



Mir-219-5p Alleviates Spinal Cord Injury in PC12 Cells Induced by Lipopolysaccharide by Targeting KLF4

Lei CHEN¹, Wei LIU², Sheng-li ZHANG¹,
Hong-xian CHEN¹, Da-ping WANG¹ & Li-jun LIU^{1*}

¹ Department of Traumatic Orthopedics, The First Affiliated Hospital of Shenzhen University
(Shenzhen Second People's Hospital),

518000, Shenzhen, China

² College of Pharmaceutical and Chemical Engineering,
Guangdong Pharmaceutical University,
Guangzhou, 528458, China

SUMMARY. Spinal cord injury (SCI) not only brings severe physical and psychological harm to patients but also causes a substantial economic burden on the whole society. MicroRNAs (miRNAs) play crucial roles in the pathogenesis of SCI. The study aimed to investigate the role of miR-219-5p in lipopolysaccharide (LPS)-simulated inflammatory injury in rat adrenal pheochromocytoma (PC12) cells and associated mechanism. The expression of miR-219-5p and kruppel-like factor 4 (KLF4) was measured using quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Cell viability and cell apoptosis were assessed by cell count kit-8 (CCK-8) assay and flow cytometry assay, respectively. The release of inflammatory cytokines, including interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6), was detected by enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA). The relationship between miR-219-5p and KLF4 was predicted by online bioinformatics tool Diana and verified by dual-luciferase reporter assay. The expression of KLF4 at the protein level was quantified by western blot. The expression of miR-219-5p was declined in serum from SCI patients and LPS-induced PC12 cells, while the expression of KLF4 was enhanced. Enrichment of miR-219-5p promoted cell viability, inhibited cell apoptosis, and blocked the release of inflammatory cytokines in LPS-induced PC12 cells. KLF4 was a direct target of miR-219-5p, and its overexpression could abolish the effects of miR-219-5p enrichment on PC12 cells. In conclusion, MiR-219-5p modulates inflammatory injury in LPS-induced PC12 cells via competitively targeting KLF4, and miR-219-5p/KLF4 axis was a potential therapeutic strategy for SCI.

RESUMEN. La lesión de la médula espinal (LME) no solo causa graves daños físicos y psicológicos a los pacientes, sino que también causa una carga económica sustancial en toda la sociedad. Los microARN (miARN) juegan papeles cruciales en la patogénesis de las LME. El estudio tuvo como objetivo investigar el papel de miR-219-5p en la lesión inflamatoria simulada por lipopolisacárido (LPS) en células de feocromocitoma suprarrenal de rata (PC12) y el mecanismo asociado. La expresión de miR-219-5p y el factor 4 similar a kruppel (KLF4) se midió usando una reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR). La viabilidad celular y la apoptosis celular se evaluaron mediante el ensayo del kit de recuento celular 8 (CCK-8) y el ensayo de citometría de flujo, respectivamente. La liberación de citocinas inflamatorias, incluidas la interleucina-1 β (IL-1 β), el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y la interleucina-6 (IL-6), se detectó mediante un ensayo de sorbente inmune ligado a enzimas (ELISA). La relación entre miR-219-5p y KLF4 fue predicha por la herramienta de bioinformática en línea Diana y verificada por el ensayo de indicador de luciferasa dual. La expresión de KLF4 a nivel de proteína se cuantificó por transferencia de western. La expresión de miR-219-5p se redujo en suero de pacientes con LME y células PC12 inducidas por LPS, mientras que la expresión de KLF4 se mejoró. El enriquecimiento de miR-219-5p promovió la viabilidad celular, inhibió la apoptosis celular y bloqueó la liberación de citocinas inflamatorias en las células PC12 inducidas por LPS. KLF4 fue un objetivo directo de miR-219-5p, y su sobreexpresión podría abolir los efectos del enriquecimiento de miR-219-5p en las células PC12. En conclusión, MiR-219-5p modula la lesión inflamatoria en células PC12 inducidas por LPS a través de KLF4 de forma competitiva, y el eje miR-219-5p / KLF4 era una estrategia terapéutica potencial para la LME.

KEY WORDS: inflammatory injury, lipopolysaccharide, MiR-219-5p, KLF4, spinal cord injury.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: hefan0861353@163.com