

· 综述 ·

microRNA-124 与糖尿病肾脏疾病

刘宇 王秋月

【摘要】 microRNA (miRNA) 广泛存在于真核生物体内,参与蛋白质的转录和转录后的调控。miRNA 具有高度进化保守性及组织特异性,在生物的生长发育、细胞分化、疾病的发展过程中起作用。miRNA-124 是 microRNAs 家族的重要成员,近年研究显示,miRNA-124 能够作用于整合素,进而影响肾脏纤维化进程,可能作用于 Rho/Rho 相关蛋白激酶信号通路,起到保护肾小球滤过屏障的作用,能够作用于信号转导与转录激活因子 3、Toll 样受体、磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路调节炎症反应,可能成为糖尿病肾脏疾病诊断和治疗的新靶点。

【关键词】 microRNA-124;糖尿病肾脏疾病;整合素;Rho/Rho 相关蛋白激酶信号通路;PI3K/Akt 信号通路

基金项目:辽宁省高等学校“高端人才队伍建设工程”项目([2014]187)

microRNA-124 and diabetic kidney diseases Liu Yu, Wang Qiuyue. Department of Endocrinology and Metabolism, The First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China

Corresponding author: Wang Qiuyue, Email: wqycmu@163.com

【Abstract】 microRNA (miRNA) is widely existed in the eukaryotic organisms, and is involved in the regulation of the transcription and posttranscriptional regulation of proteins. miRNA has a high degree of evolutionary conservation and tissue specificity, which plays an important role in the process of growth and development, cell differentiation and diseases. miRNA-124 is an important member of the family of miRNAs, recent studies showed that miRNA-124 could act on the integrin and influence the process of renal fibrosis, played a role in the Rho/Rho-associated kinase (ROCK) signaling pathway to protect the glomerular filtration barrier function, and affected signal transducer and activator of transcription 3, Toll-like receptors, phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B signaling pathways to regulate inflammation reaction, therefore might become a new target for diagnosis and treatment of diabetic kidney disease.

【Key words】 microRNA-124; Diabetic kidney disease; Integrin; Rho/Rho-associated kinase signaling pathway; PI3K/Akt signaling pathway

Fund program: Higher School "High-end Talent Team Construction" in Liaoning Province ([2014]187)

糖尿病肾脏疾病(DKD)是糖尿病常见的微血管病变,早期病理改变以肾小球肥大、肾小球和肾小管基底膜增厚及系膜区细胞外基质的进行性积聚为主要特征;后期为肾小球及肾小管间质的纤维化,临床以微量到大量白蛋白尿伴肾功能损害为特征。DKD 的发病机制并不完全清楚,目前大量研究证据显示, microRNA(miRNA)在 DKD 的发生、发展中起重要作用。本文将对 miRNA-124 在 DKD 中的研究进展进行综述。

1 miRNA 及 miRNA-124 概述

miRNA 是一类 20~24 nt 的保守单链非编码小 RNA,通过与靶 mRNA 的 3'UTR 完全或不完全配对,抑制靶基因 mRNA 翻译或降解靶基因 mRNA^[1]。单一的 miRNA 可能调控多个靶基因,而同一基因也可同时受控于多个 miRNA,构成了一个复杂的调控网络。

miRNA-124 是 miRNA 中的重要成员,在哺乳动物中枢神经系统中表达量最高,在胰岛 β 细胞中也大量存在,miRNA-124 负调控胰岛素 mRNA 水平,并且其下游靶也参与调控胰岛素的分泌^[2]。越来越多的证据表明,miRNA-124 可能与 DKD 的发生和发展密切相关^[3]。

2 miRNA-124 参与纤维化的机制

2.1 miRNA-124 与 Rho/Rho 相关蛋白激酶(ROCK)

信号通路 Rho 蛋白属于 Ras 蛋白超家族的一员。被激活的 Rho 的靶效应器是 ROCK, Rho/ROCK 信号通路作为信息转换或分子开关,作用于细胞骨架或其靶蛋白,诱发肌动蛋白细胞骨架重排、调控基因转录及细胞周期等,与血管内皮细胞通透性改变的病理生理过程密切相关,并与肿瘤转移以及多种组织重构等相关^[4]。在 DKD 早期肾血流动力学即发生改变。高糖环境下 Rho/ROCK 通路被激活,调节入球动脉和出球动脉的收缩功能,从而改变 DKD 过程中的血流动力学;也可致足细胞结构和功能的破坏,从而破坏肾小球滤过屏障,导致蛋白尿;还可上调转录因子活化蛋白-1、血管内皮生长因子(VEGF)的表达,进而增加纤连蛋白等基质蛋白的合成,促进细胞外基质(ECM)聚集,最终导致肾小球硬化^[5]。ROCK 分为 ROCK1 和 ROCK2 两种同源异构体,ROCK1 在肾脏高表达,在神经胶质瘤、胃癌等恶性肿瘤中表达均升高,而在上述恶性肿瘤细胞中,miRNA-124 的表达显著降低甚至消失^[6-7]。

研究表明,ROCK1 是 miRNA-124 的直接靶,miRNA-124 通过与 ROCK1 的 3'UTR 直接结合,下调 ROCK1 蛋白表达,进而调节细胞黏附、转移、增殖、凋亡等生物学行为。敲除 miRNA-124 基因后可诱导癌细胞增殖,而通过转染促进 miRNA-124 表达之后,癌细胞增殖、侵袭和转移能力显著下降^[6-7]。

RhoG 是 Rho 蛋白亚家族成员之一,在上皮-间充质转分化(EMT)过程中可影响细胞支架重构。实验显示,miRNA-124 可以直接靶向结合于人视网膜色素上皮细胞中 RhoG 基因的 3'UTR,下调 RhoG 以及下游的 RAC1(Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1)蛋白,进而调节细胞骨架改变,通过转化生长因子(TGF)- β_1 /miRNA-124/RhoG 信号通路,影响视网膜色素上皮细胞的 EMT 进程^[8]。而 Wu 等^[9]在糖尿病视网膜病变大鼠模型中的研究发现,经 miRNA 微通路分析,视网膜细胞中 miRNA-124 的表达显著上调,并且升高程度与糖尿病视网膜病变的进程相关。造成 miRNA-124 研究结果不一致的原因尚不能确定,其中样本物种、样本数量、细胞类型、实验条件等均有可能是影响因素。

研究表明,在分化状态下的足细胞中,RAC1 活性明显升高,引起细胞骨架蛋白重排,nephrin 和 podocin 表达下调,促进足突融合^[10]。Rho 蛋白在肾小管上皮细胞转变为肌成纤维细胞过程中也起到促进肾脏纤维化进程的作用。研究证实,在链脲佐菌素(STZ)诱导的 DKD 大鼠模型中,ROCK 选择性抑

制剂 Y-27632 和法舒地尔可在 DKD 早期增加有效肾血流量,改善肾小球滤过率和滤过分数^[11]。基于以上推测,在肾脏中 miRNA-124 可通过靶向作用于 Rho/ROCK 信号通路,影响 DKD 进程。

2.2 miRNA-124 与整合素 越来越多的研究表明,足细胞损伤是诱导白蛋白尿产生的重要原因,并且在 DKD 发生、发展过程中发挥重要作用。足细胞是终末分化的上皮细胞的一种类型,位于肾小球毛细血管袢的外侧,是构成滤过屏障的主要成分,DKD 患者肾组织活检可见足细胞密度降低,数量减少,并且其数量减少发生在微量白蛋白尿出现之前^[12]。整合素是调节细胞结合的细胞表面蛋白中的主要家族,同足细胞裂孔隔膜上足细胞相关蛋白 nephrin 与 podocin 在维持小管通透性中起重要作用,可有效阻止血清蛋白通过,还可调节 ECM 的蛋白质合成过程,在维持肾小球滤过屏障中起重要作用。研究表明,整合素 $\alpha_3\beta_1$ 、nephrin 和 podocin 表达及分布异常可导致足细胞黏附能力损害^[13]。整合素 $\alpha_3\beta_1$ 特异性表达于足细胞,是足细胞黏附于肾小球基底膜的主要受体,是由一条 α 链和一条 β 链构成的异二聚体,对维持肾小球基底膜结构完整性起重要作用。研究表明,miRNA-124 可以直接调节整合素 β_1 的表达^[14]。肾小球毛细血管压力升高可对肾小球造成机械应力作用,甚至引起肾小球硬化,机械应力可导致分布在肾小球基底膜的足细胞损伤,影响 DKD 发展。

Li 等^[15]实验发现,STZ 诱导的大鼠模型肾脏中 miRNA-124 的表达相较于假手术组显著升高,尿液中 nephrin、podocin 以及尿蛋白排泄率显著升高,整合素 α_3 表达下调,导致足细胞黏附能力明显损害。而予以反义寡核苷酸抑制 miRNA-124 2 周后,尿液中 nephrin 和 podocin 以及尿蛋白排泄率显著降低,整合素 α_3 表达上调,足细胞的黏附能力损伤得到明显改善。Li 等^[16]还通过实验发现,miRNA-124 可以与 itga3 蛋白的 3'UTR 直接结合并抑制其表达,从而影响足细胞的黏附能力。从植物姜黄中提取的无毒活性成分姜黄素被认为具有抗氧化、抗炎、降低血糖及血脂的作用,并且可以抑制机械应力作用下足细胞中 miRNA-124 的表达,影响下游的 itga3 蛋白表达,改善足细胞的黏附能力,从而改善肾小球滤过率,影响 DKD 进程^[17]。

3 miRNA-124 参与炎症反应的机制

3.1 miRNA-124 与 Toll 样受体(TLRs) TLRs 是一种病原体相关分子模式识别受体,识别高度保守的

微生物组分-病原相关分子模式,同时也是一种损害相关的分子模式家族识别受体,在肾小管上皮细胞、系膜细胞和足细胞等肾脏固有细胞中表达^[18-19]。实验显示,TLRs尤其是TLR2和TLR4,在1型糖尿病和2型糖尿病中的表达均增加,TLR4介导的炎症反应可能在2型糖尿病患者 β 细胞功能障碍中发挥作用,并对局部胰岛素敏感性及肾小球硬化的发生和发展产生影响。TLRs可通过对细胞内的核因子- κ B、干扰素调节因子及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等信号通路的识别和激活,诱导下游的炎症因子[如白细胞介素(IL)-1、IL-6、单核细胞趋化蛋白-1、细胞间黏附分子-1、受激活调节正常T细胞表达和分泌因子等]的基因表达,而上述炎症因子的释放与肾小球肾炎、肾毒性损害的进展密切相关^[20]。研究显示,在炎症反应中,miRNA-124可以抑制TLRs通路中肿瘤坏死因子受体相关因子6和IL-1受体相关激酶1,抑制下游核因子- κ B的活化及IL-6、肿瘤坏死因子- α 的表达^[21]。因此推测,miRNA-124可能作用于TLRs通路进而调控后者下游炎症因子,通过调节慢性炎症反应过程,调控DKD的进程。

3.2 miRNA-124 作用于信号转导及转录激活因子(STAT)3 在肾小球系膜细胞中,STAT3可以通过增加TGF- β_1 的产生,刺激纤连蛋白分泌,发挥促进肾纤维化的作用^[22]。另有研究显示,STAT3基因敲除小鼠的尿白蛋白水平较野生型小鼠显著降低,与后者相比,系膜基质和肾小球内细胞增殖程度及炎症反应指标如IL-6、单核细胞趋化蛋白-1、核因子- κ B、IV型胶原、TGF- β 及细胞间黏附分子mRNA表达均显著降低,提示STAT3参与促进DKD的发生、发展^[23]。关于溃疡性结肠炎的研究表明,结肠上皮细胞miRNA-124表达下调,miRNA-124/STAT3信号通路活化,下游血管内皮生长因子(VEGF)、B淋巴细胞瘤蛋白2、B淋巴细胞瘤蛋白-XL和基质金属蛋白酶9等表达显著增加,过表达miRNA-124后,STAT3通路活性受抑制^[24]。miRNA-124是否通过靶向作用于STAT3在DKD中发挥作用,目前尚无研究证实。

3.3 miRNA-124 作用于磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路 PI3K/Akt信号通路与细胞生长、增殖、凋亡以及迁徙等相关,研究证实PI3K/Akt信号通路的异常与肾脏疾病密切相关^[25]。

第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因是PI3K/Akt信号通路的抑制因子,通过在3'羧

基位脱磷酸生成磷脂酰肌醇4,5二磷酸,拮抗PI3K的作用,对PI3K/Akt通路起负调控的作用。在糖尿病小鼠的肾小球系膜细胞中,PI3K/Akt信号通路激活最终致使Akt磷酸化并导致Akt组成型激活。而激活的Akt可导致肾小球系膜细胞的扩张和肥厚^[25]。PIK3CA是PI3K的亚基,活化的PI3K可以使3,4,5-三磷酸脂酰肌醇生成增加,激活下游的Akt和信号分子[如凋亡相关蛋白caspase-9、核因子- κ B、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)和糖原合酶激酶-2等],调控生物体内细胞生长和凋亡等。其中mTOR在调节自噬的启动阶段发挥重要作用,活化的mTOR可抑制自噬的发生,而PI3K/Akt/mTOR信号通路也被认为与缺血/再灌注诱发的肾损伤及炎症反应密切相关^[26]。PIK3CA是miRNA-124的靶基因之一,PIK3CA的3'UTR存在miRNA-124的稳定结合位点,miRNA-124能够直接与PIK3CA结合并抑制其转录以及其蛋白质的翻译,进而抑制PI3K/Akt信号通路,调控细胞周期,将细胞阻滞于G₀/G₁期,进而起到抑制细胞的增殖、侵袭和转移的作用^[27]。在脂肪细胞中,胰岛素以一种PI3K依赖的方式进一步上调miRNA-124的表达,PI3K抑制剂LY294002可抑制基础miRNA-124的表达,以及胰岛素引起的miRNA-124的表达,并且在胰岛素对miRNA-124表达的调节过程中,PI3K的激活是必须步骤^[28]。也有研究指出,miRNA-124通过直接结合于ROCK1抑制后者表达,进而影响ROCK1下游Akt的功能^[29]。因此推测,在肾脏中miRNA-124可以作用于PI3K/Akt通路,调控DKD的进程,而miRNA-124和PTEN之间是否存在相互作用,目前尚无相关研究报道。

DKD的发生、发展受多因素的综合作用,分子机制尚不完全明确。miRNA-124可能在DKD的发生与发展过程中参与肾脏的纤维化并在肾脏炎症反应中起重要作用,进一步研究其在DKD中的作用机制,有望为DKD早期诊断和治疗提供新的思路。

参 考 文 献

- [1] Ebert MS, Sharp PA. Roles for microRNAs in conferring robustness to biological processes[J]. Cell, 2012, 149(3): 515-524. DOI:10.1016/j.cell.2012.04.005.
- [2] Lovis P, Gattesco S, Regazzi R. Regulation of the expression of components of the exocytotic machinery of insulin-secreting cells by microRNAs[J]. Biol Chem, 2008, 389(3): 305-312. DOI: 10.1515/BC.2008.026.
- [3] Qadir AS, Woo KM, Ryoo HM, et al. Insulin suppresses distal-

- less homeobox 5 expression through the up-regulation of microRNA-124 in 3T3-L1 cells [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319 (14) : 2125-2134. DOI:10.1016/j.yexcr.2013.04.020.
- [4] Ridley AJ. Rho GTPase signalling in cell migration[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2015, 36:103-112. DOI:10.1016/j.ceb.2015.08.005.
- [5] Komers R, Oyama TT, Beard DR, et al. Effects of systemic inhibition of Rho kinase on blood pressure and renal haemodynamics in diabetic rats [J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 162 (1) : 163-174. DOI:10.1111/j.1476-5381.2010.01031.x.
- [6] An L, Liu Y, Wu A, et al. microRNA-124 inhibits migration and invasion by down-regulating ROCK1 in glioma [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7) : e69478. DOI:10.1371/journal.pone.0069478.
- [7] Xu X, Li S, Lin Y, et al. MicroRNA-124-3p inhibits cell migration and invasion in bladder cancer cells by targeting ROCK1 [J]. *J Transl Med*, 2013, 11:276. DOI:10.1186/1479-5876-11-276.
- [8] Jun JH, Joo CK. MicroRNA-124 controls transforming growth factor β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in the retinal pigment epithelium by targeting RHOG [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(1) :12-22. DOI:10.1167/iovs.15-17111.
- [9] Wu JH, Gao Y, Ren AJ, et al. Altered microRNA expression profiles in retinas with diabetic retinopathy [J]. *Ophthalmic Res*, 2012, 47(4) :195-201. DOI:10.1159/000331992.
- [10] Ishizaka M, Gohda T, Takagi M, et al. Podocyte-specific deletion of Rac1 leads to aggravation of renal injury in STZ-induced diabetic mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 467 (3) :549-555. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.09.158.
- [11] Eid AA, Gorin Y, Fagg BM, et al. Mechanisms of podocyte injury in diabetes: role of cytochrome P450 and NADPH oxidases [J]. *Diabetes*, 2009, 58 (5) : 1201-111. DOI: 10.2337/db08-1536.
- [12] Mouawad F, Tsui H, Takano T. Role of Rho-GTPases and their regulatory proteins in glomerular podocyte function [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2013, 91 (10) : 773-782. DOI: 10.1139/cjpp-2013-0135.
- [13] Wang S, Chen C, Su K, et al. Angiotensin II induces reorganization of the actin cytoskeleton and myosin light-chain phosphorylation in podocytes through rho/ROCK-signaling pathway [J]. *Ren Fail*, 2016, 38 (2) : 268-275. DOI: 10.3109/0886022X.2015.1117896.
- [14] Cao X, Pfaff SL, Gage FH. A functional study of miR-124 in the developing neural tube [J]. *Genes Dev*, 2007, 21 (5) : 531-536. DOI:10.1101/gad.1519207.
- [15] Li D, Lu Z, Jia J, et al. MiR-124 is related to podocytic adhesive capacity damage in STZ-induced uninephrectomized diabetic rats [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2013, 37 (4-5) : 422-431. DOI: 10.1159/000355721.
- [16] Li D, Lu Z, Jia J, et al. Curcumin ameliorates Podocytic adhesive capacity damage under mechanical stress by inhibiting miR-124 expression [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2013, 38 (1) : 61-71. DOI:10.1159/000355755.
- [17] Soetikno V, Suzuki K, Veeraveedu PT, et al. Molecular understanding of curcumin in diabetic nephropathy [J]. *Drug Discov Today*, 2013, 18 (15-16) : 756-763. DOI: 10.1016/j.drudis.2013.04.009.
- [18] Vaure C, Liu Y. A comparative review of toll-like receptor 4 expression and functionality indifferent animal species [J]. *Front Immunol*, 2014, 5:316. DOI:10.3389/fimmu.2014.00316.
- [19] Gluba A, Banach M, Hannam S, et al. The role of Toll-like receptors in renal diseases [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2010, 6(4) :224-235. DOI:10.1038/nrneph.2010.16.
- [20] Ma J, Chadban SJ, Zhao CY, et al. TLR4 activation promotes podocyte injury and interstitial fibrosis in diabetic nephropathy [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (5) : e97985. DOI: 10.1371/journal.pone.0097985.
- [21] Qiu S, Feng Y, LeSage G, et al. Chronic morphine-induced microRNA-124 promotes microglial immunosuppression by modulating P65 and TRAF6 [J]. *J Immunol*, 2015, 194(3) :1021-1030. DOI:10.4049/jimmunol.1400106.
- [22] Chuang PY, He JC. JAK/STAT signaling in renal diseases [J]. *Kidney Int*, 2010, 78 (3) : 231-234. DOI: 10.1038/ki.2010.158. DOI:10.1038/ki.2010.158.
- [23] Lu TC, Wang ZH, Feng X, et al. Knockdown of Stat3 activity *in vivo* prevents diabetic glomerulopathy [J]. *Kidney Int*, 2009, 76 (1) :63-71. DOI:10.1038/ki.2009.98.
- [24] Wei J, Wang F, Kong LY, et al. miR-124 inhibits STAT3 signaling to enhance T cell-mediated immune clearance of glioma [J]. *Cancer Res*, 2013, 73 (13) : 3913-3926. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4318.
- [25] Tian J, Wang Y, Guo H, et al. The Akt/mTOR/p70S6K pathway is activated in IgA nephropathy and rapamycin may represent a viable treatment option [J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 99(3) :435-440. DOI:10.1016/j.yexmp.2015.08.004.
- [26] Kato M, Putta S, Wang M, et al. TGF-beta activates Akt kinase through a microRNA-dependent amplifying circuit targeting PTEN [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11 (7) : 881-889. DOI: 10.1038/ncb1897.
- [27] Lang Q, Ling C. MiR-124 suppresses cell proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting PIK3CA [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 426 (2) : 247-252. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.08.075.
- [28] Qadir AS, Woo KM, Ryoo HM, et al. Insulin suppresses distal-less homeobox 5 expression through the up-regulation of microRNA-124 in 3T3-L1 cells [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319 (14) : 2125-2134. DOI:10.1016/j.yexcr.2013.04.020.
- [29] Gu X, Meng S, Liu S, et al. miR-124 represses ROCK1 expression to promote neurite elongation through activation of the PI3K/Akt signal pathway [J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 52 (1) : 156-165. DOI:10.1007/s12031-013-0190-6.

(收稿日期:2016-05-16)