

miR-138 调节 SIRT1p-STAT3 通路抑制高糖诱导肾小球系膜细胞炎症反应及纤维化

丁国明 郑寿浩 戢 晴 阮 园

摘要 目的 探讨 miR-138 调节 SIRT1p-STAT3 通路抑制高糖诱导肾小球系膜细胞炎症反应及纤维化的机制。方法 设 NG 组、NG + miRNA-138 沉默组、NG + miRNA-138 转染组、HG 组、HG + miRNA-138 沉默组、HG + miRNA-138 转染组,以上各组每孔设 6 个平行样,培养 72h,培养结束后,测定各组大鼠肾小球系膜细胞株 miRNA138 RNA 水平以及 SIRT1、P-STAT3、CTGF、ET-1、FN 蛋白水平。**结果** HG 组 miRNA-138 RNA、P-STAT3 水平高于 NG 组,SIRT1 水平低于 NG 组($P < 0.05$);NG + miRNA-138 沉默组 miRNA-138 RNA、P-STAT3 水平低于 NG 组,SIRT1 水平高于 NG 组($P < 0.05$);NG + miRNA-138 转染组 miRNA-138 RNA、P-STAT3 水平高于 NG 组,SIRT1 水平低于 NG 组($P < 0.05$);NG + miRNA-138 转染组 miRNA-138 RNA、P-STAT3 水平高于 NG + miRNA-138 沉默组,SIRT1 水平低于 NG + miRNA-138 沉默组($P < 0.05$);HG + miRNA-138 沉默组 miRNA-138 RNA、P-STAT3 水平低于 HG 组,SIRT1 水平高于 HG 组($P < 0.05$);HG + miRNA-138 转染组 miRNA-138 RNA、P-STAT3 水平高于 HG 组,SIRT1 水平低于 HG 组($P < 0.05$);HG + miRNA-138 转染组 miRNA-138 RNA、P-STAT3 水平高于 HG + miRNA-138 沉默组($P < 0.05$);HG 组 TGF- β 1、VEGF、CTGF、ET-1、FN 水平高于 NG 组;NG + miRNA-138 沉默组 TGF- β 1、VEGF、CTGF、ET-1、FN 水平低于 NG 组($P < 0.05$);NG + miRNA-138 转染组 TGF- β 1、VEGF、CTGF、ET-1、FN 水平高于 NG 组($P < 0.05$);NG + miRNA-138 转染组 TGF- β 1、VEGF、CTGF、ET-1、FN 水平高于 NG + miRNA-138 沉默组($P < 0.05$);HG + miRNA-138 沉默组 TGF- β 1、VEGF、CTGF、ET-1、FN 水平低于 HG 组($P < 0.05$);HG + miRNA-138 转染组 TGF- β 1、VEGF、CTGF、ET-1、FN 水平高于 HG 组($P < 0.05$);HG + miRNA-138 转染组 TGF- β 1、VEGF、CTGF、ET-1、FN 水平高于 HG + miRNA-138 沉默组($P < 0.05$);miRNA-138 与 SIRT1 呈负相关($P < 0.01$),SIRT1 与 P-STAT3 呈负相关($P < 0.05$),P-STAT3 与 CTGF、ET-1、FN、TGF- β 1、VEGF 呈正相关($P < 0.05$)。**结论** miR-138 促进高糖诱导的肾小球系膜细胞炎症反应及纤维化,其机制与抑制 SIRT1 引起的 P-STAT3 的磷酸化,导致 TGF- β 1、VEGF、CTGF、ET-1、FN 高表达有关。

关键词 miR-138 SIRT1p-STAT3 高糖 肾小球系膜细胞

中图分类号 R6 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.08.022

Inhibition Effect of miR-138 on Inflammatory Response and Fibrosis Induced by High Glucose in Glomerular Mesangial Cells by Regulating SIRT1p-STAT3 Pathway. Ding Guoming, Zheng Shouhao, Ji Qing, et al. Department of Nephrology First People's Hospital of Taizhou City, Zhejiang 318020, China

Abstract Objective To investigate the inhibition effect and mechanism of miR-138 on inflammatory response and fibrosis induced by high glucose in glomerular mesangial cells by regulating SIRT1p-STAT3 pathway. **Methods** Cells were divided into NG group, NG + miRNA-138 silencing group, NG + miRNA-138 transfection group, HG group, HG + miRNA-138 silencing group and HG + miRNA-138 transfection group, and each group had 6 parallel samples per well. 72h later, the levels of miRNA138 RNA, SIRT1, P-STAT3, CTGF, ET-1 and FN proteins in rat mesangial cells were determined. **Results** The level of miRNA-138 RNA and P-STAT3 in HG group was higher than that of the NG group ($P < 0.05$). The level of miRNA-138 RNA and P-STAT3 among HG groups ranked as HG + miRNA-138 transfection group > HG group > HG + miRNA-138 silencing group ($P < 0.05$). The level of miRNA-138 RNA and P-STAT3 among NG groups ranked as NG + miRNA-138 transfection group > NG group > NG + miRNA-138 silencing group ($P < 0.05$). The level of SIRT1 in HG group was lower than that of the NG group ($P < 0.05$). The level of miRNA-138 RNA and P-STAT3 among HG groups ranked as HG + miRNA-138 transfection group < HG group < HG + miRNA-138 silencing group ($P < 0.05$). The level of miRNA-138 RNA and P-STAT3 among NG groups ranked as NG + miRNA-138 transfection group <

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2014KYB008)

作者单位:318020 台州市第一人民医院肾内科(丁国明、郑寿浩、戢晴);310013 杭州,浙江医院内分泌科(阮园)

通讯作者:戢晴,电子信箱:398784557@qq.com

NG group < NG + miRNA - 138 silencing group ($P < 0.05$). The levels of TGF - $\beta 1$, VEGF, CTGF, ET - 1 and FN in HG group was higher than that of the NG group ($P < 0.05$). The levels of TGF - $\beta 1$, VEGF, CTGF, ET - 1 and FN among HG groups ranked as HG + miRNA - 138 transfection group > HG group > HG + miRNA - 138 silencing group ($P < 0.05$). The levels of TGF - $\beta 1$, VEGF, CTGF, ET - 1 and FN among NG groups ranked as NG + miRNA - 138 transfection group > NG group > NG + miRNA - 138 silencing group ($P < 0.05$). miRNA - 138 was negatively correlated with SIRT1 ($P < 0.01$), and SIRT1 was negatively correlated with P - STAT3 ($P < 0.05$). P - STAT3 was positively correlated with TGF - $\beta 1$, VEGF, CTGF, ET - 1 and FN levels ($P < 0.05$). **Conclusion** miR - 138 promotes high glucose - induced glomerular mesangial cell inflammatory response and fibrosis, and its mechanism is related to inhibition of SIRT1 - induced phosphorylation of P - STAT3, leading to high expression of TGF - $\beta 1$, VEGF, CTGF, ET - 1 and FN.

Key words miR - 138; SIRT1p - P - STAT3; High glucose; Glomerular mesangial cell

糖尿病肾病是糖尿病的重要并发症,属于糖尿病慢性并发症中的微血管病,其机制与细胞外基质沉积过多、肾小球系膜细胞肥大、基膜增厚、肾小球与肾间质发生纤维化改变有关。微小RNA(microRNA, miRNA)是长约22nt的非编码RNA,能够与mRNA结合阻断蛋白编码基因的表达,进而实现对转录水平的调控^[1-3]。miR - 138能促进过氧化物酶受体的表达,促进体内脂肪细胞分化^[4]。同时miR - 138可促进转化生长因子 β (TGF - β)受体和IV型胶原的表达,加重肾脏纤维化程度,激活单核细胞、补体系统,增加细胞因子释放,介导内皮功能紊乱,暴露胶原组织,加速血小板附着和聚集,加剧肾脏损伤程度^[5,6]。

SIRT1是Ⅲ类去乙酰化酶组蛋白的成员,通过去乙酰化和微调蛋白质因子(包括内皮型一氧化氮合成酶)的活性,参与衰老、代谢和对氧化应激的耐受性^[7]。SIRT1通过抑制血管生成和减少动脉内壁脂质沉淀,成为血肾小球血管内皮稳态的关键调节因子^[8]。P - STAT3是SIRT1 mRNA靶向非翻译区(UTR)的结合分子,具有促进炎性、纤维化因子结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)、内皮素-1(endothelin - 1, ET - 1)、纤连蛋白(fibronectin, FN)、转化生长因子(transforming growth factor - $\beta 1$, TGF - $\beta 1$)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)高表达的作用^[9,10]。目前关于糖尿病肾病与miR - 138、SIRT1p - STAT3调节机制的研究较少。本研究拟探讨miR - 138调节SIRT1p - STAT3通路抑制高糖诱导肾小球系膜细胞炎性反应及纤维化,为糖尿病肾病的发病机制提供理论依据。

资料与方法

1. 细胞来源、仪器与试剂:大鼠肾小球系膜细胞株(中国科学院典型培养物保藏中心昆明细胞库)、DnJ - 4249CO₂培养箱(美国Revco公司)、RPMI1640培养基(美国Thermo Fisher Scientific公司)、胰酶(德

国Merck公司)、四甲基偶氮唑蓝(北京广源恒信科技发展有限公司)、99.99%葡萄糖(美国Thermo公司)、Lipofectamine2000脂质体(美国Invitrogen公司)、miRNA - 138 - mimics、序列:5' - CCAGU - CAGUCCUGAUGCAGUA - 3'、NG + miRNA - 138(沉默) - mimics序列:5' - GAUGCAGUCCAUCCGUUGCUCAG - 3'(上海伯豪生物技术有限公司)、吖啶橙(中国碧云天生物技术公司产品)、胎牛血清(美国康宁公司)、Trizol试剂(美国Invitrogen Thermo Fisher Scientific公司)、反转录试剂盒及实时荧光定量PCR试剂盒(英国Cambridge公司)、FCRL5基因的表达测定采用UltraSYBR One Step RNA PCR Kit(宝生物工程大连有限公司)、实时荧光定量PCR仪(美国热电公司)、NanoDrop2000c型蛋白核酸检测仪(美国Thermo公司)、SIRT1、P - STAT3、CTGF、ET - 1、FN蛋白Elisa试剂盒(德国Merck公司)、DMI3000 B倒置显微镜(德国Leica公司)、MK3酶标仪(美国Thermo公司)、恒温培养箱grp - 9080(美国通用公司)、二氧化碳培养箱(赛默飞世尔科技中国有限公司)、超净工作台(上海恒跃医疗器械有限公司)。

2. 细胞复苏培养、分组设计及转染情况检测

(1)细胞复苏培养:将装有大鼠肾小球系膜细胞株的冻存管从液氮中取出,37℃水浴箱迅速解冻,吸取菌液至5ml EPP无菌管中,1500r/min,离心5min,上清液吸弃,加入pH值为7.2含10%胎牛血清、链霉素100 μ g/ml、青霉素100 μ g/ml、的RPMI 1640培养基,37℃、5% CO₂培养箱中进行培养,3天换液,当细胞融合率达到80%时,用0.5%胰蛋白酶消化传代。

(2)分组设计:正常浓度葡萄糖组(4.0mmol/L, normal glucose, NG)、高浓度葡萄糖组(40.0mmol/L, high glucose, HG):取5ml大鼠肾小球系膜细胞液(细胞浓度为5 $\times 10^6$ /ml)于10%胎牛血清的RPMI 1640培养液中,分别加入5ml 8.0mmol/L、80.0mmol/L的无

葡萄糖溶液,置于 CO₂ 培养箱(37℃、5% CO₂、20% O₂)。NG + miRNA - 138 沉默组、NG + miRNA - 138 转染组:取 5ml 大鼠肾小球系膜细胞液(细胞浓度为 5 × 10⁶/ml)于 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中,分别加入 5ml 转染 miRNA - 138 - mimics、NG + miRNA - 138(沉默) - mimics 以及 10ml 8.0mmol/L 的无菌葡萄糖溶液,转染按照美国 Invitrogen 公司 Lipofectamine2000 脂质体转染试剂说明书进行。HG + miRNA - 138 沉默组、HG + miRNA - 138 转染组:取 5ml 大鼠肾小球系膜细胞液(细胞浓度为 5 × 10⁶/ml)于 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中,分别加入 5ml 转染 miRNA - 138 - mimics、NG + miRNA - 138(沉默) - mimics 以及 10ml 80.0mmol/L 的无菌葡萄糖溶液,转染按照美国 Invitrogen 公司 Lipofectamine2000 脂质体转染试剂说明书进行。

(3)转染情况检测:即用型免疫组化法进行转染情况检测,miRNA - 138 - mimics 转染细胞核内有明显的棕黄色颗粒,而 miRNA - 138 沉默细胞核被苏

木素复染成蓝色。以上各组每孔设 6 个平行样,培养 72h。

3. 各组大鼠肾小球系膜细胞株 miRNA138 RNA 水平的检测:取 5ml 细胞液(细胞浓度为 5 × 10⁶/ml),5000r/min 离心 5min,miRNeasy Mini 试剂盒(美国 Qiagen 公司)提取总 RNA,NanoDrop1000(美国 NanoDrop 公司)定量 RNA 纯度。TaqMan MicroRNA Reverse Transcription 试剂盒(美国 Applied Biosystems 公司)进行 RT 反应。为合成 cDNA,将反应混合物依次在 16℃ 下孵育 30min,在 42℃ 下孵育 30min,在 85℃ 下孵育 5min。参照 GenBank 数据获取 2 个基因多态性位点的序列,设计待测基因位点的 PCR 扩增引物和单碱基延伸引物(参照 <http://links.lww.com/MD/A675>),按 20μl 模板和 10μl 反应液构成 PCR 反应体系,扩增程序:95℃ 5min;93℃ 10s,61℃ 30s,重复 40 个循环,61℃ 时采集荧光(表 1、表 2)。实时荧光定量 PCR 仪检测其表达量。

表 1 miRNA - 138、β - actin RNA 引物序列

基因	引物序列(5'→3')	退火温度(℃)	产物大小(kb)	
miRNA - 138	正向引物	AACATCTGAAGACCTCTATGCTTATCA	65	251
	反向引物	CGGACTCACTTCTATACTGGTACT		
β - actin	正向引物	CCTACCATGAGAGCCTTTATA	62	246
	反向引物	AACCTTGTCTGCTCGACTCTGTT		

表 2 RT - PCR 反应体系

PCR 反应成分	体积(μl)
2 × UltraSYBR 一步法 RT - qPCR 缓冲液	5.0
正向引物,10μmol/L	0.4
反向引物,10μmol/L	0.4
超酶混合物	0.2
RNA 模板	0.6
去核酸水	3.4

4. 各组大鼠肾小球系膜细胞株 SIRT1、P - STAT3、CTGF、ET - 1、FN、TGF - β1、VEGF 蛋白水平测定:染毒结束后,5000r/min 离心收集各组细胞,加入 PBS 制成细胞悬液后,酶联免疫吸附法测定培养液中 SIRT1、P - STAT3、CTGF、ET - 1、FN、TGF - β1、VEGF 蛋白水平。

5. 统计学方法:采用 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD - t 检验,相关分析采用 Pearson 分析,以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 各组细胞 miRNA - 138 RNA、SIRT1、P - STAT3 水平比较:由表 3 可见,HG 组 miRNA - 138 RNA、P - STAT3 水平高于 NG 组,SIRT1 水平低于 NG 组(P < 0.05);NG + miRNA - 138 沉默组 miRNA - 138 RNA、P - STAT3 水平低于 NG 组,SIRT1 水平高于 NG 组(P < 0.05);NG + miRNA - 138 转染组 miRNA - 138 RNA、P - STAT3 水平高于 NG 组,SIRT1 水平低于 NG 组(P < 0.05);NG + miRNA - 138 转染组 miRNA - 138 RNA、P - STAT3 水平高于 NG + miRNA - 138 沉默组,SIRT1 水平低于 NG + miRNA - 138 沉默组(P < 0.05);HG + miRNA - 138 沉默组 miRNA - 138 RNA、P - STAT3 水平低于 HG 组,SIRT1 水平高于 HG 组(P < 0.05);HG + miRNA - 138 转染组 miRNA - 138 RNA、P - STAT3 水平高于 HG 组,SIRT1 水平低于 HG 组(P < 0.05);HG + miRNA - 138 转染组 miRNA - 138 RNA、P - STAT3 水平高于 HG + miRNA - 138 沉默组(P < 0.05)。

表 3 各组细胞 miRNA - 138 RNA、SIRT1、P - STAT3 水平比较

组别	n	miRNA - 138 RNA	SIRT1 (pmol/L)	P - STAT3 (μmol/L)
NG 组	6	0.87 ± 0.28	93.67 ± 2.15	43.67 ± 3.82
NG + miRNA - 138 沉默组	6	0.43 ± 0.12 *	129.67 ± 3.54 *	23.45 ± 4.09 *
NG + miRNA - 138 转染组	6	1.56 ± 0.25 * #	79.99 ± 4.43 * #	97.76 ± 6.65 * #
HG 组	6	3.98 ± 0.23 *	29.99 ± 4.43 *	127.76 ± 6.65 *
HG + miRNA - 138 沉默组	6	2.47 ± 0.54 ^Δ	57.54 ± 3.65 ^Δ	106.44 ± 5.78 ^Δ
HG + miRNA - 138 转染组	6	5.69 ± 0.17 ^{Δ▲}	10.34 ± 2.54 ^{Δ▲}	155.43 ± 8.32 ^{Δ▲}

与 NG 组比较, * P < 0.05; 与 NG + miRNA - 138 沉默组比较, # P < 0.05; 与 HG 组比较, ^ΔP < 0.05; 与 HG + miRNA - 138 沉默组比较, [▲]P < 0.05

2. 各组细胞炎性因子 TGF - β1、VEGF 水平比较:由表 4 可见,HG 组 TGF - β1、VEGF 水平高于 NG 组;NG + miRNA - 138 沉默组 TGF - β1、VEGF 水平低于 NG 组 (P < 0.05);NG + miRNA - 138 转染组 TGF - β1、VEGF 水平高于 NG 组 (P < 0.05);NG + miRNA - 138 转染组 TGF - β1、VEGF 水平高于 NG +

miRNA - 138 沉默组 (P < 0.05);HG + miRNA - 138 沉默组 TGF - β1、VEGF 水平低于 HG 组 (P < 0.05);HG + miRNA - 138 转染组 TGF - β1、VEGF 水平高于 HG 组 (P < 0.05);HG + miRNA - 138 转染组 TGF - β1、VEGF 水平高于 HG + miRNA - 138 沉默组 (P < 0.05)。

表 4 各组细胞炎性因子 TGF - β1、VEGF 水平比较

组别	n	TGF - β1 (pmol/L)	VEGF (μmol/L)
NG 组	6	134.53 ± 15.65	320.43 ± 30.32
NG + miRNA - 138 沉默组	6	43.43 ± 6.76 *	134.32 ± 23.09 *
NG + miRNA - 138 转染组	6	209.32 ± 25.65 * #	509.43 ± 59.21 * #
HG 组	6	509.45 ± 54.34 *	987.43 ± 49.12 *
HG + miRNA - 138 沉默组	6	345.96 ± 36.45 ^Δ	798.54 ± 34.53 ^Δ
HG + miRNA - 138 转染组	6	791.34 ± 98.44 ^{Δ▲}	1355.67 ± 108.12 ^{Δ▲}

与 NG 组比较, * P < 0.05; 与 NG + miRNA - 138 沉默组比较, # P < 0.05; 与 HG 组比较, ^ΔP < 0.05; 与 HG + miRNA - 138 沉默组比较, [▲]P < 0.05

3. 各组细胞纤维化因子 CTGF、ET - 1、FN 水平比较:由表 5 可见,HG 组 CTGF、ET - 1、FN 水平高于 NG 组;NG + miRNA - 138 沉默组 CTGF、ET - 1、FN 水平低于 NG 组 (P < 0.05);NG + miRNA - 138 转染组 CTGF、ET - 1、FN 水平高于 NG 组 (P < 0.05);NG + miRNA - 138 转染组 CTGF、ET - 1、FN 水平高

于 NG + miRNA - 138 沉默组 (P < 0.05);HG + miRNA - 138 沉默组 CTGF、ET - 1、FN 水平低于 HG 组 (P < 0.05);HG + miRNA - 138 转染组 CTGF、ET - 1、FN 水平高于 HG 组 (P < 0.05);HG + miRNA - 138 转染组 CTGF、ET - 1、FN 水平高于 HG + miRNA - 138 沉默组 (P < 0.05)。

表 5 各组细胞纤维化因子 CTGF、ET - 1、FN 水平比较

组别	n	CTGF (pmol/L)	ET - 1 (pmol/L)	FN (μmol/L)
NG + miRNA - 138 沉默组	6	34.34 ± 6.12	29.67 ± 3.54	54.45 ± 44.09
NG 组	6	78.32 ± 8.28 *	63.67 ± 12.15 *	98.34 ± 35.82 *
NG + miRNA - 138 转染组	6	145.56 ± 9.25 * #	99.99 ± 43.43 * #	209.34 ± 26.65 * #
HG + miRNA - 138 沉默组	6	198.43 ± 10.54 * # ^Δ	170.564 ± 34.65 * # ^Δ	321.43 ± 45.78 * # ^Δ
HG 组	6	219.43 ± 9.23 * # ^{Δ▲}	279.23 ± 45.43 * # ^{Δ▲}	423.45 ± 36.65 * # ^{Δ▲}
HG + miRNA - 138 转染组	6	309.34 ± 8.17 * # ^{Δ▲}	340.23 ± 26.54 * # ^{Δ▲}	508.43 ± 38.32 * # ^{Δ▲}

与 NG 组比较, * P < 0.05; 与 NG + miRNA - 138 沉默组比较, # P < 0.05; 与 HG 组比较, ^ΔP < 0.05; 与 HG + miRNA - 138 沉默组比较, [▲]P < 0.05

4. SIRT1p - P - STAT3 通路各指标相关性分析:由表 6 可见,miRNA - 138 与 SIRT1 呈负相关 (P <

0.01),SIRT1 与 P - STAT3 呈负相关 (P < 0.05),P - STAT3 与 CTGF、ET - 1、FN、TGF - β1、VEGF 呈正相

关($P < 0.05$)。

表 6 SIRT1p - P - STAT3 通路各指标相关性分析

变量 1	变量 2	r	P
miRNA - 138	SIRT1	-0.654	0.000
SIRT1	P - STAT3	-0.540	0.011
	CTGF	0.509	0.000
	ET - 1	0.459	0.001
P - STAT3	FN	0.541	0.021
	TGF - β 1	0.497	0.000
	VEGF	0.651	0.023

讨 论

大量证据表明 microRNAs 的失调与细胞炎症、纤维化反应有关^[11]。miR - 138 通过细胞凋亡途径 PI₃K/AKT 抑制肌纤维细胞炎症。miR - 143 充当平滑肌细胞和 HUVEC 之间的通信分子,抑制 HUVEC 纤维化反应^[12]。miR - 155 通过抑制细胞特异性靶基因在内皮炎症、纤维化反应过程中发挥调节生成作用。

研究表明,miR - 138 是肾小球系膜细胞的损害因子。最近的一项研究表明,高糖水平诱导的 miR - 138 过表达是肾小球系膜细胞保护因子 SIRT1 的负调节因子,其通过内皮型一氧化氮合酶(eNOS)减少一氧化氮的产生^[13,14]。本研究结果显示,HG、NG + miRNA - 138 转染组 TGF - β 1、VEGF、CTGF、ET - 1、FN 水平高于 NG 组;NG + miRNA - 138 沉默组 TGF - β 1、VEGF、CTGF、ET - 1、FN 水平低于 NG 组;NG + miRNA - 138、HG + miRNA - 138 转染组 TGF - β 1、VEGF、CTGF、ET - 1、FN 水平高于 NG + miRNA - 138 沉默组;HG + miRNA - 138 沉默组 TGF - β 1、VEGF、CTGF、ET - 1、FN 水平低于 HG 组;HG + miRNA - 138 转染组 TGF - β 1、VEGF、CTGF、ET - 1、FN 水平高于 HG 组;说明高糖诱导的肾小球系膜细胞 miR - 138 的表达增加,能明显增强炎症、纤维化反应,进一步就 miR - 138 致炎症、纤维化机制进行研究。结果显示,miR - 138 负向调控 SIRT1,SIRT1 是肾小球系膜细胞保护因子,其能抑制肾小球系膜细胞损害过程中伴随的炎症、纤维化反应。

国外研究表明,SIRT1 能下调促炎细胞因子单核细胞趋化蛋白 1(MCP - 1)、肿瘤坏死因子 α (TNF - α)、白细胞介素 6(IL - 6)和 IL - 1b、ET - 1、FN^[15]。通过抑制 SIRT1 的表达,雷帕霉素靶蛋白(mTOR)已显示出促进肾小球系膜细胞炎症、纤维化反应的能力^[16]。结合本研究结果中,SIRT1 与 TGF - β 1、

VEGF、CTGF、ET - 1、FN 呈负相关,笔者推测高糖水平破坏 SIRT1 的正常表达而促进 TGF - β 1、VEGF、CTGF、ET - 1、FN 过表达,进而加剧肾小球系膜细胞炎症、纤维化反应。P - STAT3 是炎症、纤维化反应的响应细胞因子和生长因子,STAT3 被受体磷酸化,形成同源二聚体或异源二聚体,转移至细胞核,发挥调控作用,在胶质母细胞瘤的体外增殖实验中,SIRT1 磷酸化 p - STAT3 促进 VEGF、IL - 6、FN 的分泌^[17,18]。此外,SIRT1 也抑制了 HepG2 细胞中 p - STAT3 的表达。在本研究中,SIRT1 与 P - STAT3 呈负相关,SIRT1 对 p - STAT3 蛋白的表达具有抑制作用,与上述结果一致,提示 SIRT1 可能通过抑制 p - STAT3 蛋白表达而起到高糖促进肾小球系膜细胞炎症反应及纤维化。

本研究结果表明,miR - 138 在介导高糖诱导肾小球系膜细胞炎症反应及纤维化过程中起重要作用。研究发现 miR - 138 通过调控细胞炎症因子 TGF - β 1、VEGF 水平以及纤维化因子 CTGF、ET - 1、FN 水平参与高糖诱导肾小球系膜细胞损害。作为 miR - 138 的直接靶分子,SIRT1 过表达能起到保护减轻氧化应激反应,抑制肾脏纤维化的作用,由 SIRT1 介导的 pSTAT3 蛋白表达的调节也是高糖诱导肾小球系膜细胞损害的原因。因此,本研究初步表明高糖能诱导 miR - 138 水平过表达,抑制 SIRT1 表达,进而 p - STAT3、TGF - β 1、VEGF、CTGF、ET - 1、FN 高水平表达,导致肾小球系膜细胞炎症反应及纤维化。

综上所述,miR - 138 促进高糖诱导的肾小球系膜细胞炎症反应及纤维化,其机制与抑制 SIRT1 引起的 P - STAT3 的磷酸化、导致 TGF - β 1、VEGF、CTGF、ET - 1、FN 高表达有关。

参 考 文 献

- 刘文瑞,廖琳,路建饶. 糖尿病肾病的治疗进展[J]. 中国综合临床, 2017, 33(6):56 - 59
- Thomson DW, Dinger ME. Endogenous microRNA sponges: evidence and controversy[J]. Nat Rev Gene, 2016, 17(5):272 - 273
- Löffler I, Wolf G. Pathophysiology of diabetic nephropathy[J]. Nephrol Nursing J, 2017, 12(6):391 - 399
- Ye ZT, Fang BM, Pan JW, et al. miR - 138 suppresses the proliferation, metastasis and autophagy of non - small cell lung cancer by targeting Sirt1[J]. Oncol Rep, 2017, 37(6):3244 - 3252
- Zhang XL, Xu LL, Wang F. Hsa_circ_0020397 regulates colorectal cancer cell viability, apoptosis, and invasion by promoting the expression of the miR - 138 targets TERT and PD - L1[J]. Cell Biol Int, 2017, 41(9):68 - 69

(下转第 114 页)

参考文献

- 1 中国科学院植物研究所. 中国植物志: 第一分册[M]. 北京: 北京科学出版社, 1998: 156 - 158
 - 2 张文平, 张晓平, 刘娜, 等. 民族药地板藤的研究进展[J]. 中国现代中药, 2016, 18(4): 531 - 534
 - 3 Zhou SY, Wang R, Deng LQ, *et al.* A new isoflavanone from *Ficus tikoua* Bur[J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(21): 2516 - 2522
 - 4 张文平, 张晓平, 宋雪兰, 等. 民族药地板藤中芦丁 TLC 鉴别与 HPLC 含量测定研究[J]. 中医药导报, 2017, 23(13): 33 - 36
 - 5 徐蔚, 王培, 李尚真, 等. 地果根茎化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(2): 270 - 272
 - 6 Wei SP, Wu WJ, Ji ZQ. New antifungal pyranoisoflavone from *ficus tikoua* bur. [J]. *Int J Mol Sci (Online)*, 2012, 13(6): 7375 - 7382
 - 7 杨世波, 张润芝, 江志勇, 等. 地板藤根的化学成分研究[J]. 中成药, 2014, 36(3): 554 - 558
 - 8 郭良君, 谭兴起, 郑巍, 等. 地瓜藤化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(9): 1709 - 1711
 - 9 关永霞, 杨小生, 佟丽华, 等. 苗药地瓜藤化学成分的研究[J]. 中草药, 2007, 3: 342 - 344
 - 10 张文平, 张晓平, 邓杰, 等. 民族药地板藤中总黄酮含量的测定[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(11): 25 - 27
 - 11 张文平, 张晓平, 马大龙, 等. 民族药地板藤不同萃取部位体外抗病毒实验研究[J]. 中国现代中药, 2018, 20(3): 288 - 292, 304
 - 12 张文平, 张晓平, 时瑞梓, 等. 民族药地板藤止血抗炎及镇痛作用研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(12): 2905 - 2906
 - 13 林香信, 颜孙安, 姚清华, 等. 响应面法优化超声辅助提取黄秋葵花总黄酮的工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(1): 19 - 27
 - 14 姜月. 响应面法优化提取藏红花中总黄酮的提取工艺[J]. 当代化工研究, 2017, 11: 123 - 124
 - 15 Ma YQ, Liu MH, Tan T, *et al.* Deep eutectic solvents used as extraction solvent for the determination of flavonoids from *Camellia oleifera* flowers by high - performance liquid[J]. *Phytochem Anal*, 2018, 29(6): 639 - 648
 - 16 金青青, 梁洁, 徐晖, 等. Box - Behnken 响应面法优化龙眼叶总黄酮提取工艺[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(12): 2599 - 2601, 2702
(收稿日期: 2018 - 11 - 22)
(修回日期: 2018 - 12 - 06)
- (上接第 104 页)
- 6 Zhu J, Shi H, Liu H, *et al.* Long non - coding RNA TUG1 promotes cervical cancer progression by regulating the miR - 138 - 5p - SIRT1 axis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(39): 65253 - 65264
 - 7 Prola A, Pires Da Silva J, Guilbert A, *et al.* SIRT1 protects the heart from ER stress - induced cell death through eIF2 α deacetylation[J]. *Cell Death Different*, 2017, 24(2): 343 - 346
 - 8 Zerr P, Palumbo - Zerr K, Huang J, *et al.* Sirt1 regulates canonical TGF - β signalling to control fibroblast activation and tissue fibrosis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 73(S2): 557 - 561
 - 9 Chaib I, Karachaliou N, Pilotto S, *et al.* Co - activation of P - STAT3 and YES - associated protein 1 (YAP1) pathway in EGFR - Mutant NSCLC[J]. *J Nat Cancer Institute*, 2017, 109(9): 65 - 67
 - 10 Saini U, Naidu S, Elnaggar AC, *et al.* Elevated P - STAT3 expression in ovarian cancer ascites promotes invasion and metastasis; a potential therapeutic target[J]. *Oncogene*, 2017, 36(2): 168 - 170
 - 11 Aryal B, Singh AK, Rotllan N, *et al.* microRNAs and lipid metabolism[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2017, 28(3): 1 - 3
 - 12 Zhang HJ, Wei QF, Wang SJ, *et al.* LncRNA HOTAIR alleviates rheumatoid arthritis by targeting miR - 138 and inactivating NF - κ B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 50(2): 283 - 290
 - 13 Patel GK, Khan MA, Bhardwaj A, *et al.* Exosomes confer chemoresistance to pancreatic cancer cells by promoting ROS detoxification and miR - 155 - mediated suppression of key gemcitabine - metabolising enzyme, DCK[J]. *Bri J Cancer*, 2017, 116(5): 609 - 619
 - 14 Zhu Z, Tang J, Wang J, *et al.* miR - 138 acts as a tumor suppressor by targeting EZH2 and enhances cisplatin - induced apoptosis in osteosarcoma cells[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): 026 - 028
 - 15 Qiu G, Li X, Che X, *et al.* SIRT1 is a regulator of autophagy: implications in gastric cancer progression and treatment[J]. *FEBS Lett*, 2016, 589(16): 2034 - 2042
 - 16 Wang Y, Bi Y, Chen X, *et al.* Histone deacetylase SIRT1 negatively regulates the differentiation of interleukin - 9 - producing CD4⁺ T cells[J]. *Immunity*, 2016, 44(6): 1337 - 1349
 - 17 Ok CY, Chen J, Xumonette ZY, *et al.* Clinical implications of phosphorylated P - STAT3 expression in De Novo diffuse large B - cell lymphoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 20(19): 5113 - 5123
 - 18 Liu Y, Luo F, Wang B, *et al.* P - STAT3 - regulated exosomal miR - 21 promotes angiogenesis and is involved in neoplastic processes of transformed human bronchial epithelial cells [J]. *Cancer Lett*, 2016, 370(1): 125 - 135
(收稿日期: 2018 - 08 - 06)
(修回日期: 2018 - 10 - 23)