

## · 论著 ·

## miRNA-192 靶向调控 WT1 在高糖诱导足细胞 EMT 中的作用

李梦岚<sup>1</sup> 谭琴<sup>1</sup> 徐秀<sup>2</sup><sup>1</sup>武汉市中心医院内分泌科 430000; <sup>2</sup>华中科技大学同济医学院附属同济医院肾内科, 武汉 430000

通信作者:李梦岚,Email:limenglan56@163.com

**【摘要】 目的** 探讨 miRNA-192 靶向调控 Wilms 肿瘤蛋白 1 (WT1) 在高糖诱导足细胞上皮-间充质转化 (EMT) 中的作用。**方法** 以人肾小球足细胞为研究对象, 将细胞分为 4 组: 空白对照组、高糖组、阴性对照组、miRNA-192 抑制组。采用 Western 印迹检测各组足细胞表面标志蛋白肾病蛋白 (nephrin)、WT1、转化生长因子 (TGF)- $\beta$ 1、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA) 的蛋白表达水平; qRT-PCR 检测各组细胞 miRNA-192、WT1、TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA mRNA 表达水平; 采用双荧光素酶靶标实验验证 miRNA-192 与 WT1 基因的靶向关系。**结果** 与空白对照组相比, 高糖组和阴性对照组 nephrin 的蛋白表达水平显著降低, 差异有统计学意义 ( $F = 444.404, P < 0.05$ ); miRNA-192 相对表达量升高而 WT1 蛋白及 mRNA 表达水平均降低 ( $F = 184.216, 243.543, 107.898, P$  均  $< 0.05$ ); 双荧光素酶报告基因实验分析结果显示, WT1 是 miRNA-192 的靶基因; 与空白对照组相比, 高糖组和阴性对照组 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 mRNA 表达水平均升高 ( $F_{\text{TGF-}\beta 1 \text{ 蛋白}} = 69.014, P < 0.05; F_{\alpha\text{-SMA 蛋白}} = 87.644, P < 0.05; F_{\text{TGF-}\beta 1 \text{ mRNA}} = 147.714, F_{\alpha\text{-SMA mRNA}} = 247.584, P < 0.05$ )。与阴性对照组相比, miRNA-192 抑制组 nephrin 的蛋白表达水平升高 ( $t = 16.519, P < 0.05$ ), miRNA-192 相对表达量降低、WT1 蛋白及 mRNA 表达水平升高 ( $t_{\text{miRNA-192}} = 10.533, t_{\text{WT1}} = 17.088, 8.186, P$  均  $< 0.05$ ); TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 mRNA 蛋白表达水平均降低 ( $t_{\text{TGF-}\beta 1 \text{ 蛋白}} = 6.114, P < 0.05; t_{\alpha\text{-SMA 蛋白}} = 7.941, P < 0.05; t_{\text{TGF-}\beta 1 \text{ mRNA}} = 8.239, t_{\alpha\text{-SMA mRNA}} = 8.481, P$  均  $< 0.05$ )。**结论** miRNA-192 靶向调控 WT1 促进糖尿病肾病的发展, 其作用机制可能与足细胞 EMT 有关; 抑制 miRNA-192 的表达可减轻高糖诱导的足细胞 EMT。

**【关键词】** miRNA-192; Wilms 肿瘤蛋白 1; 糖尿病肾病; 足细胞; 上皮-间充质转化

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20200310-03025

**The role of miRNA-192 targeted regulation of WT1 in high glucose induced EMT in podocytes** Li Menglan<sup>1</sup>, Tan Qin<sup>1</sup>, Xu Xiu<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Department of Endocrinology, The Central Hospital of Wuhan, Wuhan 430000, China; <sup>2</sup>Department of Nephrology, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430000, China  
Corresponding author: Li Menglan, Email: limenglan56@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the role of miRNA-192 in the regulation of Wilms' tumor 1 protein (WT1) induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) in podocytes. **Methods** Human glomerular podocytes were divided into four groups: blank control group, high glucose group, negative control group, miRNA-192 inhibition group. Western blotting was used to detect the expression level of the surface marker proteins nephrin, WT1, transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) and  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) in podocytes of each group. The expression of miRNA-192 and WT1 mRNA in each group were detected by qRT-PCR. The targeting relationship between miRNA-192, WT1, TGF- $\beta$ 1 and  $\alpha$ -SMA gene was verified by double luciferase target experiment. **Results** Compared with blank control group, the expression level of nephrin in high glucose group and negative control group was significantly lower ( $F = 444.404, P < 0.05$ ). The relative expression of miRNA-192 increased while that of WT1 protein and mRNA decreased ( $F = 184.216, 243.543, 107.898, \text{all } P < 0.05$ ). WT1 was the target gene of miRNA-192 according to the analysis of double luciferase reporter gene. Compared with blank control group, the expression levels of

TGF- $\beta$ 1,  $\alpha$ -SMA protein and mRNA in high glucose group and negative control group were increased ( $F_{\text{TGF-}\beta 1 \text{ protein}} = 69.014$ ,  $P < 0.05$ ;  $F_{\alpha\text{-SMA protein}} = 87.644$ ,  $P < 0.05$ ;  $F_{\text{TGF-}\beta 1 \text{ mRNA}} = 147.714$ ,  $F_{\alpha\text{-SMA mRNA}} = 247.584$ , all  $P < 0.05$ ). Compared with negative control group, the expression level of nephrin in miRNA-192 inhibition group was increased ( $t = 16.519$ ,  $P < 0.05$ ), the relative expression of miRNA-192 was decreased, and the relative expression of WT1 protein and mRNA were increased ( $t_{\text{miRNA-192}} = 10.533$ ,  $t_{\text{WT1}} = 17.088$ ,  $8.186$ , all  $P < 0.05$ ). The expression levels of TGF- $\beta$ 1,  $\alpha$ -SMA protein and mRNA protein were decreased ( $t_{\text{TGF-}\beta 1 \text{ protein}} = 6.114$ ,  $P < 0.05$ ;  $t_{\alpha\text{-SMA protein}} = 7.941$ ,  $P < 0.05$ ;  $t_{\text{TGF-}\beta 1 \text{ mRNA}} = 8.239$ ,  $t_{\alpha\text{-SMA mRNA}} = 8.481$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** miRNA-192 can promote the development of diabetic nephropathy by targeting WT1. Inhibition of miRNA-192 expression can reduce the EMT induced by high glucose in podocytes.

**【Key words】** miRNA-192; Wilms' tumor 1 protein; Diabetic nephropathy; Podocytes; Epithelial-mesenchymal transition

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20200310-03025

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是由糖尿病引起的肾脏微血管病变<sup>[1]</sup>。研究发现,足细胞损伤是DN的主要发病机制,主要包括足细胞肥大、上皮-间充质转化(EMT)、足细胞脱落和凋亡等<sup>[2]</sup>。肾病蛋白(nephrin)是足细胞成熟的标志性分子,具有维持足细胞完整和肾小球滤过功能的作用。研究表明,在各种蛋白尿性肾脏疾病以及肾小球疾病的动物模型中,肾病蛋白的表达降低,且肾病蛋白的低表达与足细胞损伤及肾脏疾病的进展有关<sup>[3-4]</sup>。微小RNA(microRNA, miRNA)作为小分子非编码RNA可通过抑制或降解靶基因mRNA,参与生物体的多种生理及病理过程。在DN患者的肾组织中可见特异性miRNA的表达,其在一定程度上可反映患者病情的改变<sup>[5]</sup>。最近研究表明,miRNA-192在肾脏病理生理过程中起关键作用,miRNA-192的表达与DN有关<sup>[6]</sup>。Wilms肿瘤蛋白1(WT1)是Wilms瘤抑癌基因,在肾组织中特异性表达于足细胞,是足细胞的标志蛋白<sup>[7]</sup>。本实验通过高糖诱导足细胞并检测miRNA-192及WT1的表达水平,探讨二者在高糖诱导足细胞损伤中的作用机制,为临床治疗DN提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验主要试剂 人肾小球足细胞(human podocyte cell, HPC)、葡萄糖(均购自美国Sigma公司)、DAB显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)、Lipofectamine 2000[购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司]、miRNA-192抑制剂及其阴性对照(均购自上海吉玛生物科技公司)、Trizol、miRNA-192、U6引物(Invitrogen公司)、WT1、转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)、GAPDH普通PCR上下游引物(上海生工公司)、

WT1兔单克隆抗体(ab224806)、肾病蛋白兔单克隆抗体(ab227806)、TGF- $\beta$ 1小鼠单克隆抗体(ab190503)、 $\alpha$ -SMA兔单克隆抗体(ab32575)、 $\beta$ -actin兔单克隆抗体(ab179467,美国Abcam公司)、山羊抗兔二抗、山羊抗鼠二抗(购自美国LI-COR公司)。

1.1.2 细胞培养及分组 足细胞复苏后在含10%胎牛血清及5.5 mmol/L葡萄糖的RPMI 1640培养基中,于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱培养,每2 d换1次液,待细胞生长至细胞融合80%时用含0.05%胰蛋白酶的消化液进行消化传代,然后转入37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱分化14 d。选取在37℃条件下分化为树枝状的HPC为研究对象,并将细胞分为4组:A组为空白对照组:细胞正常培养(5.5 mmol/L葡萄糖),不做处理;B组为高糖组:在细胞中加入30 mmol/L葡萄糖;C组为阴性对照组:在细胞中转染终浓度为50 nmol/L的miRNA NC,转染6 h后加入30 mmol/L葡萄糖进行培养;D组为miRNA-192抑制组:在细胞中转染终浓度为50 nmol/L的miRNA-192 Inhibitor,转染6 h后加入30 mmol/L葡萄糖进行培养。细胞处理后继续培养48 h进行后续实验。

### 1.2 观察指标

1.2.1 采用Western印迹检测各组足细胞表面标志蛋白肾病蛋白、WT1、TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA的蛋白表达水平 收集各组对数生长期细胞提取总蛋白,取40  $\mu$ g与上样缓冲液混合,100℃加热5 min后通过10% SDS-PAGE电泳分离,90 V电压转膜至PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭1 h,洗膜后加入肾病蛋白、WT1、TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA一抗4℃过夜,以辣根过氧化物酶标记的二抗孵育2 h,用化学发光法显色,凝胶成像系统拍照。以 $\beta$ -actin为内参,每组实验重复

3 次。

**1.2.2 qRT-PCR 检测各组细胞 miRNA-192、WT1、TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA mRNA 表达水平** 取各组细胞分别加入 1 ml Trizol, 混合均匀后冰上裂解 5 min, 12 000 g 离心 15 min; 取上清加入 200  $\mu$ l 氯仿, 充分混匀后冰上静置 10 min, 12 000 g 离心 10 min; 弃上清, 加入 75% 乙醇 7 500 g 离心 5 min, 室温晾干, 加入 DEPC 水溶解。按照逆转录试剂盒将总 RNA 逆转成 cDNA, 取 1  $\mu$ l cDNA 作为模板进行 qRT-PCR 扩增。反应条件: 预变性 95 $^{\circ}$ C 5 min, 95 $^{\circ}$ C 30 s, 56 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 40 个循环后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。每个样本重复检测 3 次。miRNA-192 上游引物: 5'-CGCG-GCTGACCTATGAATTG-3', 下游引物: 5'-CAGTG-CAGGGTCCGAGGTATT-3'; U6 上游引物: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 下游引物: 5'-AACGCT-TACGAATTTGCGT-3'。每组基因的相对表达量按公式( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法)计算。引物设计见表 1。

**1.2.3 miRNA-192 与 WT1 基因的靶向关系** 采用双荧光素酶报告基因实验验证 miRNA-192 与 WT1 基因的靶向关系。本实验通过分别扩增出含 miRNA-192 结合位点的 WT1 3' UTR 序列(tcTT-GTCTAACATTCCCGAGGTCAg)及 miRNA-192 结合位点突变的 WT1 3' UTR 序列(tcTTTTCTAACAGTC-CCGGTTCCAg), 将其插入到荧光素酶报告基因载体(psiCHECK2)上, 构建野生型 WT1-Wt 和突变型 WT1-Mut 重组质粒。根据 Lipofectamine 2000 转染试剂说明书进行转染, 按照 1  $\mu$ g 重组质粒, 2  $\mu$ l Lipofectamine 2000 比例稀释后, 将其与 Lipofectamine

2000 混合液分别与 miRNA-192 抑制剂及阴性对照共转染至足细胞中, 置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱继续培养 6 h 后更换为新鲜的、含有 10% 胎牛血清的培养基中培养 48 h, 收集并裂解细胞, 12 000 g 离心 5 min, 取上清用于测定, 按双荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书检测荧光素酶活性。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 24.0 统计软件进行数据分析, 所有实验数据均呈正态分布, 结果用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用单因素方差分析比较组间差异, 进一步组间两两比较采用 LSD-t 检验; 两组间比较采用独立样本 t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组细胞肾病蛋白的蛋白表达水平** 与 A 组相比, B 组和 C 组肾病蛋白的蛋白表达水平显著降低( $F = 444.404, P < 0.05$ ); 与 C 组相比, D 组肾病蛋白的蛋白表达水平升高( $t = 16.519, P < 0.05$ ), 见图 1。

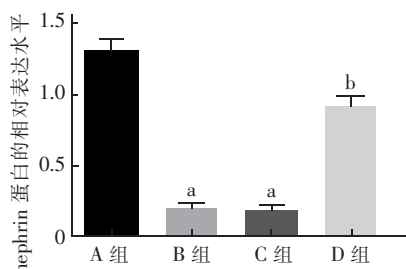
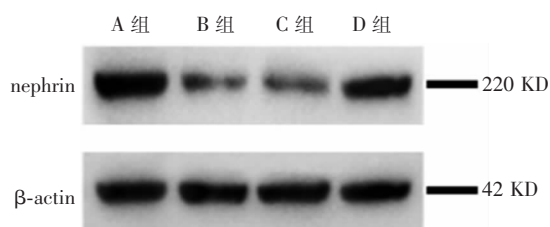
**2.2 各组细胞 miRNA-192 的相对表达量** 与 A 组相比, B 组和 C 组 miRNA-192 相对表达量显著升高( $F = 184.216, P < 0.05$ ); 与 C 组相比, D 组 miRNA-192 相对表达量降低( $t = 10.533, P < 0.05$ ), 见图 2。

**2.3 各组细胞 WT1 蛋白及 mRNA 的表达水平** 与 A 组相比, B 组和 C 组 WT1 蛋白及 mRNA 表达水平均显著降低( $F = 243.543, P < 0.05; F = 107.898, P < 0.05$ ); 与 C 组相比, D 组 WT1 蛋白及 mRNA 表达水平升高( $t = 17.088, P < 0.05; t = 8.186, P < 0.05$ ), 见图 3。

表 1 qRT-PCR 检测各基因引物序列

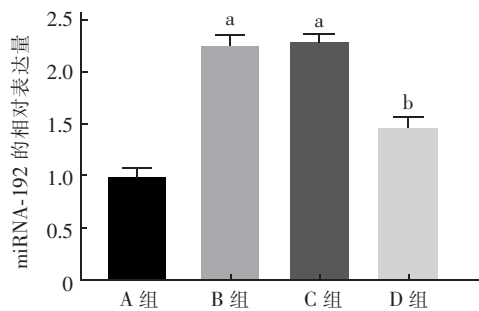
基因	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')	产物大小(bp)	退火温度( $^{\circ}$ C)
WT1	CCACAGCACAGGTTACGAGAG	TCTCAGATGCCGACCGATCAA	152	56
TGF- $\beta$ 1	GCGAGTGGTTGAGCCGTGGA	TGTTGGACAGCTGCTCCACCT	510	56
$\alpha$ -SMA	CTGTTCCAGCCATCCTTCAT	CCGTGATCTCCTTCTGCATT	175	56
GAPDH	CACCCACTCCTCCACCTTTG	CCACCACCTGTTGCTGTAG	220	56

注: WT1: Wilms 肿瘤蛋白 1; TGF- $\beta$ 1: 转化生长因子- $\beta$ 1;  $\alpha$ -SMA:  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶



注: A 组: 空白对照组; B 组: 高糖组; C 组: 阴性对照组; D 组: miRNA-192 抑制组; 与 A 组相比,  $^a P < 0.05$ ; 与 C 组相比,  $^b P < 0.05$ ; nephrin: 肾病蛋白

图 1 各组细胞肾病蛋白的蛋白表达水平



注: WT1: Wilms 肿瘤蛋白 1; A 组: 空白对照组; B 组: 高糖组; C 组: 阴性对照组; D 组: miRNA-192 抑制组; 与 A 组相比,  $^aP < 0.05$ ; 与 C 组相比,  $^bP < 0.05$

图 2 各组细胞 miRNA-192 及 WT1 mRNA 的相对表达量

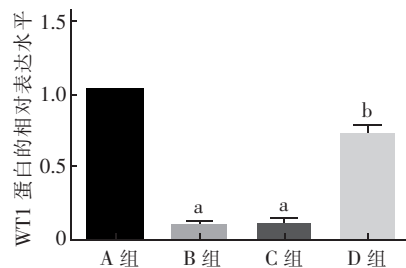
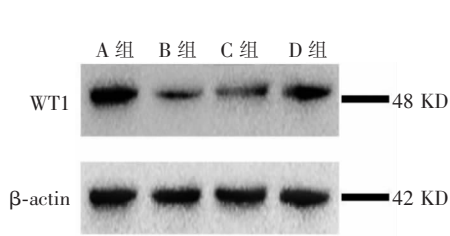
**2.4 miRNA-192 与 WT1 基因的靶向关系验证** 双荧光素酶报告基因实验分析结果显示, miRNA-192 与 WT1 基因 3'-UTR 存在互补结合位点, miRNA-192 与 WT1 能够靶向结合。荧光素酶活性检测结果显示, 抑制 miRNA-192 后可明显促进荧光素酶活性; 而

将 WT1 的 3'-UTR 突变后, 荧光素酶活性无变化, 见图 4。

**2.5 各组细胞 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 mRNA 表达水平** 与 A 组相比, B 组、C 组 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 mRNA 表达水平均显著升高 ( $F_{\text{TGF-}\beta\text{1 蛋白}} = 69.014$ ,  $P < 0.05$ ;  $F_{\alpha\text{-SMA 蛋白}} = 87.644$ ,  $P < 0.05$ ;  $F_{\text{TGF-}\beta\text{1 mRNA}} = 147.714$ ,  $P < 0.05$ ;  $F_{\alpha\text{-SMA mRNA}} = 247.584$ ,  $P < 0.05$ ); 与 C 组相比, D 组 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 mRNA 蛋白表达水平均降低 ( $t_{\text{TGF-}\beta\text{1 蛋白}} = 6.114$ ,  $P < 0.05$ ;  $t_{\alpha\text{-SMA 蛋白}} = 7.941$ ,  $P < 0.05$ ;  $t_{\text{TGF-}\beta\text{1 mRNA}} = 8.239$ ,  $P < 0.05$ ;  $t_{\alpha\text{-SMA mRNA}} = 8.481$ ,  $P < 0.05$ ), 见图 5。

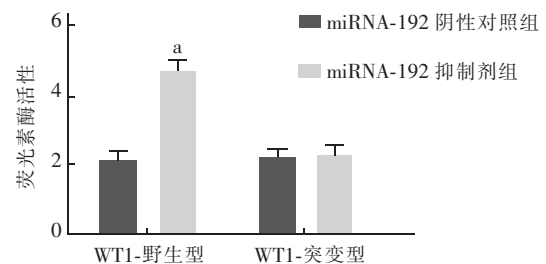
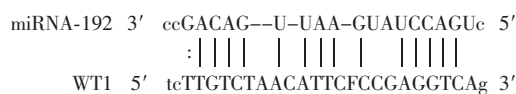
### 3 讨论

DN 是造成终末期肾功能衰竭最普遍的原因, 也是主要的糖尿病微血管并发症之一, 是全世界肾脏病患者发病和死亡的主要原因<sup>[8]</sup>。足细胞是一种高度分化的肾小球上皮细胞, 其形态及功能异常



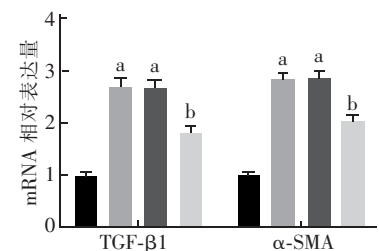
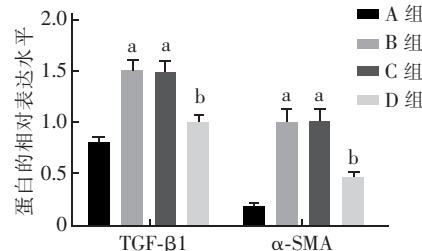
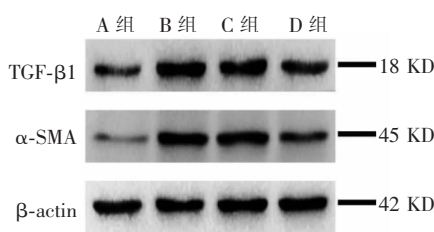
注: A 组: 空白对照组; B 组: 高糖组; C 组: 阴性对照组; D 组: miRNA-192 抑制组; 与 A 组相比,  $^aP < 0.05$ ; 与 C 组相比,  $^bP < 0.05$ ; WT1: Wilms 肿瘤蛋白 1

图 3 各组细胞 WT1 蛋白表达水平



注: 与阴性对照组相比,  $^aP < 0.05$ ; WT1: Wilms 肿瘤蛋白 1

图 4 miRNA-192 与 WT1 基因的靶向关系



注: A 组: 空白对照组; B 组: 高糖组; C 组: 阴性对照组; D 组: miRNA-192 抑制组; 与 A 组相比,  $^aP < 0.05$ ; 与 C 组相比,  $^bP < 0.05$ ; TGF- $\beta$ 1: 转化生长因子- $\beta$ 1;  $\alpha$ -SMA:  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白

图 5 各组细胞 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 mRNA 表达水平

是 DN 白蛋白尿产生及肾小球纤维化的重要原因之一<sup>[9]</sup>。研究表明,miRNA 在 DN 的发生、发展过程中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。miRNA-192 是在肾脏组织中尤其是系膜细胞中特异性表达的 miRNA,可调控系膜细胞的增殖和凋亡并促进肾纤维化,与 DN 的发生、发展密切相关<sup>[11-12]</sup>。陈月英等<sup>[13]</sup>研究发现,miRNA-192 水平在 DN 患者尿液中表达显著升高,且与肾功能损伤程度相关。动物实验研究发现,糖尿病小鼠肾皮质中 miRNA-192 的表达增加,用体内缺乏 miRNA-192 基因的小鼠建立糖尿病模型后,肾组织纤维化及肥大程度减轻,白蛋白尿排泄率下降<sup>[14]</sup>。本研究采用高糖诱导足细胞,结果发现,与 A 组相比,B 组和 C 组肾蛋白的蛋白表达水平显著降低,而 miRNA-192 相对表达量升高;与 C 组相比,D 组肾蛋白的蛋白表达水平升高、miRNA-192 相对表达量降低。提示高糖可导致足细胞 miRNA-192 表达水平升高,足细胞功能损伤;抑制 miRNA-192 表达后可减轻足细胞损伤。

miRNAs 是一类可对基因表达进行转录后调控的分子,其可通过下游靶点对机体生长、发育、分化及凋亡等生理过程的调控起重要作用<sup>[15]</sup>。WT1 是一种转录因子,参与足细胞分化并维持足细胞的功能,其在成熟足细胞中高度表达,研究发现,肾小球硬化小鼠的成熟足细胞中 WT1 基因表达显著降低<sup>[16-17]</sup>。高原等<sup>[18]</sup>研究发现,IgA 肾病患者肾组织 WT1 表达降低,促进肾小管上皮细胞转分化,加重肾间质纤维化。本研究结果发现,高糖诱导足细胞中 WT1 基因表达降低,与 C 组相比,D 组 WT1 蛋白表达水平及 mRNA 表达水平升高;进一步对 miRNA-192 与 WT1 基因的靶向关系进行验证,结果发现,miRNA-192 与 WT1 基因 3'-UTR 存在互补结合位点,miRNA-192 与 WT1 能够靶向结合。提示 miRNA-192 可能通过靶向调控 WT1,在高糖诱导足细胞损伤中发挥重要作用。

研究发现,损伤的肾小管上皮细胞诱导成纤维细胞和肌成纤维细胞积累,并通过 EMT 最终导致小管间质纤维化和慢性肾脏疾病的进展<sup>[19]</sup>。DN 时足细胞转分化仅有 EMT 相关表型蛋白的表达变化,主要表现为上皮表型蛋白 E-钙黏蛋白(E-cadherin)、紧密连接蛋白 1、肾蛋白等表达逐渐缺失,同时间质表型蛋白基质金属蛋白酶-9、TGF- $\beta$ 1 及  $\alpha$ -SMA 等表达增加<sup>[20]</sup>。在 DN 小鼠模型中发现,肾小球 miRNA-192 的表达增加与 TGF- $\beta$  活性增强有关,对肾脏 miRNA-192 的特异性抑制作用可降低肾组织纤维

化并抑制白蛋白尿反应<sup>[21]</sup>。本研究结果发现,与 A 组相比,B 组和 C 组 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 mRNA 表达水平均显著升高;与 C 组相比,D 组 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 mRNA 蛋白表达水平均降低,提示高糖诱导足细胞发生 EMT,促进 DN 的发展;抑制 miRNA-192 的表达可减轻高糖诱导的足细胞 EMT。

综上所述,高糖诱导的足细胞 miRNA-192 表达升高并靶向调控 WT1 促进 DN 的发展,其作用机制可能与足细胞 EMT 有关;抑制 miRNA-192 的表达可减轻高糖诱导的足细胞 EMT,为今后 DN 的预防和治疗提供新思路。但 miRNA-192 是否通过靶向 WT1 促进足细胞 EMT,有待进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] 吴一鸣,杨震,秦利.糖尿病肾病的表观遗传学机制[J].国际内分泌代谢杂志,2017,37(1):48-51. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2017.01.014.
- [2] 宋凯云,刘必成,汤日宁.内皮-足细胞对话在糖尿病肾病中的研究进展[J].中华肾脏病杂志,2019,35(3):231-235. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2019.03.014.
- [3] 王盈盈,刘青,唐丽琴,等.小檗碱对高糖诱导足细胞功能及相关蛋白表达的影响[J].中国药理学通报,2018,34(8):130-135. DOI:10.3969/j.issn.1001-1978.2018.08.024.
- [4] Verma R, Venkatarreddy M, Kalinowski A, et al. Nephron is necessary for podocyte recovery following injury in an adult mature glomerulus[J]. PLoS One, 2018, 13(6): e0198013. DOI: 10.1371/journal.pone.0198013.
- [5] 王勾琴,王俭勤,梁耀军,等.微小 RNA 在糖尿病肾病患者血清中的表达及临床意义[J].中华肾脏病杂志,2015,31(7):503-508. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2015.07.005.
- [6] Oghbaei H, Asl NA, Sheikhzadeh F, et al. The effect of regular moderate exercise on miRNA-192 expression changes in kidney of streptozotocin-induced diabetic male rats[J]. Adv Pharm Bull, 2015, 5(1):127-132. DOI:10.5681/apb.2015.018.
- [7] 毕逢辰,保莉,罗红艳,等. Cdk5 和 TGF- $\beta$ 1 在糖尿病肾病足细胞中的表达及其作用[J].宁夏医学杂志,2015,37(3):206-208. DOI:10.13621/j.1001-5949.2015.03.0206.
- [8] 赵万霞,王何婷,任月秋,等.糖尿病肾病早期标志物研究新进展[J].国际内分泌代谢杂志,2018,38(3):192-195. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2018.03.012.
- [9] Zhao SM, Zhang T, Qiu Q, et al. MiRNA-337 leads to podocyte injury in mice with diabetic nephropathy[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(19): 8485-8492. DOI: 10.26355/eurrev\_201910\_19161.
- [10] Kato M, Natarajan R. MicroRNAs in diabetic nephropathy: functions, biomarkers, and therapeutic targets[J]. Ann N Y Acad Sci, 2015, 1353(1):72-88. DOI:10.1111/nyas.12758.
- [11] Kato M, Dang V, Wang M, et al. TGF- $\beta$  induces acetylation of

- chromatin and of Ets-1 to alleviate repression of miR-192 in diabetic nephropathy [J]. Sci Signal, 2013, 6 (278): ra43. DOI: 10.1126/scisignal. 2003389.
- [12] Krupa A, Jenkins R, Luo DD, et al. Loss of microRNA-192 promotes fibrogenesis in diabetic nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 21 (3): 438-447. DOI: 10.1681/ASN.2009050530.
- [13] 陈月英, 罗晓星, 谢咏梅, 等. 糖尿病肾病患者尿液 miR-192 的表达及临床意义 [J]. 检验医学与临床, 2018, 15 (18): 2711-2714. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.18.008.
- [14] Deshpande SD, Putta S, Wang M, et al. Transforming growth factor- $\beta$ -induced cross talk between p53 and a microRNA in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Diabetes, 2013, 62 (9): 3151-3162. DOI:10.2337/db13-0305.
- [15] Li N, Ma Y, Ma L, et al. MicroRNA-488-3p sensitizes malignant melanoma cells to cisplatin by targeting PRKDC [J]. Cell Biol Int, 2017, 41 (6): 622-629. DOI:10.1002/cbin.10765.
- [16] Asfahani R I, Tahoun MM, Miller-Hodges EV, et al. Activation of podocyte Notch mediates early, Wt1, glomerulopathy [J]. Kidney Int, 2018, 93 (4): 903-920. DOI:10.1016/j.kint.2017.11.014.
- [17] 王军媛, 赵建红, 刘颖, 等. 芪明颗粒对糖尿病肾病大鼠肾组织 Wt1、Ang II、ET-1 的影响 [J]. 四川中医, 2017, 35 (5): 63-66.
- [18] 高原, 杨林, 王建荣, 等. 高脂血症通过系膜细胞-足细胞轴加重 IgA 肾病肾小管间质病变 [J]. 实用医学杂志, 2018, 34 (14): 2385-2388. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2018.14.026.
- [19] 赵雪谦, 刘云启, 陈志, 等. miRNA-26a 靶向调控 GSK-3 $\beta$  参与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路调节 IgA 肾病肾纤维化 [J]. 现代生物医学进展, 2017, 17 (22): 4232-4238. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2017.22.007.
- [20] 张亚, 尚进, 王璐瑶, 等. NOD2 调控 Snail 表达在糖尿病肾病足细胞上皮-间质转分化中的作用 [J]. 中华肾脏病杂志, 2019, 34 (9): 673-680. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2018.09.006.
- [21] Yang Y, Xiao L, Li J, et al. Urine miRNAs: potential biomarkers for monitoring progression of early stages of diabetic nephropathy [J]. Med Hypotheses, 2013, 81 (2): 274-278. DOI:10.1016/j.mehy.2013.04.031.

(收稿日期:2020-03-10)

(本文编辑:刘欣)

## · 读者 · 作者 · 编者 ·

### 《国际内分泌代谢杂志》对运用统计学方法的有关要求

1. 统计学符号:按 GB/T 3558.1-2009《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体。

2. 研究设计:应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究),实验设计(应告知具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等),临床试验设计(应告知属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等);主要做法应围绕 4 个基本原则(重复、随机、对照、均衡)概要说明,尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3. 资料的表达与描述:用  $\bar{x} \pm s$  表达近似服从正态分布的定量资料,用  $M(Q_R)$  表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于 20,要注意区分百分率与百分比。

4. 统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选择合适的统计学分析方法,不应盲目套用  $t$  检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用  $\chi^2$  检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5. 统计结果的解释和表达:应写明所用统计学方法的具体名称(如:成组设计资料的  $t$  检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的  $q$  检验等),统计量的具体值(如  $t = 3.45$ ,  $\chi^2 = 4.68$ ,  $F = 6.79$  等);在用不等式表示  $P$  值的情况下,一般情况下选用  $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  三种表达方式,无须再细分为  $P < 0.001$  或  $P < 0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,应再给出 95% 可信区间。