

文章编号 1006-8147(2022)05-0525-05

论 著

多囊卵巢综合征外周血中 miR-132 和 SMAD4 的表达对颗粒细胞增殖和凋亡的影响

董蕾, 史天云

(南阳市第一人民医院妇科, 南阳 473200)

摘要 目的:探讨多囊卵巢综合征(PCOS)外周血中 miR-132 和 SMAD4 的表达水平及对卵巢颗粒细胞增殖和凋亡的影响。方法:收集 2019 年 5 月—2021 年 3 月接受治疗的 PCOS 患者(PCOS 组,85 例),同时期来院就诊的月经规律的健康女性 40 名设为对照组。采用全自动生化分析仪检测黄体生成素(LH)、睾酮(T)、雄烯二酮和卵泡刺激素(FSH)的水平,qRT-PCR 检测 miR-132、SMAD4 mRNA 相对表达水平,分析以上指标在两组间的差异及 PCOS 组中 miR-132 和 SMAD4 的相关性。分别将 si-NC 质粒、si-miR-132 质粒、miR-NC 质粒、SMAD4 mimic 质粒和 SMAD4 mimic+miR-132 mimic 质粒转至 KGN 细胞中,MTT 和流式细胞术分别检测转染细胞的增殖和凋亡。双荧光素酶报告实验检测 miR-132 和 SMAD4 靶向关系。结果:PCOS 组 LH、T、雄烯二酮和 miR-132 相对表达水平高于对照组,FSH 和 SMAD4 mRNA 相对表达水平低于对照组($t=3.618, 4.253, 15.412, 30.921, 5.207, 24.194$, 均 $P<0.05$)。PCOS 组中 miR-132 和 SMAD4 mRNA 的相对表达水平呈负相关($r=-0.876, P<0.001$)。si-miR-132 组中 miR-132 相对表达水平为 0.58 ± 0.07 , 低于 si-NC 组($2.68\pm 0.24, t=5.201, P<0.001$)。SMAD4 mimic 组 SMAD4 mRNA 水平为 1.89 ± 0.21 , 高于 miR-NC 组(0.82 ± 0.10)和 SMAD4 mimic+miR-132 mimic 组($0.63\pm 0.08, t=3.251, 4.012, P<0.05$)。si-miR-132 组细胞增殖率(30.5 ± 4.1)%低于 si-NC 组(65.3 ± 4.8)%($t=8.512, P<0.001$),细胞凋亡率(23.7 ± 4.2)%高于 si-NC 组(5.7 ± 1.8)%($t=7.625, P<0.001$)。SMAD4 mimic 组细胞增殖率(25.3 ± 4.6)%低于 miR-NC 组(63.3 ± 3.6)%和 SMAD4 mimic+miR-132 mimic 组(63.7 ± 5.8)%($t=3.210, 3.515, P<0.05$),细胞凋亡率(25.6 ± 3.7)%,高于 miR-NC 组(6.3 ± 2.0)%和 SMAD4 mimic+miR-132 mimic 组(6.3 ± 1.5)%($t=9.415, 10.320, P<0.001$)。miR-132 与 SMAD4 存在靶向结合位点,miR-132 可靶向调节 SMAD4。结论:miR-132 通过靶向调节 SMAD4 促进颗粒细胞的增殖并抑制其凋亡,可能参与 PCOS 的发病。

关键词 多囊卵巢综合征;微小 RNA-132;SMAD4 蛋白;颗粒细胞;增殖;凋亡

中图分类号 R711.75

文献标志码 A

Effects of miR-132 and SMAD4 expression in peripheral blood of polycystic ovary syndrome on the proliferation and apoptosis of granulosa cells

DONG Lei, SHI Tian-yun

(Department of Gynecology, Nanyang First People's Hospital, Nanyang 473200, China)

Abstract Objective: To detect the expression levels of miR-132 and SMAD4 in peripheral serum of polycystic ovary syndrome (PCOS), and analyze their effects on the proliferation and apoptosis of ovarian granulosa cells. **Methods:** A total of 85 patients with PCOS who received treatment in our hospital from May 2019 to March 2021 were collected as the PCOS group, and 40 healthy women with regular menstruation who came to the hospital during the same period were collected as the control group. An automatic biochemical analyzer was used to detect the levels of luteinizing hormone (LH), testosterone (T), and androstenedione and follicle stimulating hormone (FSH). qRT-PCR was used to detect the relative expression levels of miR-132 and SMAD4 mRNA, and the above indicators differences were analyzed between the two groups and analyzed correlation of miR-132 and SMAD4 in the PCOS group. The si-NC plasmid, si-miR-132 plasmid, miR-NC plasmid, SMAD4 mimic plasmid and SMAD4 mimic+miR-132 mimic plasmid were transferred to KGN cells respectively, and the proliferation and apoptosis rate of transfected cells were detected by MTT and flow cytometry. The dual luciferase reporter experiment detected the targeting relationship between miR-132 and SMAD4. **Results:** The relative expression levels of LH, T, androstenedione and miR-132 in the PCOS group were higher than those in the control group, and the relative expression levels of FSH and SMAD4 mRNA were lower than those in the control group ($t=3.618, 4.253, 15.412, 30.921, 5.207, 24.194$, all $P<0.05$). The relative expression levels of miR-132 and SMAD4 mRNA in the PCOS group were negatively correlated ($r=-0.876, P<0.001$). The relative expression level of miR-132 in si-miR-132 group was 0.58 ± 0.07 , which was lower than that in si-NC group ($2.68\pm 0.24, t=5.201, P<0.001$). The SMAD4 mRNA level in the SMAD4 mimic group was 1.89 ± 0.21 , which was higher than that in the miR-NC group (0.82 ± 0.10) and the SMAD4 mimic+miR-132 mimic group (0.63 ± 0.08) ($t=3.251, 4.012, P<0.05$). The cell proliferation rate in the si-miR-132 group was (30.5 ± 4.1)%, which was lower than that in the si-NC group (65.3 ± 4.8)% ($t=8.512, P<0.001$), and the apoptosis rate was (23.7 ± 4.2)%, which was high than that in si-NC

作者简介 董蕾(1980-),女,副主任医师,学士,研究方向:内分泌、产后康复;E-mail: xiaolei800906@163.com。

group($5.7\pm 1.8\%$) ($t=7.625, P<0.001$). The cell proliferation rate in the SMAD4 mimic group was ($25.3\pm 4.6\%$), which was lower than that in the miR-NC group ($63.3\pm 3.6\%$) and the SMAD4 mimic+miR-132 mimic group ($63.7\pm 5.8\%$) ($t=3.210, 3.515, P<0.05$), the apoptosis rate was ($25.6\pm 3.7\%$) higher than that in the miR-NC group ($6.3\pm 2.0\%$) and the SMAD4 mimic+miR-132 mimic group ($6.3\pm 1.5\%$) ($t=9.415, 10.320, P<0.001$). **Conclusion:** miR-132 promotes granulosa cell proliferation and inhibits apoptosis by targeting SMAD4, which may be involved in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome.

Key words polycystic ovary syndrome; microRNA-132; SMAD4 protein; granulosa cell; proliferation; apoptosis

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是育龄期女性较为常见的内分泌疾病,是导致生育率降低的原因之一^[1]。PCOS患者中与卵泡分化和排卵密切相关的颗粒细胞(granular cells, GC)表现出异常增殖或凋亡^[2]。最近研究显示,改善GC的病理改变可有效缓解PCOS症状^[3]。miRNA是非编码的小单链RNA分子,长度为18~24个核苷酸,通过靶向信使RNA的3'-非翻译区表达可调节基因,被视为不同疾病的独立生物标志物或治疗靶点^[4-5]。miRNA在生殖系统疾病中的致病作用已引起广泛关注^[6-7], miR-132位于人类17号染色体非编码基因的内含子中,据报道在各种疾病中发挥不同的作用,如血管内皮炎症、妊娠期糖尿病和牙周炎^[8-10]。Wu等^[11]研究显示,miR-132可影响卵巢颗粒细胞中的雌二醇合成的作用机制。此外,已有研究显示miRNA通过靶向SMAD4在转化生长因子(TGF)- β 1刺激后在卵巢颗粒细胞中发挥重要的生物学作用^[12]。而miR-132是否可通过调节SMAD4在PCOS中发挥一定作用,目前还不明确。本文旨在分析miR-132和SMAD4在PCOS的表达水平,以及对卵巢颗粒细胞的增殖和凋亡的影响,并进一步验证二者是否存在靶向关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集2019年5月—2021年3月接受治疗的PCOS患者85例,年龄21~35岁,纳入患者的诊断符合《PCOS中国诊疗指南》^[13],排除高雄激素血症、库欣综合征、非经典型先天性肾上腺皮质增生、卵巢或肾上腺分泌雄激素的肿瘤、功能性下丘脑性闭经、甲状腺疾病、高泌乳血症和早发性卵巢功能不全等。另收集同时期来院就诊的月经规律的健康女性40名作为对照组,年龄23~36岁。本研究经医院伦理委员会批准(批准文号:20192154),患者知情同意。

1.2 材料 人卵巢颗粒细胞KGN购于ATCC细胞库,血液RNA分离试剂盒购于赛默飞世尔科技,Trizol试剂购于北京索莱宝科技有限公司,TaqMan miRNA逆转录试剂盒购于赛默飞世尔科技,SYBR Premix Ex Taq II TM PCR试剂盒购于宝生物工程(大连)有限公司,si-NC(敲低miR-132对照质粒)、

si-miR-132(敲低miR-132质粒)、miR-NC(SMAD4模拟物对照质粒)、SMAD4 mimic(SMAD4模拟物)和SMAD4相关荧光素酶质粒(野生型WT、突变型MT)均由元生物技术(上海)股份有限公司合成,Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒和双荧光素酶报告基因检测试剂盒(RG027)购于碧云天生物技术有限公司。

1.3 外周血中指标的检测 抽取患者经期第2~5天时的空腹肘静脉血5 mL,放置4℃离心机中以3 000 r/min的速度离心15 min,将上清移至EP管中,放置-80℃冰箱中保存。全自动生化分析仪检测黄体生成素(LH)、睾酮(T)、雄烯二酮和卵泡刺激素(FSH)的水平。

1.4 qRT-PCR检测不同组间miR-132、SMAD4 mRNA相对表达水平 血液RNA分离试剂盒提取对照组和PCOS组外周血中总RNA,使用Trizol试剂提取KGN细胞中总RNA。利用NanoDrop 2000分光光度计检测RNA的浓度和纯度。TaqMan miRNA逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA。反应条件:37℃ 15 min设置3个循环,85℃ 5 s。以cDNA为模板,按SYBR Premix Ex Taq II TM实时荧光定量PCR试剂盒说明进行PCR扩增。U6的上游引物序列5'-GCTCCGCACGCAGGAG-3',下游引物序列为5'-CTACACGGGCGGACGT-3',GAPDH的上游引物序列5'-CATGGAGACGGCCAGCGTC-3',下游引物:5'-GTAGTCCGTGCTGAGATATC-3',miR-132的上游引物:5'-CTGGTAGGGTACAGTACTGTGATA-3',下游引物:5'-ATCGTGACCTGTAGGCCG-3'。SMAD4上游引物:5'-GACGGAGACGCTGCTGATAGCGTC-3',下游引物:5'-CGGCAGTTATACCGCCAA-GTCAACG-3'。PCR扩增体系共25 μ L(模板DNA 1 μ L,上游引物1 μ L,下游引物1 μ L,Taq DNA聚合酶0.25 μ L,10 \times Buffer 2.5 μ L,dNTP 2 μ L,ddH₂O 17.25 μ L)。反应条件:95℃预变性5 min,95℃变性30 s、60℃退火30 s、72℃延伸30 s共40个循环。采用2^{- $\Delta\Delta$ C_T}法计算目的基因相对表达量,SMAD4 mRNA相对表达水平以GAPDH为内参,miR-132相对表达水平以U6为内参,见图1~3。

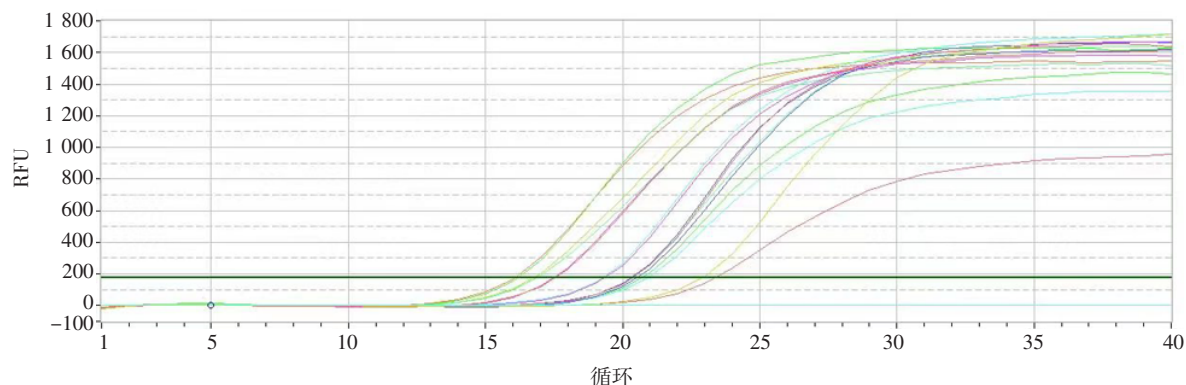


图 1 引物测试中扩增曲线

Fig 1 Amplification curve in primer test

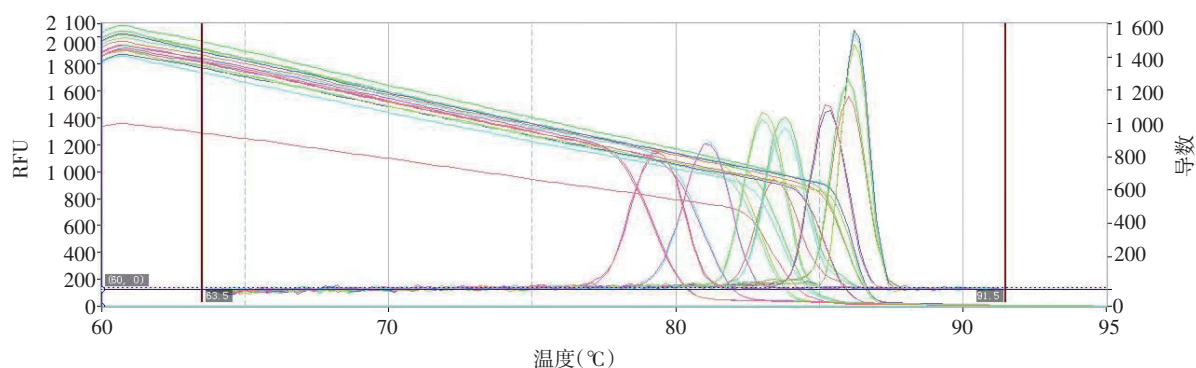


图 2 引物测试中溶解曲线

Fig 2 Dissolution curve in primer test

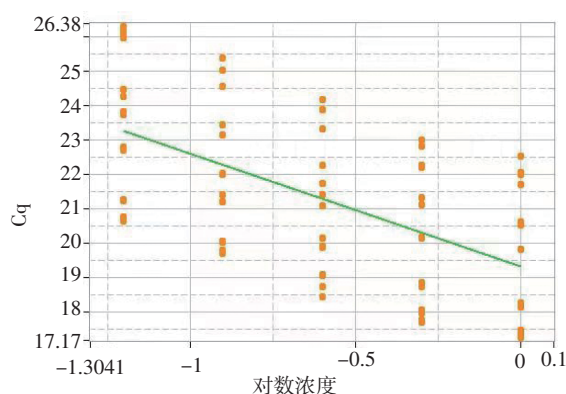


图 3 计算扩增效率时的标准曲线

Fig 3 Standard curve for calculating amplification efficiency

1.5 转染实验 取传 3 代,对数生长期、生长状态良好的 KGN 细胞。每孔 4×10^5 万个细胞,接种于 6 孔板,置于 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 恒温箱中,培养 24 h 后,随机分为 si-NC 组、si-miR-132 组、miR-NC 组和 SMAD4 mimic 组、SMAD4 mimic+miR-132 mimic 组,按 lipofectamine 2000 转染实际说明,分别转染 si-NC 质粒、si-miR-132 质粒、miR-NC 质粒、SMAD4 mimic 质粒和 SMAD4 mimic+miR-132 mimic 质粒。转染 6 h 后,更换新的培养基,继续培养 48 h,收集各组细胞,利用 qRT-PCR 技术检测转染效果。

1.6 MTT 实验检测细胞增殖 收集经转染处理 48 h 后 si-NC 组、si-miR-132 组、miR-NC 组和 SMAD4 mimic 组、SMAD4 mimic+miR-132 mimic 组的细胞,按照 5×10^3 个/孔的密度种于 96 孔板,每组设 6 个复孔。放置 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 恒温箱中培养 72 h,每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 $20 \mu\text{L}$,放置恒温箱中继续孵育 4 h。弃上清液,每孔加入 DMSO $150 \mu\text{L}$,充分混匀,使结晶物充分溶解。酶标仪于 570 nm 波长处检测各孔的吸光度值,并计算细胞的增殖率。

1.7 流式细胞术检测细胞凋亡率 收集经转染处理 48 h 后 si-NC 组、si-miR-132 组、miR-NC 组和 SMAD4 mimic 组、SMAD4 mimic+miR-132 mimic 组的细胞,以每孔 3×10^5 个密度接种至 6 孔板,于 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 恒温箱中孵育 48 h。收集细胞于 1.5 mL 的 EP 管中,放置离心机中以 1 000 r/min 的速度,离心 5 min,去上清。每管加入 Annexin V-FITC 结合液 $500 \mu\text{L}$ 重悬细胞,然后加入 Annexin V-FITC $5 \mu\text{L}$ 、PI $10 \mu\text{L}$,轻轻混匀,室温避光孵育 10 min,上流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.8 miR-132 靶向调控 SMAD4 的验证 以 KGN 细胞的 cDNA 为模板,通过 PCR 扩增,获取野生型和突变型序列,连接到野生型 SMAD4 3'UTR 和点

突变型 SMAD4 3'UTR。将 KGN 细胞接种于 12 孔板中,随机分为 SMAD4 WT 组、SMAD4 WT+miR-132mimic 组、SMAD4 MUT 组、SMAD4 MUT+miR-132 mimic 组,进行常规培养当细胞融合至 80%时,分别转染 SMAD4 WT 质粒、SMAD4 WT 质粒和 miR-132 mimic 质粒、SMAD41 MUT 质粒、SMAD4 MUT 质粒和 miR-132mimic 质粒。转染 48 h,收集细胞,按双荧光素酶活性检测试剂盒说明检测各组荧光素酶活性。

1.9 统计学处理 应用 SPSS21.0 软件行统计分析,计量资料均符合正态分布,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 $LSD-t$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组间一般临床资料和 miR-132、SMAD4 水平的比较 两组间年龄和 BMI 比较无统计学差异,PCOS 组 LH、T、雄烯二酮和 miR-132 相对表达水平高于对照组,FSH 和 SMAD4 mRNA 相对表达水平低于对照组,组间比较差异均有统计学($P < 0.05$),见表 1 和表 2。PCOS 组 miR-132 和 SMAD4 mRNA 的相对表达水平经 Pearson 相关性分析结果显示,两者呈负相关($r = -0.876, P < 0.001$)。

表 1 两组间一般临床资料、LH、T 和 FSH 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of general clinical data, LH, T and FSH levels between the two groups($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	LH(IU/L)	T(nmol/L)	FSH(IU/L)
对照组	40	28.41±4.52	24.14±2.54	5.32±0.86	0.84±0.14	7.51±1.24
PCOS 组	85	27.63±5.21	24.84±2.63	6.98±1.08	1.51±0.21	5.14±1.09
t		1.251	0.954	3.618	4.253	5.207
P		0.095	0.146	0.026	0.008	<0.001

注: BMI: 体重指数; LH: 黄体生成激素; T: 睾酮; FSH: 卵泡刺激素; PCOS: 多囊卵巢综合征

表 2 两组间雄烯二酮、miR-132 和 SMAD4 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of androstenedione, miR-132 and SMAD4 levels between the two groups($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	雄烯二酮(nmol/L)	miR-132	SMAD4 mRNA
对照组	40	8.01±1.04	0.87±0.06	2.08±0.24
PCOS 组	85	11.62±1.74	3.3±0.14	1.04±0.21
t		15.412	30.921	24.194
P		<0.001	<0.001	<0.001

注: miR-132: 微小 RNA132; SMAD4: 人母亲 DPP 同源物 4; PCOS: 多囊卵巢综合征

2.2 miR-132 逆转 SMAD4 对 KGN 细胞增殖和凋亡影响 si-miR-132 组中 miR-132 相对表达水平为 0.58 ± 0.07 , 低于 si-NC 组($2.68 \pm 0.24, t = 5.201, P < 0.001$)。

SMAD4 mimic 组 SMAD4 mRNA 水平为 1.89 ± 0.21 , 高于 miR-NC 组(0.82 ± 0.10)和 SMAD4 mimic+miR-132 mimic 组($0.63 \pm 0.08, t = 3.251, 4.012, P < 0.05$)。si-miR-132 组细胞增殖率低于 si-NC 组($t = 8.512, P < 0.001$), 细胞凋亡率高于 si-NC 组($t = 7.625, P < 0.001$)。SMAD4 mimic 组细胞增殖率低于 miR-NC 组和 SMAD4 mimic+miR-132 mimic 组($t = 3.210, 3.515, P < 0.05$), 细胞凋亡率高于 miR-NC 组和 SMAD4 mimic+ miR-132 mimic 组($t = 9.415, 10.320, P < 0.001$), 见表 3。

表 3 miR-132 逆转 SMAD4 对 KGN 细胞增殖和凋亡影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 The effect of miR-132 reversal of SMAD4 on the proliferation and apoptosis of KGN cells($\bar{x} \pm s$)

分组	增殖率(%)	凋亡率(%)
si-NC 组	65.3±4.8	5.7±1.8
si-miR-132 组	30.5±4.1	23.7±4.2
miR-NC 组	63.3±3.6	6.3±2.0
SMAD4 mimic 组	25.3±4.6	25.6±3.7
SMAD4 mimic+miR-132 mimic 组	63.7±5.8	6.3±1.5

2.3 miR-132 靶向调节 SMAD4 miR-132 与 SMAD4 存在靶向结合位点, 见图 4。SMAD4 WT+miR-132 mimic 组荧光素酶活性低于其他 3 组($t = 3.015, 3.521, 3.628$, 均 $P < 0.05$), 其他 3 组间荧光素酶活性比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 4。

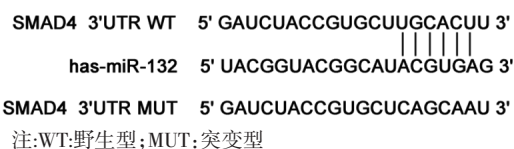


图 4 miR-132 靶向调节 SMAD4

Fig 4 miR-132 targeted regulation of SMAD4

表 4 组间荧光素酶活性的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Comparison of luciferase activity between groups($\bar{x} \pm s$)

分组	荧光素酶活性
SMAD4 WT 组	3.54±0.58
SMAD4 WT+miR-132 mimic 组	1.32±0.16
SMAD4 MUT 组	3.47±0.49
SMAD4 MUT+miR-132 mimic 组	3.52±0.50

注: WT: 野生型; MUT: 突变型

3 讨论

GC 的异常增殖和卵泡停滞与 PCOS 的发展有关, KGN 细胞系是一种有效的颗粒细胞模型, 保留了 GC 的正常生理特点, 已成功应用于探索 GC 在多种疾病中的生物功能和分子机制。在本研究中, 首先检测到 PCOS 组外周血中 miR-132 相对表达

水平高于对照组,SMAD4 mRNA 相对表达水平低于对照组。推断 miR-132 的过表达和 SMAD4 的低表达可能与 PCOS 的发病机制有关。

研究显示,miR-132 在不同器官中均发挥作用^[14-16],亦有研究显示在 PCOS 中表达异常^[17],但对 GC 的调节作用还不明确。KGN 细胞已被广泛用于研究 GC 的细胞生长和凋亡,既往研究也有发现,miRNA 的调控可影响 KGN 细胞的增殖和凋亡,与 PCOS 发病有关^[18]。同样,本研究证实 miR-132 表达的下调可抑制 KGN 细胞的增殖并促进其凋亡,说明 miR-132 可能通过抑制 KGN 细胞增殖和促进细胞凋亡,参与 PCOS 的发病机制。据本研究发现,miR-132 可以调节 SMAD4 参与 PCOS 的发展。通过构建 SMAD4 过表达的 KGN 细胞后发现,SMAD4 过表达可明显抑制 KGN 细胞增殖并促进凋亡,然而构建 miR-132 和 SMAD4 均过表达的 KGN 细胞后发现,与 SMAD4 mimic 组相比过表达 SMAD4 mimic+miR-132 mimic 组细胞增殖率增加,凋亡率降低,说明 miR-132 可逆转 SMAD4 抑制 KGN 细胞增殖的作用。进一步由双萤光素酶活性检测试验显示,miR-132 可直接靶向结合 SMAD4 mRNA 基因序列,形成 RNA 诱导沉默复合体,达到抑制翻译的目的,从而降低 SMAD4 蛋白的表达,解释了 miR-132 逆转 SMAD4 抑制 KGN 细胞增殖的作用。

综上所述,本研究报道了 PCOS 患者外周血中 miR-132 表达水平的异常升高,SMAD4 表达水平降低。体外实验证实,miR-132 可促进人颗粒状细胞增殖并抑制凋亡,SMAD4 可抑制人颗粒细胞增殖并促进凋亡。分子机制的进一步探索表明,miR-132 可靶向调节 SMAD4 的表达。通过评估 miR-132 和 SMAD4 在 PCOS 中的生物学功能,便于更好的理解 miRNA 在 PCOS 发生和发展中的作用,为 PCOS 的治疗提供新的方向。

参考文献:

- [1] MEIER R K. Polycystic ovary syndrome[J]. Nurs Clin North Am, 2018,53(3):407-420.
- [2] PENG S L, WU Q F, XIE Q, et al. PATL2 regulated the apoptosis of ovarian granulosa cells in patients with PCOS[J]. Gynecol Endocrinol, 2021,37(7):629-634.
- [3] ZHANG J F, YU C M, YAN L L, et al. Effect of anti-mullerian hormone on stem cell factor in serum, follicular fluid and ovarian granulosa cells of polycystic ovarian syndrome patients[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018,22(22):7877-7882.
- [4] RUPAIMOOLE R, SLACK F J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. Nat Rev Drug Discov, 2017,16(3):203-222.
- [5] MISHRA S, YADAV T, RANI V. Exploring miRNA based approaches in cancer diagnostics and therapeutics[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2016,98:12-23.
- [6] BJORKMAN S, TAYLOR H S. MicroRNAs in endometriosis: biological function and emerging biomarker candidates[J]. Biol Reprod, 2019,100(5):1135-1146.
- [7] CHEN B, XU P, WANG J, et al. The role of MiRNA in polycystic ovary syndrome(PCOS)[J]. Gene, 2019,706:91-96.
- [8] WANG W, LI X, REN L, et al. MiR-132 relieves vascular endothelial inflammation and improve endothelial function in atherosclerosis rats by regulating SIRT1[J]. Minerva Endocrinol, 2019,45:158-161.
- [9] HAN Y, WANG F, SHAO L, et al. LncRNA TUG1 mediates lipopolysaccharide-induced proliferative inhibition and apoptosis of human periodontal ligament cells by sponging miR-132[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2019,51:1208-1215.
- [10] ZHOU X, XIANG C, ZHENG X. miR-132 serves as a diagnostic biomarker in gestational diabetes mellitus and its regulatory effect on trophoblast cell viability[J]. Diagn Pathol, 2019,14(1):119.
- [11] WU S, SUN H, ZHANG Q, et al. MicroRNA-132 promotes estradiol synthesis in ovarian granulosa cells via translational repression of Nurrl[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2015,13:94.
- [12] YAO G, YIN M, LIAN J, et al. MicroRNA-224 is involved in transforming growth factor-beta-mediated mouse granulosa cell proliferation and granulosa cell function by targeting Smad4[J]. Mol Endocrinol, 2010,24(3):540-551.
- [13] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组. 多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J]. 中华妇产科杂志, 2018,53(1):2-6.
- [14] ZHANG F Y, ZHEN Y F, GUO Z X, et al. MiR-132/212 promotes the growth of precartilaginous stem cells(PCSCs) by regulating Ihh/PTHrP signaling pathway[J]. Biosci Rep, 2020,40(5):BSR20191654.
- [15] MZIAUT H, HENNIGER G, GANSS K, et al. MiR-132 controls pancreatic beta cell proliferation and survival through Pten/Akt/Foxo3 signaling[J]. Mol Metab, 2020,31:150-162.
- [16] QAZI T J, LU J, DURU L, et al. Upregulation of mir-132 induces dopaminergic neuronal death via activating SIRT1/P53 pathway[J]. Neurosci Lett, 2021,740:135465.
- [17] LI H, ZHANG P, LI F, et al. Plasma miR-22-5p, miR-132-5p, and miR-150-3p are associated with acute myocardial infarction[J]. Biomed Res Int, 2019,2019:5012648.
- [18] HUANG X, SHE L, LUO X, et al. MiR-222 promotes the progression of polycystic ovary syndrome by targeting p27 Kip1[J]. Pathol Res Pract, 2019,215(5):918-923.

(2022-01-13 收稿)