

· 论著 ·

microRNA-31 对高糖条件下人足细胞上皮-间充质转分化的影响

乐颖¹ 蒋科威² 薛萌¹ 张秀珍¹ 袁凤易¹

¹深圳市人民医院、暨南大学第二临床医学院、南方科技大学第一附属医院内分泌科 518020; ²深圳市人民医院、暨南大学第二临床医学院、南方科技大学第一附属医院老年病科 518020

通信作者:袁凤易, Email: 1332911160@qq.com

【摘要】 目的 探讨 microRNA-31 (miR-31) 在高糖诱导足细胞上皮-间充质转分化 (EMT) 中的机制。**方法** 将体外培养的人肾小球足细胞按不同糖浓度分为低糖组 (LG)、高渗组 (HM) 和高糖组 (HG); 按是否转染过表达 miR-31 (miR-31 mimics) 分为 miR-31 过表达组 (miR-31m 组)、阴性对照组 (miR-NC 组) 和脂质体组 (Mock 组); 按照是否转染沉默低氧诱导因子-1 抑制剂 (FIH-1) 及沉默 miR-31 (miR-31 inhibitor) 分为 FIH-1 沉默组 (si-FIH-1 组)、miR-31 沉默组 (miR-31i 组)、FIH-1 沉默+miR-31 沉默组 (si-FIH-1+miR-31i 组) 及阴性对照组 (NC 组)。采用实时聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 和 Western blot 检测各组细胞低氧诱导因子-1 抑制剂 (FIH-1)、转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 的 mRNA 和蛋白表达水平; 采用双荧光素酶靶标实验验证 miR-31 与 FIH-1 基因的靶向关系。**结果** 与 LG 和 HM 组比较, HG 组 miR-31 表达水平显著升高 ($F=146.8, P<0.01$), FIH-1 蛋白表达水平明显下降 ($F=54.23, P<0.01$), 而 TGF- β 1 及 α -SMA 蛋白表达水平均显著升高 ($F=360.6, P<0.01; F=193.7, P<0.01$)。双荧光素酶报告基因实验分析结果显示, FIH-1 是 miR-31 的靶基因。si-FIH-1 与 miR-31i 共同转染时, 可以恢复 si-FIH-1 或 miR-31i 单独转染导致的 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达变化。**结论** miR-31 靶向调控 FIH-1 促进足细胞 EMT, 抑制 miR-31 的表达可减轻高糖诱导的足细胞 EMT。

【关键词】 miR-31; 低氧诱导因子-1 抑制剂; 糖尿病肾脏病; 足细胞; 上皮-间充质转分化

基金项目: 广东省医学科研基金项目 (A2021302); 国家自然科学基金青年项目 (81900378)

DOI: 10.3760/ema.j.cn121383-20210426-04077

Effects of microRNA-31 on high-glucose induced epithelial-mesenchymal transition of podocytes Le Ying¹, Jiang Kewei², Xue Meng¹, Zhang Xiuzhen¹, Yuan Fengyi¹. ¹Department of Endocrinology and Metabolism, Shenzhen People's Hospital, Second Affiliated Hospital of Jinan University, the First Affiliated Hospital of Southern University of Science and Technology, Shenzhen 518020, China; ²Department of Geriatrics, Shenzhen People's Hospital, Second Affiliated Hospital of Jinan University, the First Affiliated Hospital of Southern University of Science and Technology, Shenzhen 518020, China

Corresponding author: Yuan Fengyi, Email: 1332911160@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism of microRNA-31 (miR-31) in high-glucose induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) of podocytes. **Methods** According to different sugar concentrations, human glomerular podocytes cultured in vitro were divided into low glucose group (LG), hyperosmolar group (HM) and high glucose group (HG); according to whether transfected miR-31 mimics, podocytes were divided into miR-31m group, negative miR-NC group and Mock group; according to whether transfected si-FIH-1 and miR-31i, podocytes were divided into si-FIH-1 group, miR-31i group, si-FIH-1+miR-31i group and NC group. Western blot was used to detect the protein expression levels of FIH-1, TGF- β 1, and α -SMA in podocytes of each group; qRT-PCR was used to detect the mRNA expression levels of miR-31, FIH-1, TGF- β 1, and α -SMA in podocytes of each group; double luciferase target experiment was used to verify the targeting relationship between miR-31 and FIH-1 gene. **Results** Compared with the

LG and HM group, the expression of miR-31 in the HG group was significantly increased ($F=146.8$, $P<0.01$), and the expression of FIH-1 was significantly decreased ($F=54.23$, $P<0.01$), and the expression of TGF- β 1 and α -SMA were increased significantly ($F=360.6$, $P<0.01$; $F=193.7$, $P<0.01$). The results of the dual luciferase reporter gene experiment showed that FIH-1 was the target gene of miR-31. When si-FIH-1 and miR-31i were co-transfected, the changes in the mRNA and protein expression of FIH-1, TGF- β 1, and α -SMA caused by si-FIH-1 or miR-31i alone were restored. **Conclusion** miR-31 can promote the EMT of podocytes by targeting FIH-1. Inhibiting miR-31 expression can reduce the EMT induced by high glucose in podocytes.

[Keywords] miR-31; FIH-1; Diabetic kidney disease; Podocyte; Epithelial-mesenchymal transition

Fund program: Guangdong Provincial Medical Research Fund Project (A2021302); National Youth Science Foundation (81900738)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20210426-04077

糖尿病肾脏病 (DKD) 是导致终末期肾脏病 (ESRD) 的最主要原因^[1]。足细胞上皮-间充质转分化 (EMT) 是 DKD 进展的重要环节^[2]。明确 EMT 的分子机制对寻找 DKD 干预的靶点从而延缓和阻止 DKD 发生发展具有重要的意义。微小 RNA (miRNA) 是一类长 19~22 核苷酸的单链非编码 RNA, 通过与靶基因 mRNA 的 3' 非翻译区 (3'UTR) 结合, 在基因转录后水平调控基因表达, 研究表明 miRNA 在 DKD 的发生发展过程中发挥重要作用^[3-4], 有关 miR-31 与 DKD 的报道较少。低氧诱导因子-1 抑制剂 (FIH-1) 参与多种慢性肾脏病的损伤^[5-6], TargetScan 和 miRanda 进行靶基因预测, 发现 miR-31 与 FIH-1 的 3'-UTR 区有结合位点。已有研究发现 miR-31/FIH-1 通路参与肿瘤、肝纤维化等疾病的进展^[7-8], 然而其是否参与 DKD 的进展尚未见报道。因此, 本研究拟观察 miR-31 及 FIH-1 在高糖刺激人肾小球足细胞中的表达情况, 并探讨两者在高糖诱导足细胞 EMT 的作用机制, 以期延缓 DKD 进展寻找潜在靶点提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 人肾小球足细胞购自上海中科院细胞库; 胎牛血清、DMEM 低糖 (5.5 mmol/L) 及高糖 (30 mmol/L) 培养基购自美国 Gibco 公司; Lipofectamine 3000 购自美国 Invitrogen 公司; miR-31 过表达 (miR-31 mimics)、miR-31 mimics 阴性对照、miR-31 沉默 (miR-31 inhibitor) 及 miR-31 inhibitor 阴性对照干粉剂购自广州锐博生物科技有限公司; FIH-1 沉默 (FIH-1 siRNA) 及阴性对照 (negative) 购自苏州吉玛基因股份有限公司; miR-31、内参基因

(U6)、FIH-1、转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 引物购自天根生化科技有限公司; FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA、GAPDH 抗体购自美国 Sigma 公司; 罗氏 480 实时荧光定量 PCR 仪购自瑞士 Roche 公司; Odyssey 近红外成像系统购自美国 LI-COR 公司。

1.2 研究方法

1.2.1 细胞培养与分组 将人肾小球足细胞培养于含 10% 胎牛血清的低糖 DMEM 培养液中, 在 37℃ 恒温、5% CO₂ 湿度的培养箱中培养, 2~3 d 传代一次。采用无血清培养基同步化 24 h。细胞分组: 低糖组 (LG, 5.5 mmol/L 葡萄糖)、高渗组 (HM, 5.5 mmol/L 葡萄糖+24.5 mmol/L 甘露醇组)、高糖组 (HG, 30 mmol/L 葡萄糖); 按是否转染 miR-31 mimics (miR-31m) 分为 miR-31m 组、阴性对照组 (miR-NC 组) 和脂质体组 (Mock 组); 用 miR-31 inhibitor (miR-31i) 或 miR-31 inhibitor 阴性对照组 (miR-iNC) 分别转染野生型 FIH-1 的 3'UTR 区载体 (wt-FIH-1-3'UTR) 及突变型 FIH-1 的 3'UTR 区载体 (mt-FIH-1-3'UTR), 分为 wt-FIH-1-3'UTR+miR-iNC 组, wt-FIH-1-3'UTR+miR-31i 组, mt-FIH-1-3'UTR+miR-iNC 组, mt-FIH-1-3'UTR+miR-31i 组; 按照是否转染 si-FIH-1 及 miR-31i 分为 si-FIH-1 组、miR-31i 组、si-FIH-1+miR-31i 组及 si-Negative 组 (NC 组)。

1.2.2 细胞转染 将人肾小球足细胞接种于 12 孔板中, 转染时每孔的细胞密度 60%~70%。按实验分组分别取无菌 1.5 ml EP 管, 加入 125 μ l Opti-MEM 无血清培养基, 再分别加入 20 μ mol/L 的 si-FIH-1、si-Negative、miR-31m、miR-31i、miR-NC、

Mock 或 si-FIH-1+miR-31i 各 5 μ l, 轻柔混匀。将稀释好的共转复合物与 Lipofectamine 3000 混合, 轻柔混匀, 室温静置 5 min 形成复合物。将细胞板每孔内培养基吸出干净, 然后将 25 μ l 上述复合物加入到每孔中, 再加入正常培养基至总体积 1 ml, 轻柔晃动混匀。将细胞板放置在细胞培养箱内, 培养条件为培养条件为 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂。培养 48 h 后收获细胞。

1.2.3 实时聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 实验 采用 qRT-PCR 检测各组足细胞 miR-31、FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA 表达水平。使用 Trizol 试剂从足细胞中提取总 RNA。按照逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录成 cDNA, 取 1 μ l cDNA 作为模板进行 qRT-PCR 扩增。每组基因的相对表达量按照公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。引物设计见表 1。

1.2.4 Western blot 实验 采用 Western blot 检测各组足细胞 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的蛋白表达水平。收集各组对数生长期细胞提取总蛋白, 并使用 BCA 分析法评估蛋白浓度。将相同量的蛋白质 (30 mg) 在 8%~12% SDS-PAGE 凝胶上电泳, 电转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉将其封闭, 洗膜后加入 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜, 然后使用荧光二抗孵育 2 h, 用化学发光检测。使用红外扫描仪获得图像, 并通过 Gelpro32 软件进行定量。以 GAPDH 为内参。

1.2.5 双荧光素酶报告实验 验证 miR-31 与 FIH-1 基因的靶向关系。构建 wt-FIH-1 和 mt-FIH-1 重组质粒。使用 Lipofectamine 3000 转染试剂, 按照 1 μ g 重组质粒, 2 μ l Lipofectamine 3000 比例稀释后, 将混合液分别与 miR-31i 或 miR-iNC 共转染至足细胞中, 转染 48 h 后, 使用双荧光素酶测定试剂盒分析荧光素酶活性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件分析

数据, 各指标数据使用 $\bar{x} \pm s$ 表示。正态分布两两比较采用两独立样本 t 检验, 多组均数比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 高糖刺激足细胞后 miR-31、FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的表达情况 分别用 LG、HM、HG 培养足细胞, 用 qRT-PCR 检测 miR-31 的表达。结果发现: 与 LG 和 HM 组比较, HG 组 miR-31 表达水平显著升高 ($F = 146.8$, $P < 0.01$), 见图 1A。用 qRT-PCR 及 Western blot 分别检测 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA mRNA 及蛋白的表达。结果显示: 与 LG 组和 HM 组比较, HG 组 FIH-1 mRNA 及蛋白表达水平明显下降 (F 值分别为 122.5 及 54.23, $P < 0.01$), 而 TGF- β 1 及 α -SMA mRNA 及蛋白表达水平均显著升高 (F 值分别为 766.4 及 360.6, $P < 0.01$; F 值分别为 2859 及 193.7, $P < 0.01$), LG 组与 HM 组之间基因的 miR-31、mRNA 及蛋白表达水平无统计学差异 ($P > 0.05$), 见图 1B~1D。

2.2 足细胞转染 miR-31mimics 后 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达情况 使用 miR-31m 瞬时转染足细胞, 同时设置 miR-NC 组和 Mock 组, 观察 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达情况。结果显示: 与 miR-NC 组相比, miR-31m 组 FIH-1 的 mRNA (图 2A) 及蛋白 (图 2B、2C) 表达水平均明显下降 ($P < 0.01$), TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA (图 2A) 及蛋白 (图 2B、2C) 表达水平均明显升高 ($P < 0.01$), miR-NC 组与 Mock 组之间基因的 mRNA 及蛋白表达水平无统计学差异 ($P > 0.05$)。

2.3 miR-31 与 FIH-1 基因的靶向关系验证 通过 TargetScan 和 miRanda 进行靶基因预测, 发现 miR-31 可靶向结合 FIH-1 的 3'-UTR, 见图 3A。双荧光素酶报告基因实验分析结果显示, miR-31 与 FIH-1 基因 3'-UTR 存在互补结合位点, miR-31 与

表 1 qRT-PCR 检测引物序列

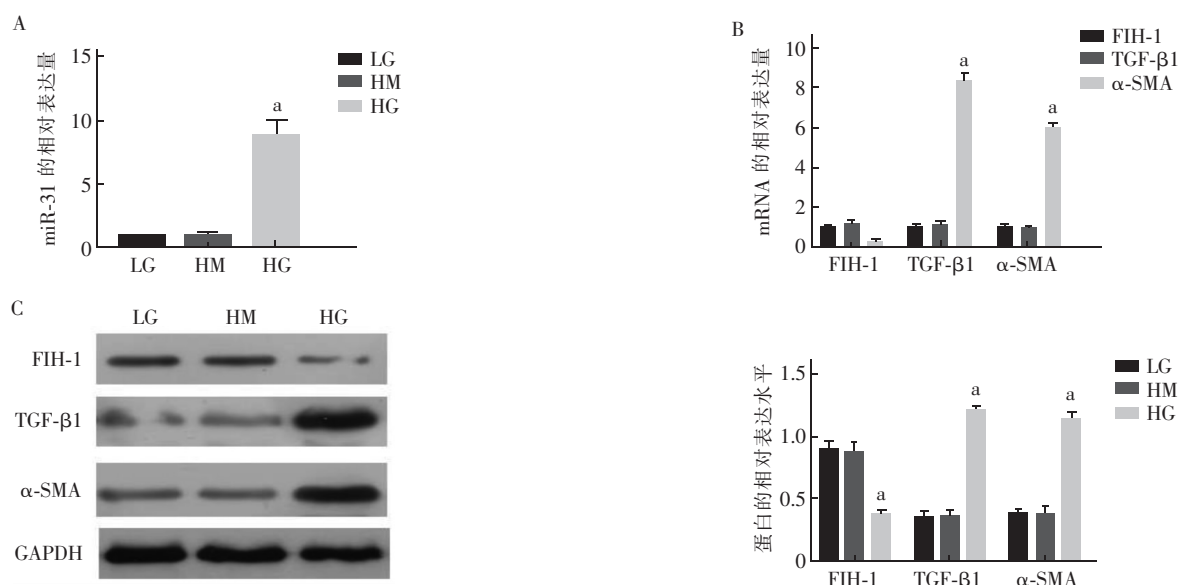
基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
FIH-1	GCTGGACTTTGACAATCCCG	ATGCCACCACTACATTGGGA
TGF- β 1	GGCAGTGGTTGAGCCGTGGA	TGTTGGACAGCTGCTCCACCT
α -SMA	ATCCTCCCTTGAGAAGAGTT	ATGCTGTTGTAGTGCGTTTC
GAPDH	TGTTCCGTATGGGTGTGAAC	ATGGCATGGACTGTGGTCAT
miR-31	ACACTCCAGCTGGGAGGCAAGATGCTGGC	CTCAACTGGTGTGCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGAGCTATGC

注: FIH-1: 低氧诱导因子-1 抑制剂; TGF- β 1: 转化生长因子- β 1; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; qRT-PCR: 实时聚合酶链式反应

FIH-1 能够靶向结合。双荧光素酶活性检测结果显示:抑制 miR-31 后可明显促进荧光素酶活性($t=4.807, P<0.01$);而将 FIH-1 的 3'-UTR 突变后,荧光素酶活性无变化($P>0.05$),见图 3B。

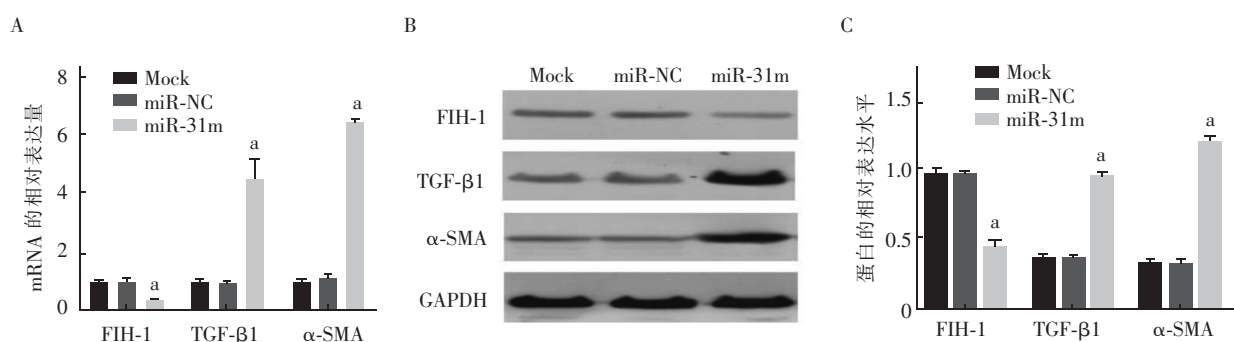
2.4 足细胞共转染 si-FIH-1 与 miR-31 inhibitor 后

FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达情况 我们对足细胞分成 4 组,两组分别转染 si-FIH-1 (si-FIH-1 组)、miR-31 inhibitor (miR-31i 组),一组共同转染 si-FIH-1 + miR-31 inhibitor (si-FIH-1 + miR-31i 组),阴性对照 (NC 组)。用 qRT-PCR 及 Western blot



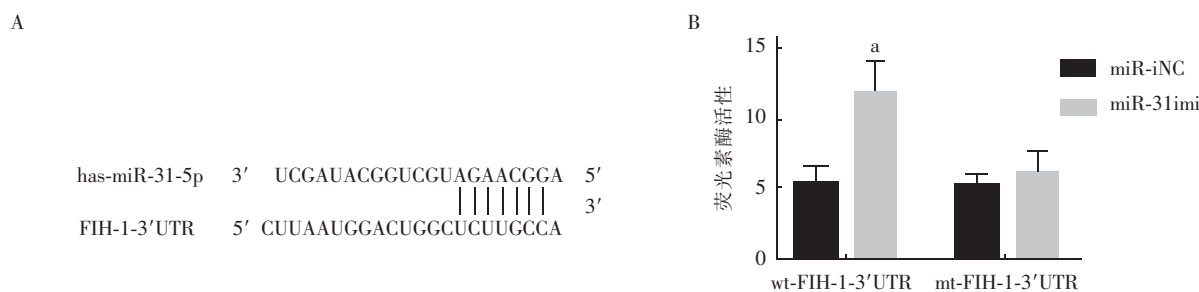
注: LG:低糖组;HM:高渗组;HG:高糖组;FIH-1:低氧诱导因子-1 抑制剂;TGF- β 1:转化生长因子- β 1; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶;与 LG 组相比, $^*P<0.01$

图 1 高糖刺激足细胞后 miR-31、FIH-1、TGF- β 1 及 α -SMA 的表达情况



注: Mock:脂质体组;miR-NC:阴性对照组;miR-31m:miR-31 过表达组;FIH-1:低氧诱导因子-1 抑制剂;TGF- β 1:转化生长因子- β 1; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶;与 miR-NC 组相比, $^*P<0.01$

图 2 足细胞转染 miR-31 mimics 后 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达情况



注:miR-iNC:miR-31 inhibitor 阴性对照组;miR-31i:miR-31 抑制组;wt-FIH-1-3'UTR:野生型 FIH-1 的 3'UTR 区载体;mt-FIH-1-3'UTR:突变型 FIH-1 的 3'UTR 区载体;与 miR-iNC 组相比, $^*P<0.01$

图 3 miR-31 与 FIH-1 基因的靶向关系验证

检测各组细胞 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达。结果发现:与 NC 组比较,转染 si-FIH-1 使 FIH-1 的 mRNA(图 4A)及蛋白(图 4B、4C)表达水平均明显下降($P<0.01$),而 TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA(图 4A)及蛋白(图 4B、4C)表达水平均明显升高($P<0.01$);转染 miR-31i 使 FIH-1 的 mRNA(图 4A)及蛋白(图 4B、4C)表达均明显升高($P<0.01$),TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA(图 4A)及蛋白(图 4B、4C)表达明显降低($P<0.05$);而当 si-FIH-1 与 miR-31i 共同转染时,可以回复 si-FIH-1 或 miR-31i 单独转染导致的 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达变化,共转染组的基因 mRNA 及蛋白表达水平与 NC 组之间无明显差异($P>0.05$),见图 4。

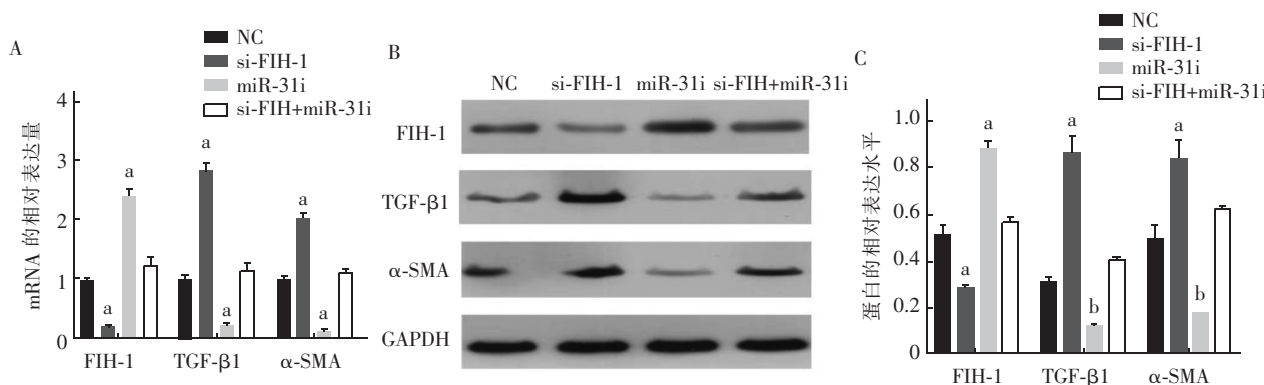
3 讨论

足细胞是肾小球滤过膜的组成部分,是维持肾小球滤过屏障结构和功能正常的主要细胞,足细胞在病理条件下失去上皮细胞的特性并转分化为间充质细胞,这个过程被称为足细胞 EMT。研究表明,足细胞 EMT 是导致 DKD 足细胞数量减少、功能障碍、蛋白尿形成及肾脏纤维化的重要病理生理机制^[2,9-10]。TGF- β 1 被认为是一种经典的促纤维化因子,在高糖、糖基化终末产物、蛋白尿等条件下,TGF- β 1 会大量分泌,诱导足细胞 EMT,从而导致肾脏纤维化进展,其中 α -SMA 可反映 EMT 程度^[11-12]。本研究采用高糖刺激足细胞,结果发现,高糖组 TGF- β 1 及 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达水平较糖组明显升高,提示高糖可导致足细胞 EMT。

多项研究表明,miR-31 在肿瘤、心血管、消化、

免疫及角膜等系统疾病中发挥重要作用^[13-17],而其在肾脏方面的研究较少。Lian 等^[18]研究发现在高糖条件下内皮祖细胞中 miR-31 的表达上调,并靶向作用于 Satb 2 来介导内皮祖细胞功能障碍。Rovira-Llopis 等^[19]研究发现与单纯糖尿病患者相比,糖尿病肾病患者血液 miR-31 的水平更低。Wu 等^[20]研究发现顺铂诱导的急性肾损伤模型中,葛根素在体内和体外均以浓度依赖性方式上调了 miR-31 的水平。笔者的研究结果提示,高糖刺激足细胞后 miR-31 mRNA 表达较低糖组明显升高,过表达 miR-31 后 TGF- β 1、 α -SMA mRNA 及蛋白表达水平显著升高,抑制 miR-31 后 TGF- β 1、 α -SMA mRNA 及蛋白表达水平明显下降,提示 miR-31 可能参与足细胞 EMT 过程,而抑制 miR-31 可能缓解足细胞 EMT。

He 等^[7]在对非小细胞肺癌耐药机制的研究中发现 miR-31 通过直接抑制 FIH-1 的表达,从而导致对吉非替尼的耐药性。Hu 等^[8]研究发现 miR-31/FIH-1 参与肝纤维化的发病机制,可能是通过 TGF- β /Smad3 信号通路介导的。Liu 等^[17]研究发现通过抑制 miR-31/FIH-1/P21 轴可改善人角膜缘干细胞功能。笔者的研究结果发现,高糖刺激足细胞后 miR-31 表达较糖组明显升高,FIH-1 mRNA 及蛋白表达明显下降;过表达 miR-31 后 FIH-1 mRNA 及蛋白表达明显下降;而抑制 miR-31 后,FIH-1 mRNA 及蛋白表达明显升高;且当 si-FIH-1 与 miR-31 inhibitor 共同转染足细胞后,可以回复 si-FIH-1 或 miR-31 inhibitor 单独转染导致的 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达变化。荧光素



注: NC:阴性对照组;si-FIH-1:转染 si-FIH-1 组;miR-31i:转染 miR-31i 组;si-FIH-1+miR-31i:转染 si-FIH-1+miR-31i 组;FIH-1:低氧诱导因子-1 抑制剂;TGF- β 1:转化生长因子- β 1; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶;与 NC 组相比,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$

图 4 足细胞共转染 si-FIH-1 与 miR-31 inhibitor 后 FIH-1、TGF- β 1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达情况

酶活性检测结果显示,抑制 miR-31 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,提示 miR-31 通过作用于 FIH-1 来介导高糖条件下足细胞 EMT。

综上所述,高糖刺激足细胞 miR-31 表达升高并靶向调控 FIH-1 促进足细胞 EMT,抑制 miR-31 的表达或过表达 FIH-1 可缓解足细胞 EMT,为今后 DKD 的防治提供新思路。但 miR-31/FIH-1 通路是如何导致 TGF- β 1 升高,进而介导足细胞 EMT,有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南[J]. 中华糖尿病杂志, 2019, 11(1): 15-28. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-5809. 2019. 01. 004.
- [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] Sakuma H, Hagiwara S, Kantharidis P, et al. Potential targeting of renal fibrosis in diabetic kidney disease using microRNAs[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 587689. DOI: 10. 3389/fphar. 2020. 587689.
- [4] Assmann TS, Recamonde-Mendoza M, de Souza BM, et al. MicroRNAs and diabetic kidney disease: systematic review and bioinformatic analysis[J]. Mol Cell Endocrinol, 2018, 477: 90-102. DOI: 10. 1016/j. mce. 2018. 06. 005.
- [5] Liu J, Wei Q, Guo C, et al. Hypoxia, HIF, and associated signaling networks in chronic kidney disease[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(5): 950. DOI: 10. 3390/ijms18050950.
- [6] Nayak BK, Shanmugasundaram K, Friedrichs WE, et al. HIF-1 mediates renal fibrosis in OVE26 type 1 diabetic mice[J]. Diabetes, 2016, 65(5): 1387-1397. DOI: 10. 2337/db15-0519.
- [7] He J, Jin S, Zhang W, et al. Long non-coding RNA LOC554202 promotes acquired gefitinib resistance in non-small cell lung cancer through upregulating miR-31 expression[J]. J Cancer, 2019, 10(24): 6003-6013. DOI: 10. 7150/jca. 35097.
- [8] Hu J, Chen C, Liu Q, et al. The role of the miR-31/FIH1 pathway in TGF- β -induced liver fibrosis[J]. Clin Sci (Lond), 2015, 129(4): 305-317. DOI: 10. 1042/CS20140012.
- [9] Reidy K, Susztak K. Epithelial-mesenchymal transition and podocyte loss in diabetic kidney disease[J]. Am J Kidney Dis, 2009, 54(4): 590-593. DOI: 10. 1053/j. ajkd. 2009. 07. 003.
- [10] Jiang Y, Xie F, Lv X, et al. Mefunidone ameliorates diabetic kidney disease in STZ and db/db mice[J]. FASEB J, 2021, 35(1): e21198. DOI: 10. 1096/fj. 202001138RR.
- [11] Zhao L, Zou Y, Liu F. Transforming growth Factor-Beta1 in diabetic kidney disease[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 187. DOI: 10. 3389/fcell. 2020. 00187.
- [12] Alomari G, Al-Trad B, Hamdan S, et al. Gold nanoparticles attenuate albuminuria by inhibiting podocyte injury in a rat model of diabetic nephropathy[J]. Drug Deliv Transl Res, 2020, 10(1): 216-226. DOI: 10. 1007/s13346-019-00675-6.
- [13] Lv C, Li F, Li X, et al. MiR-31 promotes mammary stem cell expansion and breast tumorigenesis by suppressing Wnt signaling antagonists[J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 1036. DOI: 10. 1038/s41467-017-01059-5.
- [14] Martinez EC, Lilyanna S, Wang P, et al. MicroRNA-31 promotes adverse cardiac remodeling and dysfunction in ischemic heart disease[J]. J Mol Cell Cardiol, 2017, 112: 27-39. DOI: 10. 1016/j. yjmcc. 2017. 08. 013.
- [15] Shi T, Xie Y, Fu Y, et al. The signaling axis of microRNA-31/interleukin-25 regulates Th1/Th17-mediated inflammation response in colitis[J]. Mucosal Immunology, 2017, 10(4): 983-995. DOI: 10. 1038/mi. 2016. 102.
- [16] Li X, Cai W, Xi W, et al. MicroRNA-31 regulates immunosuppression in ang II (Angiotensin II)-induced hypertension by targeting ppp6C (Protein Phosphatase 6c)[J]. Hypertension, 2019, 73(5): e14-e24. DOI: 10. 1161/HYPERTENSIONAHA. 118. 12319.
- [17] Liu Z, Zhan W, Zeng M, et al. Enhanced functional properties of human limbal stem cells by inhibition of the miR-31/FIH-1/P21 axis[J]. Acta Ophthalmol, 2017, 95(6): e495-e502. DOI: 10. 1111/aos. 13503.
- [18] Lian W, Hu X, Shi R, et al. MiR-31 regulates the function of diabetic endothelial progenitor cells by targeting Satb2[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2018, 50(4): 336-344. DOI: 10. 1093/abbs/gmy010.
- [19] Rovira-Llopis S, Escibano-Lopez I, Diaz-Morales N, et al. Down-regulation of miR-31 in diabetic nephropathy and its relationship with inflammation[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 50(3): 1005-1014. DOI: 10. 1159/000494485.
- [20] Wu Z, Li C, Li Q, et al. Puerarin alleviates cisplatin-induced acute renal damage and upregulates microRNA-31-related signaling[J]. Exp Ther Med, 2020, 20(4): 3122-3129. DOI: 10. 3892/etm. 2020. 9081.

(收稿日期: 2021-04-26)