

microRNA-21 在糖尿病肾病发病机制中的研究进展

廖华君¹, 文小敏¹, 许 帅² 综述 朱章志³ 审校

摘要 糖尿病肾病(DN)是糖尿病较为常见的微血管并发症之一,也是导致患者出现终末期肾脏疾病的重要原因,然而DN的发病机制目前尚未明确。近年来研究显示 microRNAs 与 DN 关系密切,尤其是 microRNA-21 更是成为研究的热点。该文主要从 microRNA-21 介导 DN 的常见的 3 条信号通路途径(TGF- β /Smad 信号途径、PTEN/PI3K/AKT 信号途径、MMP-9/TIMPS 信号途径)进行综述。

关键词 糖尿病肾病; microRNA-21; 信号途径

中图分类号 R 587.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)09-1482-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.09.036

微小 RNAs (microRNAs, miRNAs) 是一类参与基因转录后水平调控的内源性非编码单链小分子 RNA,其通过利用碱基配对原则识别靶基因 3' 非编码区的靶位点,从而抑制目标 mRNA 或降解目标 mRNA,在转录后水平调控基因的表达。microRNA-21 参与了细胞的多种活动,如发育、增殖、分化、代谢以及凋亡等。microRNA-21 与心血管疾病^[1]、胰岛素抵抗、肿瘤、糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)等关系密切,尤其是近年来 microRNA-21 在 DN 的发病机制研究中更是成为研究热点,现综述如下。

1 microRNA-21 概述

microRNA 家族众多, microRNA-21 为其重要成员,其位于 17q23.2 染色体上,与编码跨膜蛋白的基因 VMP1、人乳头状瘤病毒 16(HVP16) 以及编码 RNA U6 的基因整合位点的位置相重叠^[2]。通过抑制靶基因 mRNA 的翻译过程, microRNA-21 参与了细胞的多种代谢过程。microRNA-21 在生物调节方

面涉及到两个水平,分别是转录水平与转录后水平。在转录水平方面, microRNA-21 基因的表达由多种转录因子调控,并不受基因启动子调节。现代研究^[3-4]表明,转录因子 Ets/PU.1 以及 Stat3、P53、Ets/PU.1 等均可诱导 microRNA-21 的转录;转录因子 C/EBP α 、Gfil 以及 NF1 等却可抑制其转录。在转录后水平方面,骨形成蛋白激活 Droscha 复合体以及转化因子- β ,可令 microRNA-21 的生成增加^[5-6]。BMPRIa 途径可抑制或减缓 microRNA-21 的生成^[7]。

microRNA-21 的过度表达与多种肿瘤、心血管疾病关系密切^[8]。直至近年来,研究人员发现 microRNA-21 与肾脏纤维化也具有紧密的关联。研究^[8]表明, microRNA-21 在细胞的发育、分化、增殖与凋亡中具有重要作用,且其在大多数的疾病中表达上调。

2 microRNA-21 介导 DN 的信号途径

DN 是糖尿病常见的并发症之一,发病隐匿,最终可发展至严重的肾衰竭,对患者的健康构成极大的威胁。研究^[9]表明,所有 DM 患者中,有 15% ~ 40% 的患者会发展为 DN。DN 病理可表现为肾小球肥大,基底膜增厚,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)堆积,后期出现肾小球硬化、肾小管纤维化^[10]。然而, DN 的发病机制极其复杂,目前尚未完全清楚。近几年的研究表明, microRNA-21 与 DN 的关系密切。

2.1 microRNA-21 与 TGF- β /Smad 信号途径 转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β) 家族庞大,包括 TGF- β 家族、骨形态发生蛋白家族以及抑制素/活化素家族,由大量结构相关的多肽生长因子组成。TGF- β 家族有多种同分异构体,在哺乳动物的体内通常有 3 种形式: TGF- β 1、TGF- β 2 与 TGF- β 3。各异构体的分布具有组织特异性,其中肾脏主要以 TGF- β 1 为主,且重点在肾小球与肾小管上皮表达^[11]。越来越多的研究^[12]表明,在 DN 的发病机制中, TGF- β 占有重要的地位。激活 TGF- β /Smads 信号通路,可促进 ECM 在肾脏组织细胞中的

2018-04-09 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81273740)

作者单位: ¹ 南方医科大学中医药学院中医临床基础教研室, 广州 510515

² 深圳市宝安区中医院, 深圳 518133

³ 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405

作者简介: 廖华君,男,博士,讲师,责任作者, E-mail: shangyisure@163.com

沉积,加快肾小球与肾小管细胞的肥大,加剧肾小球硬化,促进肾间质的纤维化。

研究^[13]表明,TGF- β 通过调节某些 microRNA 的表达,尤其是 microRNA-21 的表达,加剧 DN 肾纤维化的进程。Lai et al^[14]研究发现,TGF- β 1 可调控 microRNA-21 的表达,而过表达的 microRNA-21,则可抑制肿瘤细胞的凋亡。Wang et al^[15]研究显示,在浓度依赖和时间依赖上 TGF- β 1 可上调 microRNA-21,不仅如此,过表达的 microRNA-21 又可通过直接下调 smad7/p-smad7 和间接上调 smad3/p-smad3,上调 α -SMA 的表达,从而增加肾上皮细胞间充质转变。因此,通过调控 microRNA-21 的表达,从而抑制 DN 的肾纤维化,则不失为一个可以考虑选择的治疗靶点。Zhong et al^[16]研究发现,microRNA-21 作用的靶基因可能是 Smad7,在实验中敲除 microRNA-21 后,Smad7 较之前又得到了恢复,而且肾脏的纤维化程度得到改善,其机制与 TGF- β 1 和 NF- κ B 的信号通路被抑制相关。

Zarjou et al^[17]发现敲除 microRNA-21 可以减轻单侧输尿管梗阻诱导的肾纤维化,其机制可能通过减少纤维蛋白的表达与减轻炎症巨噬细胞对肾脏的浸润。Wang et al^[18]研究发现,通心络制剂可以通过上调 p-smad3/smard3、 α -SMA,下调 smad7、E-钙黏蛋白,从而降低 microRNA-21 在血清以及组织细胞中的表达。Lan^[19]在实验中观察发现,抑制 Smad7 的表达,则会促进 Smad3 介导的肾纤维化的进程以及 NF- κ B 介导的炎症反应。在足细胞培养中,Lai et al^[14]发现,通过抑制 microRNA-21 可以激活 TGF- β /Smad3 信号通路以及增加细胞的凋亡。Wang et al^[20]发现血清 microRNA-21 可以增加 Smad7 的表达,与肾小球基底膜、肾小球面积、ACR、胶原纤维含量呈正相关性,而与内生肌酐清除率呈负相关性。因此,血清 microRNA-21 可能作为 DN 的一种有潜在价值的诊断生物标志物。

2.2 microRNA-21 与 PTEN/PI3K/AKT 信号途径 染色体 10 上缺失的磷酸酶与张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homologue on chromosome ten,PTEN)具有双重特异磷酸酯酶的活性,早期被认为是抑癌基因。但是,随着近年来的研究深入,PTEN 目前被认为同时也是蛋白激酶(AKT)的负性调节器。

Shi et al^[21]研究发现,microRNA-21 以及其靶蛋白 PTEN 可促进许多种类的组织细胞的增殖,有报道称 microRNA-21 通过 PTEN/PI3K/Akt 信号通路,

增强组织细胞的增殖。研究^[22]表明,PTEN 高表达可以抑制 Akt 的活化,改善肾脏足细胞表型的变化,提示 PTEN 通过负调控 PI3K/Akt 通路,可以减轻肾脏足细胞损伤。众多研究^[23-24]结果提示,PTEN 可能是一种肾脏保护基因。在早期 DN 中,随着肾小球损伤的加剧,作为 p-Akt 的负调节基因 PTEN 表达也在逐渐的下降,这表明 PI3K/Akt 信号通路在早期 DN 的进展中起着非常重要的作用^[25]。PTEN 与 Notch1 与肾小管间质纤维化密切相关,研究^[26]结果表明高糖通过 Notch1/Hes1 信号通路下调 PTEN 的表达以抑制自噬,从而促进 DN 的肾小管间质纤维化。研究^[27]显示,PTEN 是 microRNA-21 的靶点,microRNA-21 直接作用于靶基因 PTEN 和 SMAD7 的 3'-UTR 部位,并且抑制其表达。Dey et al^[28]研究表明 microRNA-21 是一种能够将高糖与 PTEN 抑制联系起来的信号分子,从 1 型糖尿病的小鼠肾皮质结果显示,microRNA-21 的水平明显增加以及 PTEN 明显的减少,纤维蛋白的增加,microRNA-21 可以调节 PTEN 的水平以及 Akt/TORC1 活性,从而介导了糖尿病性肾病的病理改变。研究^[29]表明,microRNAs 是基因组的强有力的调控因子,而全球表达谱显示 microRNA-21 是糖尿病肾病小鼠肾脏中最受调控的 microRNA,在糖尿病患者的肾脏活检中,microRNA-21 与肾小管间质损伤紧密相关。因此,microRNA-21 可能成为治疗 DN 患者的可行性的选择。McClelland et al^[30]研究表明,microRNA-21 的上调与 DN 肾纤维化的严重程度、肾功能的下降速度呈正相关性,肾纤维化的改变与 microRNA-21 水平升高相关,microRNA-21 的升高可以分别抑制 Smad7 和 PTEN,从而调节 TGF/Smad3 细胞信号通路以及 PI3K 信号通路,最终导致肾纤维化的改变。综合而言,microRNA-21 对肾小管细胞外基质的合成及沉积起着关键的调节作用,microRNA-21 抑制剂可通过 PTEN/PI3K/Akt 信号通路抑制细胞的增殖、迁移和侵袭^[31]。

2.3 microRNA-21 与 MMP-S/TIMPS 信号途径

生理情况下,细胞外基质的合成与降解代谢达到平衡状态。DN 的主要病理特征便是 ECM 的积聚。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases,MMP-s)及金属蛋白酶组织抑制物(tissue inhibitors of metalloproteinases,TIMP-s)在细胞外基质降解系统中起关键作用。众多研究表明,MMP-s 与 TIMP-s 在 DN 的发病机制中起着极为关键的作用。Wang et al^[32]研究表明,在实验动物体内,microRNA-21 的表达与

TIMP1、ACR、FN、IV 胶原呈正相关性,与 MMP-9 蛋白、内生肌酐清除率呈负相关性。Zhang et al^[33] 发现金丝桃苷通过抑制 IV 胶原、TIMP-1、FN 的表达,增加 MMP-2、MMP-9 的表达。结果表明,MMP-9 为 microRNA-21 的靶目标,金丝桃苷通过下调 microRNA-21 的表达,增加 MMP-9 的表达,从而改善 DN 中的肾小球硬化。Fiorentino et al^[34] 研究发现在糖尿病环境下,肾脏中的 TIMP3 表达减少。在 DN 小鼠中,microRNA-21 和 microRNA-221 表达上调,microRNA-21 和 microRNA-221 的靶基因为 TIMP3,因此在 DN 中增加特定与 TIMP-3 相关联的 microRNAs 的表达,可能是导致 TIMP-3 减少的原因。

3 问题与展望

DN 是糖尿病常见的并发症之一,病情呈渐进性加重,最后出现肾功能衰竭。目前,现代医学对 DN 尚缺乏有效的治疗手段,且因其发病机制尚未完全阐明,所以给治疗带来难题。近年来,研究人员对 microRNA-21 影响 DN 的发病机制研究颇多,然而至今仍处于探索状态,大部分研究表明 microRNA-21 通过多途径、多靶点促进 DN 的发生与发展,然而同时也有文献认为 microRNA-21 对 DN 具有保护性作用,至今尚是一个争论性的问题。因此,将来尚需做大量的实验与临床研究,通过更加强有力的证据对此争议进行证实。总之,microRNA-21 作为一种潜在的治疗靶点,可为 DN 的治疗提供一个有价值的新思路。

参考文献

[1] Gupta S K , Itagaki R , Zheng X , et al. miR-21 promotes fibrosis in an acute cardiac allograft transplantation model [J]. *Cardiovasc Res* 2016 ,110(2) : 215 - 26.

[2] Du J , Yang S , An D , et al. BMP-6 inhibit microRNA-21 expression in breast cancer through repressing deltaEF1 and AP-1 [J]. *Cell Res* 2009 ,19(4) : 487 - 96.

[3] Fujita S , Ito T , Mizutani T , et al. miR-21 Gene expression triggered by AP-1 is sustained through a double-negative feedback mechanism [J]. *J Mol Biol* 2008 ,378(3) : 492 - 504.

[4] Choy M K , Movassagh M , Siggins L , et al. High-throughput sequencing identifies STAT3 as the DNA-associated factor for p53-NF-kappaB complex-dependent gene expression in human heart failure [J]. *Genome Med* 2010 ,2(6) : 37.

[5] Loffler D , Brocke-Heidrich K , Pfeifer G , et al. Interleukin-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer [J]. *Blood* 2007 ,110(4) : 1330 - 3.

[6] Velu C S , Baktula A M , Grimes H L. Gfi1 regulates miR-21 and

miR-496b to control myelopoiesis [J]. *Blood* ,2009 ,113(19) : 4720 - 8.

[7] Sahni V , Mukhopadhyay A , Tysseling V , et al. BMPRIa and BMPRIb signaling exert opposing effects on gliosis after spinal cord injury [J]. *J Neurosci* 2010 ,30(5) : 1839 - 55.

[8] 杨寿娟 , 张颖 , 刘真. 冠心病患者外周血中 miRNA-21 的表达水平及其临床意义 [J]. *中国应用生理学杂志* ,2015 ,31(2) : 127 - 31.

[9] Pavkov M E , Knowler W C , Hanson R L , et al. Diabetic nephropathy in American Indians , with a special emphasis on the Pima Indians [J]. *Curr Diab Rep* 2008 ,8(6) : 486 - 93.

[10] Xu P , Guan M P , Bi J G , et al. High glucose down-regulates microRNA-481a-5p to increase pro-fibrotic gene expression by targeting early growth response factor 1 in HK-2 cells [J]. *Cell Signal* , 2017 ,31: 96 - 104.

[11] Høj T L , Fog-Tonnesen M , Nielsen F L , et al. Smad2 phosphorylation in diabetic kidney tubule epithelial cells is associated with modulation of several transforming growth factor-beta family members [J]. *Nephron* 2017 ,135(4) : 291 - 306.

[12] Al-Rasheed N M , Al-Rasheed N M , Al-Amin M A , et al. Fenofibrate attenuates diabetic nephropathy in experimental diabetic rat's model *via* suppression of augmented TGF-beta1/Smad3 signaling pathway [J]. *Arch Physiol Biochem* 2016 ,122(4) : 186 - 94.

[13] Liu X , Hong Q , Wang Z , et al. Transforming growth factor-beta-sphingosine kinase 1/S1P signaling upregulates microRNA-21 to promote fibrosis in renal tubular epithelial cells [J]. *Exp Biol Med (Maywood)* 2016 ,241(3) : 265 - 72.

[14] Lai J Y , Luo J , O'Connor C , et al. MicroRNA-21 in glomerular injury [J]. *J Am Soc Nephrol* 2015 ,26(4) : 805 - 16.

[15] Wang J Y , Gao Y B , Zhang N , et al. miR-21 overexpression enhances TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition by target smad7 and aggravates renal damage in diabetic nephropathy [J]. *Mol Cell Endocrinol* 2014 ,392(1 - 2) : 163 - 72.

[16] Zhong X , Chung A C , Chen H Y , et al. MiR-21 is a key therapeutic target for renal injury in a mouse of type diabetes [J]. *Diabetologia* 2013 ,56(3) : 663 - 74.

[17] Zarjou A , Yang S , Abraham E , et al. Identification of a microRNA signature in renal fibrosis: role of miR-21 [J]. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011 ,301(4) : F793 - 801.

[18] Wang J Y , Gao Y B , Zhang N , et al. Tongxinluo ameliorates renal structure and function by regulating miR-21-induced epithelial-to-mesenchymal transition in diabetic nephropathy [J]. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014 ,306(5) : F486 - 95.

[19] Lan H Y. Transforming growth factor-beta/Smad signalling in diabetic nephropathy [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2012 ,39(8) : 731 - 8.

[20] Wang J , Duan L , Tian L , et al. Serum miR-21 may be a potential diagnostic biomarker for diabetic nephropathy [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2016 ,124(7) : 417 - 23.

[21] Shi B , Deng W , Long X , et al. miR-21 increases c-kit + cardiac stem cell proliferation *in vitro* through PTEN/PI3K/Akt signaling [J]. *Peer J* 2017 ,5: e2859.

网络出版时间: 2018-8-2 09:40 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180731.1310.037.html>

microRNA 调控自噬在心肌缺血再灌注损伤中的研究进展

杨红星¹, 李绍旦² 综述 杨明会² 审校

摘要 心肌缺血再灌注损伤是缺血性心脏病中的治疗难点。在其诸多机制中,近年来自噬引起了研究者的关注。自噬是细胞内一种通过溶酶体降解长寿命蛋白和受损细胞器的代谢途径,在细胞应激过程中起到了重要作用。microRNA 作为近年来广为研究的转录后调控者,其在自噬调控过程中的具体作用和分子机制仍然有待于更多深入研究,该文综述近年来关于 microRNA 通过调控自噬的具体环节从而干预心肌缺血再灌注损伤的研究,为基础与临床研究提供参考。

关键词 microRNA; 自噬; 心肌缺血再灌注损伤

中图分类号 R 34; R 541

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)09-1485-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.09.037

2018-02-28 接收

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(编号: 2012CB518601)

作者单位: ¹ 北京中医药大学第一临床医学院,北京 100029

² 解放军总医院中医部,北京 100853

作者简介: 杨红星,男,博士研究生;

杨明会,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: ymh9651@sina.com

心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)是指在原发或继发的缺血性心脏疾病中恢复心肌缺血部位的血液供应后却加剧了缺血心肌的应激反应和细胞死亡的病理生理过程。导致 MIRI 的具体机制是复杂的,包括营养缺乏、再灌注活性氧应激、线粒体通透性转换孔开放、再灌注导致的钙紊乱、心肌细胞内 pH 值的快速变化^[1]等, MIRI 往往是它们多方面作用的结果。

自噬是高度进化保守的细胞内降解长寿命蛋白和受损细胞器的生理反应。自噬是细胞内依赖溶酶体的“自我消化”行为,能够清除胞质内入侵病毒、大分子异常蛋白和衰老受损细胞器^[2],是细胞内固有的应激反应和防御机制。自噬与心血管或肌肉组织疾病、神经系统疾病、衰老和肿瘤等多种疾病有关。根据包裹物和运输方式不同,可将自噬分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)、分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA),以及新发现的 DNA 自噬^[3]和 RNA 自噬^[4],通常所谓的自噬是指巨自噬。心肌细胞通过自噬途

- [22] Li X Y, Wang S S, Han Z, et al. Triptolide restores autophagy to alleviate diabetic renal fibrosis through the miR-141-3p/PTEN/Akt/mTOR pathway[J]. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017; 9: 48-56.
- [23] Wang H, Feng Z, Xie J, et al. Podocyte-specific knockin of PTEN protects kidney from hyperglycemia[J]. *Am J Physiol Renal Physiol* 2018; 314(6): F1096.
- [24] Sun J, Li Z P, Zhang R Q, et al. Repression of miR-217 protects against high glucose-induced podocyte injury and insulin resistance by restoring PTEN-mediated autophagy pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 483(1): 318-24.
- [25] Wang X M, Yao M, Liu S X, et al. Interplay between the Notch and PI3K/Akt pathways in high glucose-induced podocyte apoptosis[J]. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014; 306(2): F205-13.
- [26] Liu X, Zhang Y, Shi M, et al. Notch1 regulates PTEN expression to exacerbate renal tubulointerstitial fibrosis in diabetic nephropathy by inhibiting autophagy via interactions with Hes1[J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 497(4): 1110-6.
- [27] Luo M, Tan X, Mu L, et al. MiRNA-21 mediates the antiangiogenic activity of metformin through targeting PTEN and SMAD7 expression and PI3K/AKT pathway[J]. *Sci Rep* 2017; 7: 43427.
- [28] Dey N, Das F, Mariappan M M, et al. MicroRNA-21 orchestrates high glucose-induced signals to TOR complex 1, resulting in renal cell pathology in diabetes[J]. *J Biol Chem* 2011; 286(29): 25586-603.
- [29] Kolling M, Kaucsar T, Schauer C, et al. Therapeutic miR-21 silencing ameliorates diabetic kidney disease in mice[J]. *Mol Ther* 2017; 25(1): 165-80.
- [30] McClelland A D, Herman-Edelstein M, Komers R, et al. miR-21 promotes renal fibrosis in diabetic nephropathy by targeting PTEN and SMAD7[J]. *Clin Sci (Lond)* 2015; 129(12): 1237-49.
- [31] Gui F, Hong Z, You Z, et al. MiR-21 inhibitor suppressed the progression of retinoblastoma via the modulation of PTEN/PI3K/AKT pathway[J]. *Cell Biol Int* 2016; 40(12): 1294-302.
- [32] Wang J, Gao Y, Ma M, et al. Effect of miR-21 on renal fibrosis by regulating MMP-9 and TIMP1 in kk-ay diabetic nephropathy mice[J]. *Cell Biochem Biophys* 2013; 67(2): 537-46.
- [33] Zhang L, He S, Yang F, et al. Hyperoside ameliorates glomerulosclerosis in diabetic nephropathy by downregulating miR-21[J]. *Can J Physiol Pharmacol* 2016; 94(12): 1249-56.
- [34] Fiorentino L, Cavallera M, Mavilio M, et al. Regulation of TIMP3 in diabetic nephropathy: a role for microRNAs[J]. *Acta Diabetol* 2013; 50(6): 965-9.