 和 IL-1 β 在内的细胞因子的产生^[13]。miR-27a 可以直接靶向 Ca²⁺ 转运蛋白 Cacna2d3 并通过 ER Ca²⁺ 信号抑制自噬,从而促进 M. tb 的细胞内存活^[14]。

根据文献资料显示,miR-144-3p 与 IL-6 之间更大可能是间接作用,且 IL-6 可能在 miR-144-3p 下游,也有可能由 LncRNA 调控 miR-144-3p 靶向某一蛋白或通路达到间接调控 IL-6 的目的^[15]。

本研究结果发现,过表达 miR-144-3p 下调 IL-6 mRNA 表达,抑制 miR-144-3p 上调 IL-6 mRNA 表达;在感染状态下的巨噬细胞中,miR-144-3p 与 IL-6 mRNA 表达存在负相关关系。miR-144-3p 在巨噬细胞抗 BCG 感染期间发挥着重要作用,可能影响巨噬细胞的炎症反应,但并不影响巨噬细胞增殖,提示 miR-144-3p 可能通过其他方面影响巨噬细胞,可能是 IL-6 mRNA 的上游调控因子,进而影响巨噬细胞免疫能力,如吞噬、自噬、凋亡、焦亡、迁移等方面。此外,miR-144-3p 可能通过某种蛋白或通路调控 IL-6,但具体调控机制还需更深入的研究。

参考文献:

[1] Global tuberculosis report 2023[M]. Geneva: World Health Organization, 2023.
[2] Xie D, Ouyang S. The role and mechanisms of macrophage polarization and hepatocyte pyroptosis in acute liver failure[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1279264.

[3] Liu H, Han Z, Chen L, et al. ZNFX1 promotes AMPK-mediated autophagy against Mycobacterium tuberculosis by stabilizing mRNA[J]. JCI Insight, 2024, 9(1): e171850.
[4] Pinto-Hernandez P, Castilla-Silgado J, Coto-Vilcapoma A, et al. Modulation of microRNAs through Lifestyle Changes in Alzheimer's Disease[J]. Nutrients, 2023, 15(17): 3688.
[5] Kumar R, Singh P, Kolloli A, et al. Immunometabolism of Phagocytes During Mycobacterium Tuberculosis Infection[J]. Front Mol Biosci, 2019, 6: 105.
[6] Kim H J, Kim I S, Lee S G, et al. MiR-144-3p is associated with pathological inflammation in patients infected with Mycobacteroides abscessus[J]. Exp Mol Med, 2021, 53(1): 136-149.
[7] 张珮. 基于 HupB 特异性 RNA 表达及其在结核病诊断中的价值研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2021.
[8] Sampath P, Periyasamy K M, Ranganathan U D, et al. Monocyte and Macrophage miRNA: Potent Biomarker and Target for Host-Directed Therapy for Tuberculosis[J]. Front Immunol, 2021, 12: 667206.
[9] Kundu M, Basu J. The Role of microRNAs and Long Non-Coding RNAs in the Regulation of the Immune Response to Mycobacterium tuberculosis Infection[J]. Front Immunol, 2021, 12: 687962.
[10] Pu R, Pu M, Huang H, et al. MicroRNA 144 inhibits cell migration and invasion and regulates inflammatory cytokine secretion through targeting toll like receptor 2 in non-small cell lung cancer[J]. Arch Med Sci, 2021, 17(4): 1028-1037.
[11] Li R D, Shen C H, Tao Y F, et al. MicroRNA-144 suppresses the expression of cytokines through targeting RANKL in the matured immune cells[J]. Cytokine, 2018, 108: 197-204.

(下转第 53 页)

benzoic acid ester as a novel rust conversion agent and its polymer composites for enhanced surface anticorrosion[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2021, 626: 127065.

[19] Rajitha K, Mohana K N S, Hegde M B, et al. Fabrication of ZnO/rGO and ZnO/MWCNT nanohybrids to reinforce the anticorrosion performance of polyurethane coating[J]. *FlatChem*, 2020, 24: 100208.

(上接第 33 页)

[12] Liu Y, Cui X, Wang C, et al. LncRNA HCG11 regulates proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cell through targeting miR-144-3p/FOXF1 axis in atherosclerosis[J]. *Biol Res*, 2020, 53(1): 44.

[13] Liu F, Chen J, Wang P, et al. MicroRNA-27a controls the intracellular survival of Mycobacterium tuberculosis by regulating calcium-associated autophagy[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4295.

[14] Liu K, Hong D, Zhang F, et al. MicroRNA-

106a Inhibits Autophagy Process and Anti-microbial Responses by Targeting ULK1, ATG7, and ATG16L1 During Mycobacterial Infection [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 610021.

[15] Yi Y, Yang N, Yang Z, et al. LncRNA TM1-3P Regulates Proliferation, Apoptosis and Inflammation of Fibroblasts in Osteoarthritis through miR-144-3p/ONECUT2 Axis [J]. *Orthop Surg*, 2022, 14(11): 3078-3091.