

原发性胆汁性胆管炎患者血清MicroRNA的表达谱分析

徐田田, 王战, 李文帅, 刘明军*

青岛大学附属医院, 山东 青岛

收稿日期: 2022年2月18日; 录用日期: 2022年3月11日; 发布日期: 2022年3月22日

摘要

目的: 研究原发性胆汁性胆管炎(Primary biliary cholangitis, PBC)患者血清中microRNAs的差异表达与临床价值。方法: 首先, 采用高通量测序筛选PBC组和正常对照组中差异表达的miRNAs, 其次, 采用实时荧光定量PCR (qRT-PCR)对差异表达的miRNAs在扩大样本中进行验证。最后, 预测miRNAs的靶基因。结果: 高通量测序筛选出94条miRNAs, 其中, 60条miRNAs表达上调, 34条miRNAs表达下调。经过qRT-PCR验证发现miR-410-3p在PBC组中的表达水平明显高于正常对照组, 与测序结果一致。靶基因预测结果提示, miR-410-3p的相关靶基因与T细胞或B细胞的分化、活化、增殖、稳态相关。结论: PBC患者血清中存在差异表达的miRNAs, miR-410-3p对PBC的诊断有一定的参考价值。

关键词

原发性胆汁性胆管炎, miRNAs, 高通量测序

Analysis of Serum MicroRNA Expression Profile in Patients with Primary Biliary Cholangitis

Tiantian Xu, Zhan Wang, Wenshuai Li, Mingjun Liu*

The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Feb. 18th, 2022; accepted: Mar. 11th, 2022; published: Mar. 22nd, 2022

Abstract

Objective: To investigate the differential expression and clinical value of microRNAs in the serum

*通讯作者 Email: jocklmj@163.com

文章引用: 徐田田, 王战, 李文帅, 刘明军. 原发性胆汁性胆管炎患者血清 MicroRNA 的表达谱分析[J]. 临床医学进展, 2022, 12(3): 2056-2063. DOI: 10.12677/acm.2022.123295

of patients with primary biliary cholangitis (PBC). **Methods:** First, high-throughput sequencing was used to screen differentially expressed miRNAs in PBC group and normal control group. Second, qRT-PCR was used to verify the differentially expressed miRNAs in expanded samples. Finally, computer analysis was conducted to predict target genes. **Results:** By high-throughput sequencing, we found 94 miRNAs were differentially expressed in PBC patients compared to the normal controls. The analysis identified 60 up-regulated miRNAs (>2.0-fold) and 34 down-regulated miRNAs (<0.5-fold). qRT-PCR verified that the expression of miR-410-3p was significantly up-regulated in PBC patients compared with the normal controls, which was consistent with the deep sequencing results. The prediction results of target genes suggested that the related target genes of miR-410-3p were involved in the differentiation, activation, proliferation and homeostasis of T cells or B cells. **Conclusion:** There are differentially expressed miRNAs in the serum of PBC patients. miR-410-3p has certain reference value for the diagnosis of PBC.

Keywords

Primary Biliary Cholangitis, miRNAs, High-Throughput Sequencing

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

原发性胆汁性胆管炎(Primary biliary cholangitis, PBC)是一种自身免疫性肝病,以肝内中、小胆管进行性破坏,非化脓性炎症为主要病理特征[1]。PBC 主要为中年女性多发[2]。病因学上,目前认为 PBC 可能是易感基因、环境危险因素和免疫紊乱相互结合作用的结果[3]。然而,PBC 确切的发病机制尚不清楚。临床上以血清中出现特异性的抗线粒体抗体(AMA)为主要诊断依据,但是仍有 5%~10%的 PBC 患者 AMA 为阴性[4]。MicroRNAs (miRNAs)是一组长度为 21~23 个碱基的小 RNA 分子,通过对靶基因的调控,参与细胞分化、细胞增殖和细胞凋亡等重要的生物过程[5] [6]。越来越多的证据表明,在不同的肝脏疾病中 miRNAs 的表达谱是不同的,有助于疾病的早期诊断和治疗。最近的研究集中于 PBC 患者肝组织和外周血 PBMC 中特定的 miRNAs 表达谱。除此之外,PBC 患者的血清中一些 miRNAs 也已被证明表达失调[7],这意味着 miRNAs 可能在 PBC 疾病发病机制中发挥一定的作用。本研究应用高通量测序研究 PBC 患者血清 miRNAs 的差异表达,旨在丰富 PBC 血清 miRNAs 表达谱,通过实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)验证差异表达的 miRNAs,并探讨其临床价值。

2. 对象与方法

2.1. 对象

选取 2020 年 12 月至 2021 年 7 月于青岛大学附属医院就诊并临床确诊的 PBC 患者 82 例为病例组,男 6 例,女 76 例,平均年龄(57.2 ± 11.0)岁。另外选取性别、年龄与 PBC 患者相匹配的 20 名健康体检者为正常对照组,20 名慢性乙型肝炎(CHB)患者作为其他疾病对照组。具体临床资料见表 1。实验方案经青岛大学附属医院伦理委员会批准。所有入院患者均签署青大附院“临床样本开展科学研究知情同意书”。

2.2. 标本收集

PBC 组和对照组均于清晨空腹抽取外周静脉血 2 mL,4500×g 离心 10 min 分离上层血清,保存在-80℃

超低温冰箱中。

2.3. 实验方法

2.3.1. 总 RNA 提取与文库构建

用于高通量测序的仪器名称为 Illumina NextSeq 500 (美国 Illumina 公司)。使用 Trizol LS 试剂(美国 Invitrogen 公司)从 3 名 PBC 患者和 3 名正常对照 250 μL 血清样本中提取总 RNA。使用 NanoDrop ND 2000 (美国赛默飞公司)对总 RNA 进行定量分析。抽提所得的总 RNA 经 Agilent 2100 Bioanalyzer (美国安捷伦生物科技公司)电泳质检合格后备用。miRNA 文库构建采用 Illumina Truseq Small RNA Preparation Kit 试剂盒(LC Sciences)。总 RNA 链接 5'接头和 3'接头后经 RT-PCR 扩增形成小分子 RNA 的 cDNA 文库, 经 6% 电泳缓冲液变性胶电泳分离, 将长度为 47 bp 的小分子 RNA 切胶回收。

2.3.2. 高通量测序

cDNA 纯化后经 Illumina's Cluster Station 生成 DNA 簇, 然后行 Illumina GA II x 测序。通过 SCS v2.8 软件实时分析测序图片, 单端序列为 32mer, 并且使用 RTA v1.8.70 提取碱基信息。提取的原始序列利用 ACGT101-miR v4.2 (LC Sciences)软件分析, 生成原始数据库。为保证筛选到高质量的基因结果, 剔除可比对离列数 < 10 的基因。最后分析 PBC 组和正常对照间差异表达的 miRNAs。

2.3.3. 靶基因预测

采用软件 TargetScan 数据库和 miRDB 数据库共同进行靶基因预测。

2.4. 差异表达 miRNA 的 qRT-PCR 验证

除了高通量测序的样本外, 更多的 PBC, CHB 以及正常对照的血清样本被用于 qRT-PCR 实验验证, 总共各组分别为 PBC: 82 例; CHB: 20 例; 正常对照: 20 例。采用 TaqMan 法对成熟 miRNA 的表达水平进行检测。首先从 300 μL 的血清中提取 miRNA, 后执行加多聚腺苷酸尾反应, 然后按照制造商的方案使用 HG TaqMan miRNA RT kit 逆转录试剂盒(哈尔滨新海基因公司)合成 cDNA。使用 QuantStudio Dx Real-time PCR 系统(美国 ABI 公司)和 HG TaqMan miRNA qPCR 试剂盒(哈尔滨新海基因公司), 在 20 μL 的 PCR 反应体系中检测目的 miRNA。PCR 反应体系为 Golden HS TaqMan qPCR Mix 4 μL , 引物和探针总共 1 μL , cDNA 模板 2 μL , ROX 染料 0.4 μL , 无 RNA 酶水补充体积至 20 μL , 混匀后置于冰上。对于目的基因 hsa-miR-410-3p, 我们使用以下引物: 正向引物序列: 5'-CGCGCGAATATAACACAGATG-3'; 反向引物序列: 5'-GAGAACAGCTCTGTGTTATAT-3'。设置循环反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 15 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火与延伸 60 s, 总共 40 个循环。反应产物经熔解曲线检测特异性。经 SDS2.2 软件分析循环域值(CT 值)。以 hsa-miR-16 作为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算 miRNA 的表达, 具体计算方法为: $\Delta\Delta\text{CT} = \Delta\text{CT}(\text{患者}) - \Delta\text{CT}(\text{健康对照})$, $\Delta\text{CT} = \text{CT}(\text{靶基因}) - \text{CT}(\text{内参基因})$ 。

2.5. 测序数据分析和统计学分析

PBC 组和正常对照组差异表达 miRNAs 采用统计学 Mann-Whitney U 检验。采用 MeV4.6 软件进行 PBC 组和正常对照组差异表达 miRNAs 的聚类分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。采用 Graphpad Prism 6.0 软件或者 IBM SPSS 22.0 软件进行统计分析处理, 对各组计量资料进行正态分布检验。正态分布的计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{X} \pm S$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析。非正态分布的计量资料采用中位数 (M) 和四分位数间距 (P_{25}, P_{75}) 表示, 组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。以 ROC 曲线及 AUC 分析评估血清 miRNAs 对 PBC 的诊断价值, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 临床和实验室特征

PBC组与CHB组、正常对照组的基本临床和实验室特征见表1。结果显示:PBC组的谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、谷氨酰转肽酶(GGT)、直接胆红素(DBil)表达水平明显高于正常对照组,但白蛋白水平低于正常对照组(P 均 < 0.05)。三组患者的性别和年龄差异无统计学意义。

Table 1. Clinical and laboratory characteristics of PBC group, chronic hepatitis B group, and normal control group
表 1. PBC 组、CHB 组和正常对照组的临床和实验室特征

项目	PBC 组(n = 82)	CHB 组(n = 20)	正常对照组(n = 20)	P 值
性别(女/男)	76/6	15/5	17/3	NS
年龄 (岁)	57.2 ± 11.0	55.0 ± 6.5	52.6 ± 14.5	NS
ALT (U/L)	29.5 (18.8~45.3)*	21.0 (16.5~23.0)	15.0 (12.3~22.8)	0.001
AST (U/L)	31.5 (21.0~40.3)*	24.0 (17.3~48.0)	20.0 (17.0~24.8)	0.0001
ALP (U/L)	160.0 (118.0~242.3)*	65.5 (53.0~91.8)	59.0 (49.8~73.5)	0.002
GGT (U/L)	89.9 (45.5~225.4)*#	15.0 (11.0~19.0)	15.5 (12.0~23.3)	0.0001
DBil (μmol/L)	8.2 (6.6~11.6)*	5.6 (4.0~8.2)	3.0 (2.0~5.4)	0.003
ALB (g/L)	35.3 (32.1~37.7)*	44.5 (37.0~47.1)	46.3 (44.6~47.6)	0.0001

注: *与正常对照组比较($P < 0.05$); #与 CHB 组比较($P < 0.05$)。NS: 无统计学意义。

3.2. 高通量测序结果分析

通过高通量测序可以发现, PBC 组与正常对照组相比, 总共有 94 个 miRNAs 表达有差异, 其中表达上调($FC > 2$)的有 60 个 miRNAs, 表达下调($FC < 0.5$)的有 34 个 miRNAs; 其中 $|\log_2FC| > 8$ 的成熟 miRNAs 共有 6 个, 其中表达上调的 miRNAs 有 5 个, 表达下调的 miRNAs 有 1 个, 见表 2。通过分析发现 miR-410-3p 在 3 名 PBC 患者中均有表达, 且表达量较高, 因此我们选择 miR-410-3p 进行后续研究。

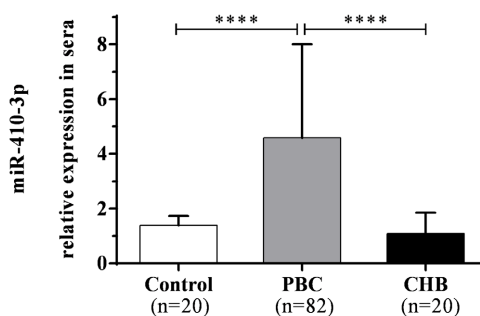
Table 2. There are 6 miRNAs that their $|\log_2FC|$ more than 8 times between PBC group and normal control group
表 2. PBC 组与正常对照组间 $|\log_2FC| > 8$ 倍的有 6 个 miRNAs

序号	miRNA 名称	差异倍数 ($ \log_2FC $)	升高/降低	P 值	miR 序列
1	miR-3614-5p	8.71	升高	0.035	CCACUUGGAUCUGAAGGCUGCCC
2	miR-671-3p	8.69	升高	0.035	UCCGGUUCUCAGGGCUCCACC
3	miR-380-3p	8.67	升高	0.026	UAUGUAAUAUGGUCCACAUCUU
4	miR-410-3p*	8.52	升高	0.001	AAUAUAACACAGAUGGCCUGU
5	miR-488-3p	8.33	升高	0.004	UUGAAAGGCUAUUUCUUGGUC
6	miR-543	8.14	降低	0.013	AAACAUUCGCGGUGCACUUCUU

注: *: 用于后续实时荧光定量 PCR 验证的 miRNA。

3.3. 实时荧光定量 PCR 验证

采用实时定量 PCR 对 82 例 PBC 患者(包括前面进行测序实验的 3 例患者)、20 例正常对照和 20 例慢性乙型肝炎患者进行实验验证。验证结果显示,与正常对照组和慢性乙型肝炎患者相比,PBC 组中的 miR-410-3p 表达水平明显上调。见图 1。



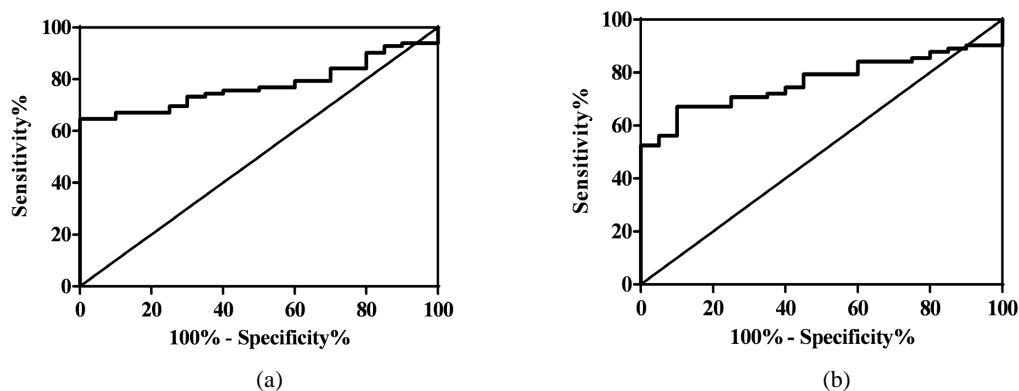
注: Control: 正常对照; PBC: 原发性胆汁性胆管炎; CHB: 慢性乙型肝炎。纵坐标为 miR-410-3p 的血清相对表达量。**** $P < 0.0001$ 。

Figure 1. The differential expression of miRNAs was verified by real-time quantitative PCR

图 1. 实时荧光定量 PCR 验证 miRNAs 的差异表达

3.4. 血清 miR-410-3p 对 PBC 的诊断价值

绘制 ROC 曲线评估 PBC 患者血清中 miR-410-3p 的临床价值。血清 miR-410-3p 在鉴别诊断 PBC 组和正常对照组时曲线下面积为 0.775 (0.688~0.862),当 miR-410-3p 最佳临界值为 1.44 时,敏感度为 64.6%,特异度为 95.0%。此外,血清 miR-410-3p 在评价 PBC 组和 CHB 组时曲线下面积为 0.791 (0.695~0.887)。当 miR-410-3p 取最佳临界值为 1.31 时,敏感度为 80.5%,特异度为 70.0%。见图 2。



注: (a)为 miR-410-3p 在鉴别诊断 PBC 组和正常对照组时的 ROC 曲线; (b)为 miR-410-3p 在鉴别诊断 PBC 组和慢性乙型肝炎组时的 ROC 曲线。

Figure 2. ROC curve of serum miR-410-3p for diagnosis and differential diagnosis of PBC

图 2. 血清 miR-410-3p 诊断及鉴别诊断 PBC 的 ROC 曲线

3.5. 靶基因预测

对经 qRT-PCR 验证表达下调的 miR-410-3p 进行靶基因预测。通过 TargetScan 和 miRDB 数据库分析

发现 miR-410-3p 共有 539 个靶基因，其中一些重要的靶基因与 T 细胞或 B 细胞的分化、活化、增殖、稳态等相关，一些靶基因与肝纤维化的发生和发展密切相关，见 miRNA-靶基因网络图，图 3。

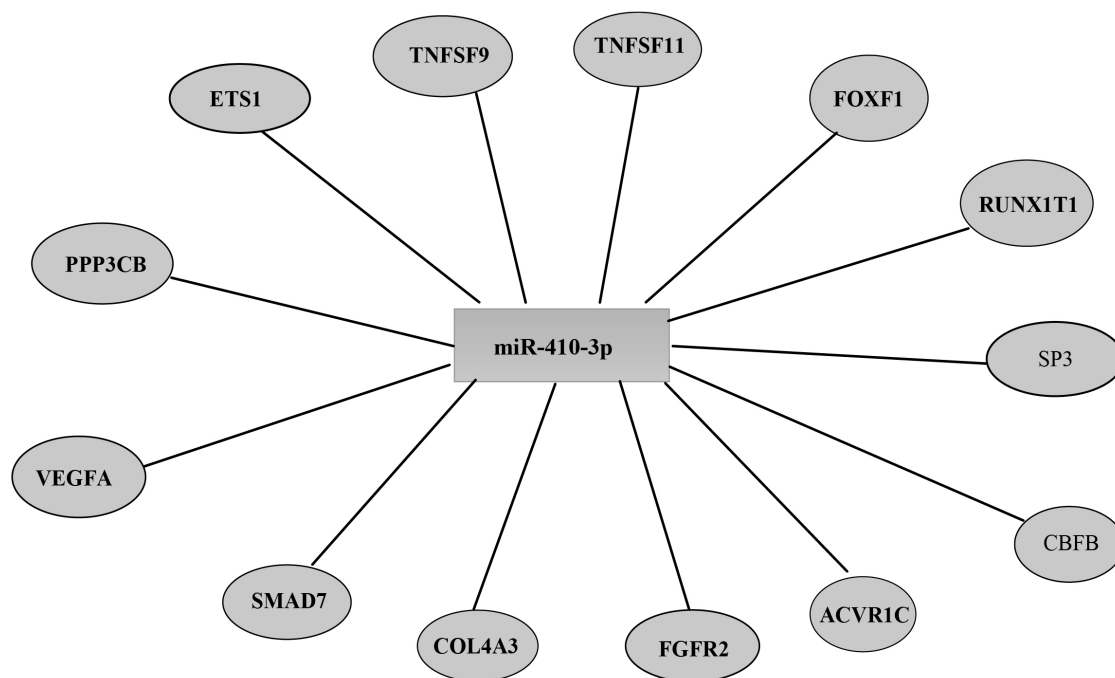


Figure 3. miRNA-target genes network of miR-410-3p

图 3. miR-410-3p 的 miRNA-靶基因网络图

4. 讨论

已知 miRNA 是一种内源性的、非编码的小 RNA 分子，长度约为 21~23 个核苷酸。miRNA 通过与下游 mRNA 的 3-UTR 区域不完全互补结合，从而抑制靶基因的转录和翻译，在转录后水平调节基因的表达[5] [6]。miRNA 参与细胞分裂，细胞分化，细胞增殖，细胞凋亡，癌变和免疫功能等许多重要的生物学过程。与其他自身免疫性疾病相似，最近的研究集中于 PBC 患者肝组织和外周血 PBMC 中特定的 miRNAs 表达谱。例如，有研究发现 miR-139-5p 在肝脏组织中明显上调，其高表达 miR-139-5p 后，其靶基因 c-FOS 蛋白的表达明显降低，TNF mRNA 及 TNF 表达显著升高，这表明 miR-139-5p 可能通过核因子- κ B (NF- κ B)信号通路参与了 PBC 的炎症调节过程[8]。另一项研究发现 PBC 患者胆管上皮细胞中 miRNA-506 表达上调，与阴离子交换蛋白 2 (anion exchanger 2, AE2)和肌醇 1,4,5-三磷酸受体 3 (type III isoform of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, InsP3R3)的活性降低有关，最终导致细胞内 Ca^{2+} 信号传导和胆汁碳酸氢盐分泌减少，从而引发胆汁淤积[9]。

PBC 是一种病因不明的自身免疫性肝病，其病理特征为肝内中、小胆管的进行性破坏，引起非化脓性胆管炎症，最终导致肝纤维化，肝硬化甚至肝衰竭。目前肝脏穿刺活检仍是诊断 PBC 的金标准，但组织活检是有创性检查，不能作为早期诊断 PBC 的首选检查。最近研究发现，PBC 患者的外周血中也能检测到 miRNAs [7] [10]，这些结果提示外周血 miRNAs 的检测有助于对疾病的早期诊断，预后评估甚至治疗反应监测。

本研究运用高通量测序技术筛选 PBC 患者和正常对照组间差异表达的 miRNAs，发现共有 94 个 miRNAs 表达失调，其中 60 个 miRNAs 表达上调，34 个 miRNAs 表达下调。用实时荧光定量 PCR 对

miR-410-3p 进行验证, 结果提示, 与正常对照、慢性乙型肝炎患者相比, miR-410-3p 的表达水平显著上调。通过靶基因预测, 本研究发现 miR-410-3p 的一些靶基因与 T 细胞或 B 细胞的分化、活化、增殖、稳态相关, 如 Ets-1 (E26 transformation-specific-1) 是 Th17 细胞和 B 细胞分化的负向调控因子[11]。Ets-1 的缺失促进 Th17 细胞的分化和 IL22、IL23 受体的过表达。此外, Ets-1 缺失可促使 B 细胞最终分化为分泌免疫球蛋白 M (IgM) 和免疫球蛋白 G (IgG) 的浆细胞[12]。据报道, miR-410-3p 在多种疾病中异常表达, 包括癌症和自身免疫性疾病, 调控细胞增殖、侵袭和迁移、凋亡与分化等多种生物学过程。有研究表明, miR-410-3p 在肺癌和结直肠癌中显著上调, 增强了癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力[13] [14]。先前的研究表明, miR-410-3p 在滑膜组织中表达水平明显下调, miR-410-3p 通过调节类风湿性关节炎中的 NF- κ B 信号通路, 抑制成纤维细胞样滑膜细胞的细胞因子释放[15]。然而, miR-410-3p 与 PBC 之间的关系尚未阐明。因此, 本研究首次提出 miR-410-3p 与 PBC 之间可能存在联系。

PBC 是一种免疫介导的慢性炎症性胆汁淤积性肝病, 临床症状与普通慢性肝病相似, 临床上一般以血清中检测出抗线粒体抗体(AMA)伴随碱性磷酸酶(ALP)升高为主要诊断依据。通过 ROC 分析, 结果提示, 血清 miR-410-3p 在诊断及鉴别诊断 PBC 和正常对照时, 敏感度为 64.6%, 特异度为 95.0%; miR-410-3p 在区分 PBC 和慢性乙型肝炎时, 敏感度为 80.5%, 特异度为 70.0%。miR-410-3p 对 PBC 可能有一定的诊断和鉴别诊断价值。但是 miR-410-3p 在个体之间的高度可变性或使用 miRNAs 进行临床诊断的方法标准化问题可能限制了 miR-410-3p 作为诊断性生物标志物的应用, 还需要进行大样本和多中心的研究来验证。

5. 总结

综上所述, 本研究通过检测 PBC 患者血清中差异表达的 miRNAs, 进一步丰富了 PBC 患者的血清 miRNAs 表达谱。血清 miR-410-3p 表达上调可能对 PBC 具有诊断价值。

基金项目

青岛大学附属医院青年科研基金资助项目(20141201)。

利益冲突

本人与其他作者宣称没有任何利益冲突, 未接受任何不当的职务或财务利益。

作者贡献声明

徐田田负责样本收集、实验验证、数据分析整理和文章撰写; 王战参与样本收集和实验验证; 李文帅参与样本收集和整理; 刘明军负责课题总体设计和文章修改。

参考文献

- [1] Wang, X., Wen, X., Zhou, J., *et al.* (2017) MicroRNA-223 and MicroRNA-21 in Peripheral Blood B Cells Associated with Progression of Primary Biliary Cholangitis Patients. *PLoS ONE*, **12**, e0184292. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184292>
- [2] Song, Y., Yang, H., Jiang, K., Wang, B.M. and Lin, R. (2018) MiR-181a Regulates Th17 Cells Distribution via Up-Regulated BCL-2 in Primary Biliary Cholangitis. *International Immunopharmacology*, **64**, 386-393. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.09.027>
- [3] Joshita, S., Umemura, T., Tanaka, E. and Ota, M. (2018) Genetics and Epigenetics in the Pathogenesis of Primary Biliary Cholangitis. *Clinical Journal of Gastroenterology*, **11**, 11-18. <https://doi.org/10.1007/s12328-017-0799-z>
- [4] Toh, B.H. (2017) Diagnostic Autoantibodies for Autoimmune Liver Diseases. *Clinical & Translational Immunology*, **6**, e139. <https://doi.org/10.1038/cti.2017.14>
- [5] Pan, H., Dai, H., Wang, L., *et al.* (2020) MicroRNA-410-3p Modulates Chondrocyte Apoptosis and Inflammation by Targeting High Mobility Group Box 1 (HMGB1) in an Osteoarthritis Mouse Model. *BMC Musculoskeletal Disorders*,

- 21, Article No. 486. <https://doi.org/10.1186/s12891-020-03489-7>
- [6] Zhang, L., Wu, H., Zhao, M., Chang, C. and Lu, Q. (2020) Clinical Significance of miRNAs in Autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*, **109**, Article ID: 102438. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102438>
- [7] 潘腾莉, 孙莉, 周兴蓓, 陈丽, 於学军, 谭友文. 血清 microRNA 表达谱对原发性胆汁性肝硬化的诊断价值[J]. 江苏大学学报, 2014, 24(3): 230-234.
- [8] Katsumi, T., Ninomiya, M., Nishina, T., *et al.* (2016) MiR-139-5p Is Associated with Inflammatory Regulation through c-FOS Suppression, and Contributes to the Progression of Primary Biliary Cholangitis. *Laboratory Investigation*, **96**, 1165-1177. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.95>
- [9] Rodrigues, P.M., Perugorria, M.J., Santos-Laso, A., *et al.* (2018) Primary Biliary Cholangitis: A Tale of Epigenetically-Induced Secretory Failure? *Journal of Hepatology*, **69**, 1371-1383. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.08.020>
- [10] 梁冬雨, 高得勇, 娄晓丽, 侯彦强. 原发性胆汁性肝硬化血浆 microRNA 表达谱的初步分析[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(8): 608-612.
- [11] Jadideslam, G., Ansarin, K., Sakhinia, E., *et al.* (2018) The MicroRNA-326: Autoimmune Diseases, Diagnostic Biomarker, and Therapeutic Target. *Journal of Cellular Physiology*, **233**, 9209-9222. <https://doi.org/10.1002/jcp.26949>
- [12] Xia, Y., Tao, J.H., Fang, X., *et al.* (2018) MicroRNA-326 Upregulates B Cell Activity and Autoantibody Production in Lupus Disease of MRL/lpr Mice. *Molecular Therapy—Nucleic Acids*, **11**, 284-291. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.02.010>
- [13] Wang, H., Feng, L., Zheng, Y., *et al.* (2020) LINC00680 Promotes the Progression of Non-Small Cell Lung Cancer and Functions as a Sponge of miR-410-3p to Enhance HMGB1 Expression. *Oncotargets and Therapy*, **13**, 8183-8196. <https://doi.org/10.2147/OTT.S259232>
- [14] Ma, Z.H., Shi, P.D. and Wan, B.S. (2021) MiR-410-3p Activates the NF- κ B Pathway by Targeting ZCCHC10 to Promote Migration, Invasion and EMT of Colorectal Cancer. *Cytokine*, **140**, Article ID: 155433. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155433>
- [15] Wang, Y., Hou, L., Yuan, X., *et al.* (2020) LncRNA NEAT1 Targets Fibroblast-Like Synoviocytes in Rheumatoid Arthritis via the miR-410-3p/YY1 Axis. *Frontiers in Immunology*, **11**, Article No. 1975. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01975>