

引用本文:刘仁海,穆伽俐,陈小莲,等.miR-126-5p通过靶向Peli2影响糖尿病肾病肾小管上皮细胞上皮-间质转化发生[J].安徽医药,2021,25(7):1428-1432.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.07.038.

◇临床医学◇



miR-126-5p通过靶向Peli2影响糖尿病肾病肾小管上皮细胞上皮-间质转化发生

刘仁海¹,穆伽俐¹,陈小莲¹,张玉佳¹,高霞¹,李黎黎¹,罗琴¹,冯秋秋¹,何思宇¹,蒲丹岚²

作者单位:¹重庆市武隆区人民医院心血管内分泌科,重庆 408500;

²重庆大学附属肿瘤医院内分泌肾病科,重庆 400030

通信作者:蒲丹岚,女,副主任医师,研究方向为糖尿病及其并发症,Email:fru14s@163.com

基金项目:重庆市沙坪坝区决策咨询与管理创新项目(Jcd202038)

摘要: **目的** 探讨微小RNA-126-5p(miR-126-5p)通过靶向 pellino E3 泛素蛋白连接酶家族成员 2(Peli2)影响糖尿病肾病肾小管上皮细胞上皮-间质转化(EMT)发生的分子机制。**方法** 本研究起止时间为2018年12月至2019年12月。体外培养人肾小管上皮细胞 HK-2(美国 ATCC),分别使用 5 mmol/L、30 mmol/L 的 D-葡萄糖处理细胞 48 h,分别记作对照组、模型组。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)与蛋白免疫印迹法(Western blot)分别检测 miR-126-5p、Peli2 的表达水平。利用脂质体转染法分别将 miR-126-5p 寡核苷酸模拟物(miR-126-5p mimics)及阴性对照 mimic NC 序列(miR-NC)、Peli2 小分子干扰 RNA(si-Peli2)及其阴性对照(si-NC)转染至 HK-2 细胞,使用 30 mmol/L 的 D-葡萄糖处理细胞 48 h。Western blot 检测上皮型钙黏蛋白(E-Cadherin)、神经型钙黏蛋白(N-Cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、锌指蛋白(Snail)表达量;双荧光素酶报告实验验证 miR-126-5p 与 Peli2 的靶向关系。**结果** 与对照组相比,模型组 miR-126-5p[(1.00±0.10)比(0.32±0.03)]、E-Cadherin[(0.86±0.09)比(0.35±0.04)]的表达水平显著降低($P<0.05$),Peli2[(0.42±0.04)比(1.05±0.11)]、N-Cadherin[(0.45±0.05)比(0.99±0.10)]、Vimentin[(0.32±0.03)比(0.92±0.09)]、Snail[(0.22±0.02)比(0.75±0.08)]的表达水平显著升高($P<0.05$);转染 miR-126-5p mimics,与转染 miR-NC 相比,E-Cadherin[(0.34±0.03)比(0.75±0.08)]的表达水平显著升高($P<0.05$),N-Cadherin[(1.02±0.11)比(0.53±0.05)]、Vimentin[(0.95±0.10)比(0.48±0.05)]、Snail[(0.72±0.07)比(0.36±0.04)]的表达水平显著降低($P<0.05$);转染 si-Peli2 后,与转染 si-NC 相比,E-Cadherin[(0.24±0.03)比(0.70±0.07)]的表达水平显著升高($P<0.05$),N-Cadherin[(1.05±0.12)比(0.50±0.05)]、Vimentin[(0.96±0.10)比(0.38±0.04)]、Snail[(0.74±0.07)比(0.40±0.04)]的表达水平显著降低($P<0.05$);miR-126-5p 能够特异性结合 Peli2,Peli2 是 miR-126-5p 的靶基因;Peli2 过表达后可明显逆转 miR-126-5p 过表达对高糖诱导的 HK-2 细胞 EMT 的影响。**结论** miR-126-5p 通过靶向 Peli2 抑制糖尿病肾病肾小管上皮细胞 EMT 发生。

关键词: 糖尿病肾病; 泛素蛋白连接酶类; 微小 RNA-126-5p; pellino E3 泛素蛋白连接酶家族成员 2; 肾小管上皮细胞; 上皮-间质转化

miR-126-5p affects EMT occurrence in renal tubular epithelial cells of diabetic nephropathy by targeting Peli2

LIU Renhai¹, MU Jiali¹, CHEN Xiaolian¹, ZHANG Yujia¹, GAO Xia¹, LI Lili¹, LUO Qing¹, FENG Qiuqiu¹, HE Siyu¹, PU Danlan²

Author Affiliations:¹Cardiovascular Endocrinology, Chongqing Wulong People's Hospital, Chongqing 408500, China;

²Department of Endocrinology and Nephrology, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing 400030, China

Abstract: **Objective** To explore the molecular mechanism of miR-126-5p affecting EMT in renal tubular epithelial cells of diabetic nephropathy by targeting Peli2. **Methods** The start and end time of this research was from December 2018 to December 2019. Human renal tubular epithelial cells HK-2(ATCC) were cultured in vitro, and the cells were treated with D-glucose at 5 mmol/L and 30 mmol/L for 48 h, respectively. They were recorded as NC group and HG group, respectively. qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression levels of miR-126-5p and Peli2, respectively. The liposome transfection method was used to transfect miR-126-5p mimics, miR-NC, si-Peli2, and si-NC to HK-2 cells, and the cells were treated with 30 mmol/L D-glucose for 48 h. Western blot was used to detect the expression of E-Cadherin, N-Cadherin, Vimentin, and Snail. The dual luciferase reporting experiment verified the targeting relationship between miR-126-5p and Peli2. **Results** Compared with the NC group, the expression levels of miR-126-5p [(1.00±

0.10) *vs.* (0.32±0.03)] and E-Cadherin [(0.86±0.09) *vs.* (0.35±0.04)] in the Model group were significantly reduced ($P<0.05$), and the expression levels of Peli2 [(0.42±0.04) *vs.* (1.05±0.11)], N-Cadherin [(0.45±0.05) *vs.* (0.99±0.10)], Vimentin [(0.32±0.03) *vs.* (0.92±0.09)], and Snail [(0.22±0.02) *vs.* (0.75±0.08)] were significantly increased ($P<0.05$). After miR-126-5p mimics or si-Peli2 transfection, the expression level of E-Cadherin [(0.34±0.03) *vs.* (0.75±0.08)] was significantly higher than that of miR-NC or si-NC ($P<0.05$), the expression levels of N-Cadherin [(1.02±0.11) *vs.* (0.53±0.05)], Vimentin [(0.95±0.10) *vs.* (0.48±0.05)], Snail [(0.72±0.07) *vs.* (0.36±0.04)] were significantly reduced ($P<0.05$). After si-Peli2, the expression level of E-Cadherin [(0.24±0.03) *vs.* (0.70±0.07)] was significantly higher than that of si-NC ($P<0.05$), the expression levels of N-Cadherin [(1.05±0.12) *vs.* (0.50±0.05)], Vimentin [(0.96±0.10) *vs.* (0.38±0.04)], Snail [(0.74±0.07) *vs.* (0.40±0.04)] were significantly reduced ($P<0.05$). miR-126-5p could specifically bind to Peli2, and Peli2 was a target gene of miR-126-5p. Peli2 overexpression could significantly reverse the effect of miR-126-5p overexpression on EMT in HK-2 cells induced by high glucose. **Conclusion** miR-126-5p inhibits EMT in renal tubular epithelial cells of diabetic nephropathy by targeting Peli2.

Key words: Diabetic nephropathies; Ubiquitin-protein ligases; miR-126-5p; Peli2; Renal tubular epithelial cells; EMT

糖尿病肾病是糖尿病常见并发症之一,并可促进终末期肾病的发生,其中肾小管间质纤维化是造成慢性肾病发展的重要原因^[1-2]。研究表明上皮-间质转化(EMT)在肾小管间质纤维化形成过程中发挥重要作用,其中氧化应激、微小RNA(miRNA)、信号通路等与EMT的发生及发展密切相关^[3-4]。微小RNA-126-5p(miR-126-5p)在脂多糖诱导的急性肺损伤中呈低表达,上调miR-126-5p表达可减轻急性肺损伤^[5]。生物信息学分析显示 pellino E3 泛素蛋白连接酶家族成员 2(Peli2)可能是 miR-126-5p 的靶基因,研究表明 Peli2 表达量升高可加重脂多糖诱导的急性肺损伤^[6]。本研究从 2018 年 12 月至 2019 年 12 月期间通过高糖诱导肾小管上皮细胞模拟糖尿病肾病环境,验证 miR-126-5p 是否可通过靶向 Peli2 抑制糖尿病肾病肾小管上皮细胞 EMT 发生。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 人肾小管上皮细胞 HK-2 购自美国 ATCC 公司;D-葡萄糖购自上海甄准生物;Lipofectamine2000 购自美国 Invitrogen;miR-126-5p 寡核苷酸模拟物(miR-126-5p mimics)及阴性对照 mimic NC 序列(miR-NC)、Peli2 小干扰 RNA(si-Peli2)、乱序无意义阴性序列(si-NC)购自广州锐博生物;pcDNA3.1 购自武汉森灵生物;Trizol、反转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒均购自日本 TaKaRa;RIPA 裂解液购自上海联迈生物;二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)购自杭州弗德生物;兔抗人 Peli2 抗体购自美国 CST 公司;兔抗人上皮型钙黏蛋白(E-Cadherin)、神经型钙黏蛋白(N-Cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、锌指蛋白(Snail)抗体购自北京中杉金桥生物;山羊抗兔二抗购自武汉艾美捷。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 收集对数期 HK-2 细胞,使用含有 30 mmol/L 的 D-葡萄糖培养基培养 48 h^[7],记作 HG 组;使用含有 5 mmol/L D-葡萄糖培养基培养 48 h,记作对照组。收集对数期 HK-2 细胞接种于 6 孔板,分为

miR-NC+HG 组(miR-NC 转染至 HK-2 细胞,使用含有 30 mmol/L 的 D-葡萄糖培养基培养 48 h);miR-126-5p+HG 组(miR-126-5p mimics 转染至 HK-2 细胞,使用含有 30 mmol/L 的 D-葡萄糖培养基培养 48 h);si-NC+HG 组(si-NC 转染至 HK-2 细胞,使用含有 30 mmol/L 的 D-葡萄糖培养基培养 48 h);si-Peli2+HG 组(si-Peli2 转染至 HK-2 细胞,使用含有 30 mmol/L 的 D-葡萄糖培养基培养 48 h);miR-126-5p+HG+pcDNA-NC 组(miR-126-5p mimics 与 pcDNA-NC 共转染至 HK-2 细胞,使用含有 30 mmol/L 的 D-葡萄糖培养基培养 48 h);miR-126-5p+HG+pcDNA-Peli2 组(miR-126-5p mimics 与 pcDNA-Peli2 共转染至 HK-2 细胞,使用含有 30 mmol/L 的 D-葡萄糖培养基培养 48 h)。

1.2.2 qRT-PCR 检测细胞中 miR-126-5p、Peli2 mRNA 的表达水平 采用 Trizol 法提取细胞中总 RNA,参照反转录试剂盒合成 cDNA。以 cDNA 为模板进行 qRT-PCR 反应,反应条件:95 ℃ 2 min(循环 1 次),95 ℃ 30 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s(循环 40 次)。miR-126-5p 以 U6 小核 RNA(U6 small nuclear RNA, U6)为内参,Peli2 以 β 肌动蛋白(β -actin)为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-126-5p、Peli2 mRNA 的相对表达量。

1.2.3 双荧光素酶报告基因检测 miR-126-5p 的靶基因 将含有结合位点及突变位点的 Peli2-3'UTR 插入荧光素酶报告基因载体构建野生型报告质粒 WT-Peli2、突变型报告质粒 MUT-Peli2,分别将 WT-Peli2、MUT-Peli2 与 miR-NC、miR-126-5p mimics 共转染至 HK-2 细胞,参照荧光素酶活性检测试剂盒检测各组细胞相对荧光素酶活性。参照 Lipofectamine2000 试剂说明书分别将 miR-NC、miR-126-5p mimics、anti-miR-NC、anti-miR-126-5p 转染至 HK-2 细胞,通过 Western blot 检测各组细胞中 Peli2 蛋白相对表达量。

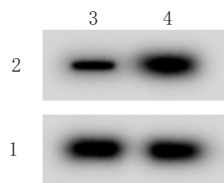
1.2.4 Western blot 检测 Peli2、E-Cadherin、N-Cadherin、Vimentin、Snail 蛋白表达 收集各组 HK-2 细胞加入 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,用 SDS-PAGE 分离蛋白,将电泳产物转移至 PVDF 膜,封闭 2 h,加

入一抗稀释液(Peli2 稀释比 1:800、E-Cadherin 稀释比 1:1 000、N-Cadherin 稀释比 1:1 000、Vimentin 稀释比 1:1 000、Snail 稀释比 1:1 000)4℃孵育 24 h,加入二抗稀释液(稀释比 1:5 000),TBST洗涤,暗室内曝光显影,应用 ImageJ 软件分析各条带灰度值。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计学软件分析数据,计量资料均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示;两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,总体有差异进一步采用 LSD-*t* 检验进行两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 在肾小管上皮细胞 HK-2 中, Peli2 和 miR-126-5p 表达情况 与对照组相比,模型组细胞中 miR-126-5p 的表达水平降低($t=19.540$, $P < 0.05$), Peli2 mRNA 及蛋白表达水平升高($t=19.837$, 16.147 ; $P < 0.05$),见图 1、表 1。



注:1— β 肌动蛋白,2—pellino E3 泛素蛋白连接酶家族成员 2,3—对照组,4—模型组。

图 1 Western Blot 检测 Peli2 蛋白的表达

2.2 miR-126-5p 高表达抑制高糖处理的肾小管上皮细胞 HK-2 发生 EMT 与对照组相比,模型组细胞中 E-Cadherin 蛋白相对表达量降低($t=15.535$; $P <$

表 1 肾小管上皮细胞 HK-2 中 miR-126-5p 和 Peli2 表达量 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-126-5p	Peli2 mRNA	Peli2
对照组	9	1.00±0.10	1.00±0.10	0.42±0.04
模型组	9	0.32±0.03	3.28±0.33	1.05±0.11
<i>t</i> 值		19.540	19.837	16.147
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:miR-126-5p 为微小 RNA-126-5p, Peli2 mRNA 为 Peli2 微小 RNA, Peli2 为 pellino E3 泛素蛋白连接酶家族成员 2。

0.05), N-Cadherin、Vimentin、Snail 蛋白相对表达量升高($t=14.490$, 18.974 , 19.282 ; 均 $P < 0.05$);与 miR-NC+HG 组相比, miR-126-5p+HG 组细胞中 E-Cadherin 蛋白相对表达量升高($t=14.396$; $P < 0.05$), N-Cadherin、Vimentin、Snail 蛋白相对表达量降低($t=12.166$, 12.611 , 13.396 ; 均 $P < 0.05$),见图 2。表明 miR-126-5p 过表达可抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞发生 EMT。见表 2。

2.3 Peli2 低表达抑制高糖处理的肾小管上皮细胞 HK-2 发生 EMT 与 si-NC+HG 组相比, si-Peli2+HG 组细胞中 Peli2 蛋白相对表达量降低($t=11.732$, $P < 0.05$), E-Cadherin 蛋白相对表达量升高($t=18.120$, $P < 0.05$), N-Cadherin、Vimentin、Snail 蛋白相对表达量降低($t=12.692$, 16.155 , 12.652 ; $P < 0.05$)。表明抑制 Peli2 的表达可抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞发生 EMT,见表 3、图 3。

2.4 miR-126-5p 靶向 Peli2 的表达 starBase 预测显示 miR-126-5p 与 Peli2 存在结合位点,见图 4A。转染野生型报告质粒 WT-Peli2 的细胞实验中, miR-126-5p 组荧光素酶活性显著低于 miR-NC 组($t=$

表 2 miR-126-5p 高表达抑制高糖处理的肾小管上皮细胞 HK-2 发生 EMT/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-126-5p	E-Cadherin	N-Cadherin	Vimentin	Snail
对照组	9	1.05±0.11	0.86±0.09	0.45±0.05	0.32±0.03	0.22±0.02
模型组	9	0.35±0.04 ^①	0.35±0.04 ^①	0.99±0.10 ^①	0.92±0.09 ^①	0.75±0.08 ^①
miR-NC+HG	9	0.38±0.04	0.34±0.03	1.02±0.11	0.95±0.10	0.72±0.07
miR-126-5p+HG	9	0.85±0.09 ^②	0.75±0.08 ^②	0.53±0.05 ^②	0.48±0.05 ^②	0.36±0.04 ^②
<i>F</i> 值		185.987	153.671	119.059	167.149	187.917
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

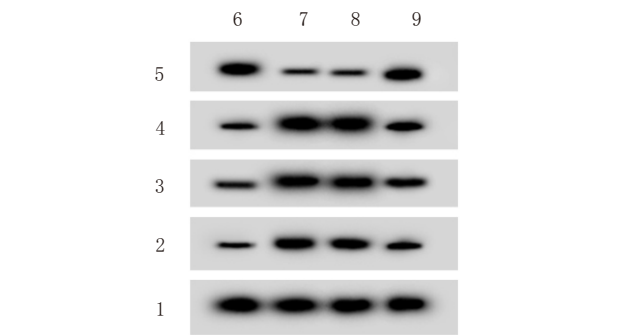
注:miR-126-5p 为微小 RNA-126-5p, E-Cadherin 为兔抗人上皮型钙黏蛋白 2, N-Cadherin 为神经型钙黏蛋白, Vimentin 为波形蛋白, Snail 为锌指蛋白。

①与对照组比较, $P < 0.05$ 。②与 miR-NC+HG 组比较, $P < 0.05$ 。

表 3 Peli2 低表达抑制高糖处理的肾小管上皮细胞 HK-2 发生 EMT/ $\bar{x} \pm s$

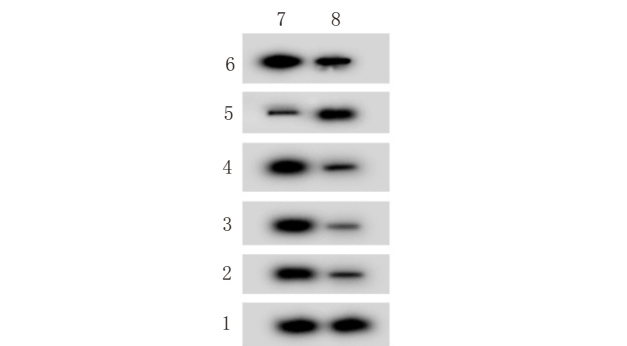
组别	重复次数	Peli2	E-Cadherin	N-Cadherin	Vimentin	Snail
si-NC+HG	9	1.04±0.11	0.24±0.03	1.05±0.12	0.96±0.10	0.74±0.07
si-Peli2+HG	9	0.55±0.06	0.70±0.07	0.50±0.05	0.38±0.04	0.40±0.04
<i>t</i> 值		11.732	18.120	12.692	16.155	12.652
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:Peli2 为 pellino E3 泛素蛋白连接酶家族成员 2, E-Cadherin 为兔抗人上皮型钙黏蛋白 2, N-Cadherin 为神经型钙黏蛋白, Vimentin 为波形蛋白, Snail 为锌指蛋白。



注:1—β肌动蛋白,2—锌指蛋白,3—波形蛋白,4—神经型钙黏蛋白,5—兔抗人上皮型钙黏蛋白,6—对照组;7—模型组;8—miR-NC+HG组;9—miR-126-5p+HG组。

图2 miR-126-5p高表达的肾小管上皮细胞 E-Cadherin、N-Cadherin、Vimentin 和 Snail 蛋白的表达



注:1—β肌动蛋白,2—锌指蛋白,3—波形蛋白,4—神经型钙黏蛋白,5—兔抗人上皮型钙黏蛋白,6—pellino E3 泛素蛋白连接酶家族成员 2,7—si-NC+HG 组,8—si-Peli2+HG 组。

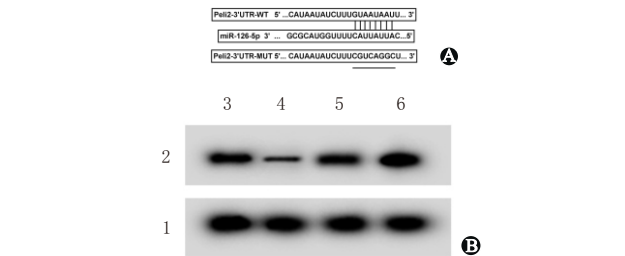
图3 Peli2 低表达的肾小管上皮细胞 E-Cadherin、N-Cadherin、Vimentin 和 Snail 蛋白的表达

14.942 ; $P<0.05$)。与 miR-NC 组相比,miR-126-5p 组细胞中 Peli2 蛋白相对表达量显著降低($t=16.713$; $P<0.05$) ; 与 anti-miR-NC 组相比,anti-miR-126-5p 组细胞中 Peli2 蛋白相对表达量显著升高($t=10.062$; $P<0.05$) ,见图 4、表 4。表明 miR-126-5p 可靶向结合 Peli2,并可负向调控 Peli2 的表达。

2.5 Peli2高表达可以部分反转miR-126-5p高表达对高糖处理的HK-2的EMT的影响 与 miR-126-5p+HG+pcDNA-NC 组相比,miR-126-5p+HG+pcDNA-Peli2 组细胞中 E-Cadherin 蛋白相对表达量显著降低($t=12.746$, $P<0.05$) ,N-Cadherin、Vimentin、Snail 蛋白相对表达量显著升高($t=11.655,13.416,12.652$; $P<0.05$)。表明 Peli2 过表达可减弱 miR-126-5p 过表达对高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT 的作用。见图 5 和表 5、6。

3 讨论

miR-126 在冠心病等血管性疾病中异常表达并可能参与多种疾病发生及发展过程^[8]。miR-126-5p 在帕金森病中低表达,并可参与该疾病发展过程^[9]。miR-126-5p 高表达可促进视网膜内皮细胞存活^[10]。



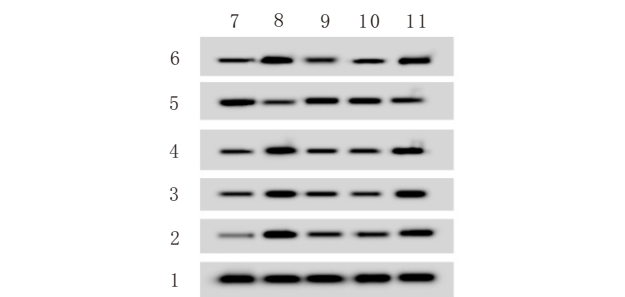
注:1—β肌动蛋白,2—pellino E3 泛素蛋白连接酶家族成员 2,3—miR-NC 组,4—miR-126-5p 组,5—anti-miR-NC 组,6—anti-miR-126-5p 组。

图4 miR-126-5p 靶向 Peli2 的表达:A 为 starbase 对 miR-126-5p 和 Peli2 结合进行预测示意图;B 为 Western Blot 检测 Peli2 蛋白的表达

表4 miR-NC 或 miR-126-5p 与报告质粒共转染细胞后双荧光素酶活性检测 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	荧光素酶活性	
		WT	MUT
miR-NC	9	1.00±0.12	1.04±0.11
miR-126-5p	9	0.37±0.04	1.02±0.10
t 值		14.942	0.404
P 值		0.000	0.692

注:WT 为野生型,MUT 为突变型。



注:1—β肌动蛋白,2—锌指蛋白,3—波形蛋白,4—神经型钙黏蛋白,5—兔抗人上皮型钙黏蛋白,6—pellino E3 泛素蛋白连接酶家族成员 2,7—si-NC+HG 组,8—si-Peli2+HG 组,9—对照组,10—模型组,11—miR-126-5p+HG+pcDNA-NC 组,12—miR-126-5p+HG+pcDNA-Peli2 组。

图5 Western Blot 检测 Peli2、E-Cadherin、N-Cadherin、Vimentin 和 Snail

表5 Western Blot 检测 Peli2 的表达 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	Peli2
miR-NC	9	0.48±0.05
miR-126-5p	9	0.18±0.02 ^①
anti-miR-NC	9	0.45±0.04
anti-miR-126-5p	9	0.75±0.08 ^②
F 值		179.339
P 值		0.000

注:Peli2 为 pellino E3 泛素蛋白连接酶家族成员 2。

①与 miR-NC 组比较, $P<0.05$ 。②与 anti-miR-NC 组比较, $P<0.05$ 。

长的非编码 RNA PRNCR1 通过调控 miR-126-5p 的表达从而调节非小细胞肺癌细胞生物学行为^[11]。本研究显示高糖诱导的肾小管上皮细胞中 miR-126-5p

表6 Peli2高表达可以部分反转miR-126-5p高表达对高糖处理的HK-2的EMT的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	Peli2	E-Cadherin	N-Cadherin	Vimentin	Snail
miR-126-5p+HG+pcDNA-NC	9	0.50±0.05	0.78±0.08	0.48±0.05	0.44±0.04	0.34±0.04
miR-126-5p+HG+pcDNA-Peli2	9	0.89±0.09	0.40±0.04	0.88±0.09	0.84±0.08	0.68±0.07
<i>t</i> 值		11.364	12.746	11.655	13.416	12.652
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:Peli2为pellino E3泛素蛋白连接酶家族成员2,E-Cadherin为兔抗人上皮型钙黏蛋白2,N-Cadherin为神经型钙黏蛋白,Vimentin为波形蛋白,Snail为锌指蛋白。

的表达水平降低,证实miR-126-5p能够靶向结合Peli2,并可负向调控Peli2的表达。本研究显示高糖诱导的肾小管上皮细胞中Peli2的表达水平明显升高,其表达量与miR-126-5p的表达量趋势相反。

肾小管上皮细胞EMT过程可促进肾小管间质纤维化的发生,E-Cadherin表达量降低可促进EMT发生,N-Cadherin、Vimentin、Snail属于间质表型标志物,其表达量降低可抑制EMT发生^[12-16]。研究表明EMT转化可增强肿瘤细胞迁移及侵袭能力从而促进癌症进展^[17-19]。本研究结果显示,高糖处理后肾小管上皮细胞中E-Cadherin表达量降低,N-Cadherin、Vimentin、Snail表达量升高,miR-126-5p过表达能够抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞EMT的发生,而Peli2过表达可逆转miR-126-5p过表达对高糖诱导的肾小管上皮细胞EMT的影响。提示miR-126-5p过表达能够靶向Peli2从而抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞EMT的发生。

综上所述,高糖诱导的肾小管上皮细胞miR-126-5p表达下调,Peli2表达上调,miR-126-5p过表达可抑制Peli2、N-Cadherin、Vimentin、Snail表达,并可促进E-Cadherin表达从而调控EMT发生过程,可为揭示肾小管上皮细胞EMT发生的分子机制提供新方向。

参考文献

- [1] WABBER C, LACHIN JM, INZUCCHI SE, et al. Empagliflozin and Clinical Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus, Established Cardiovascular Disease, and Chronic Kidney Disease[J]. Circulation, 2018, 137(2): 119-129.
- [2] CRUZ-SOLBES AS, YOUKER K. Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT) and Endothelial to Mesenchymal Transition (EndMT): Role and Implications in Kidney Fibrosis[J]. Results Probl Cell Differ, 2017, 60(1): 345-372.
- [3] ZHANG Y, ZHAO S, WU D, et al. MicroRNA-22 promotes renal tubulointerstitial fibrosis by targeting pten and suppressing autophagy in diabetic nephropathy[J]. J Diabetes Res, 2018, 2018: 4728645. DOI: 10.1155/2018/4728645.
- [4] JING Y, HAN Z, ZHANG S, et al. Epithelial-mesenchymal transition in tumor microenvironment[J]. Cell Biosci, 2011, 1(1): 29-39.
- [5] TANG R, PEI L, BAI T, et al. Down-regulation of microRNA-126-5p contributes to overexpression of VEGFA in lipopolysaccharide-induced acute lung injury[J]. Biotechnol Lett, 2016, 38(8): 1277-1284.

- [6] YOU Q, WANG J, JIA D, et al. MiR-802 alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by targeting Peli2[J]. Inflamm Res, 2020, 69(1): 75-85.
- [7] 王彦哲, 王筱霞, 汪年松. miR-30b/Snail 调控糖尿病肾病肾小管上皮细胞EMT[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2017, 18(4): 288-291.
- [8] 李云, 宋银宏, 吕云波. miR-126与血管的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2015, 35(2): 257-261.
- [9] LIN Q, HOU S, DAI Y, et al. LncRNA HOTAIR targets miR-126-5p to promote the progression of Parkinson's disease through RAB3IP[J]. Biol Chem, 2019, 400(9): 1217-1228.
- [10] VILLAIN G, POISSONNIER L, NOUEIHED B, et al. miR-126-5p promotes retinal endothelial cell survival through SetD5 regulation in neurons[J]. Development, 2018, 145(1): 156232. DOI: 10.1242/dev.156232.
- [11] GUO R, HU T, LIU Y, et al. Long non-coding RNA PRNCR1 modulates non-small cell lung cancer cell proliferation, apoptosis, migration, invasion, and EMT through PRNCR1/miR-126-5p/MTDH axis[J]. Biosci Rep, 2020, 40(7): 20193153. DOI: 10.1042/BSR20193153.
- [12] 金志波, 顾朝辉, 贾占奎, 等. 转化生长因子-β1抑制人肾小管上皮细胞株HK-2中N-Myc下游调节基因2表达及意义[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(12): 2068-2070.
- [13] GONG EY, JO HA, PARK SH, et al. VSIG4 induces epithelial-mesenchymal transition of renal tubular cells under high-glucose conditions[J]. Life (Basel), 2020, 10(12): 354-364.
- [14] PEERAPEN P, THONGBOONKARD V. Protective roles of trigonelline against oxalate-induced epithelial-to-mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells: An in vitro study[J]. Food Chem Toxicol, 2020, 135: 110915.
- [15] LU Q, CHEN YB, YANG H, et al. Inactivation of TSC1 promotes epithelial-mesenchymal transition of renal tubular epithelial cells in mouse diabetic nephropathy[J]. Acta Pharmacol Sin, 2019, 40(12): 1555-1567.
- [16] WANG YN, ZHAO SL, SU YY, et al. Astragaloside IV attenuates high glucose-induced EMT by inhibiting the TGF-β/Smad pathway in renal proximal tubular epithelial cells[J]. Biosci Rep, 2020, 40(6): 20190987. DOI: 10.1042/BSR20190987.
- [17] 杨乐, 郭晓波, 郭亮, 等. 宫颈癌SiHa/DDP细胞系EMT相关分子表达研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2018, 25(12): 858-865.
- [18] 耿西林, 海军, 郑伟, 等. 乙酰辅酶A羧化酶通过参与上皮间质转化促进肝癌转移[J]. 肝胆胰外科杂志, 2016, 28(4): 296-300.
- [19] 舒静, 姜源, 姚雪, 等. 过表达核糖核酸酶抑制因子对膀胱癌移植瘤侵袭转移及上皮细胞间质转化的影响[J]. 重庆医学, 2015, 44(36): 5057-5060.

(收稿日期:2020-02-08,修回日期:2020-03-23)