

miRNA相关信号通路对糖尿病肾病的作用机制及 中医药干预研究进展

姜晓雪, 金智生*, 金彩云, 陈彦旭, 张博玲, 伏瑶琴
(甘肃中医药大学中医临床学院, 兰州 730000)

[摘要] 糖尿病肾病(DN)作为常见的糖尿病慢性微血管并发症之一,现已成为我国终末期肾病肾衰竭的主要病因,严重增加糖尿病患者肾透析及肾移植风险,成为糖尿病患者死亡的主要原因。最新研究表明关于对糖尿病肾病的研究早已步入基因层面,微小核糖核酸(miRNA)是一类内源性可获得的非编码短链RNA分子,通过作用于某一靶点,激活或抑制其介导的信号通路及相关分子,在DN发生发展中发挥重要作用,成为防治DN的重要微观因素。传统中医药诊疗DN历史悠久,具有疗效显著、不良反应少等独特优势。大量研究证明,中医药能够靶向干预miRNA影响多条信号通路,参与调控机体炎症反应、细胞焦亡及间充质转分化等病理改变,延缓了DN病程的进一步发展。因此,作者将基于中医药诊疗途径,以miRNA为新关注点,讨论miRNA的生物发生机制及在疾病相关信号通路中的作用机制,归纳总结中医药靶向miRNA调控疾病相关信号通路对DN的影响,以期从基因角度出发挖掘中医药干预DN进展方面提供一定的理论参考依据。

[关键词] 糖尿病肾病; 微小核糖核酸(miRNA); 信号通路; 中医药

[中图分类号] R2-0;R33;G353.11;R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)04-0228-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20222341

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20221028.0921.001.html>

[网络出版日期] 2022-10-28 13:03:34

Mechanism of miRNA-related Signaling Pathway Against Diabetic Nephropathy and Intervention of Traditional Chinese Medicine: A Review

JIANG Xiaoxue, JIN Zhisheng*, JIN Caiyun, CHEN Yanxu, ZHANG Boling, FU Yaoqin
(Clinical College of Chinese Medicine, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] Diabetic nephropathy (DN), as one of the common chronic microvascular complications of diabetes, has become the main cause of renal failure in end-stage renal disease in China, increasing the risks of renal dialysis and kidney transplantation in diabetes patients. It is the leading cause of death in people with diabetes. The latest research on DN has focused on the gene level. microRNAs (miRNAs) are a family of endogenous accessible short-chain non-coding RNA molecules. By acting on a particular target, they activate or inhibit its mediated signaling pathways and related molecules, playing an important role in the occurrence and development of DN. They have become microeconomic factors for the prevention and treatment of DN. Traditional Chinese medicine (TCM) has a long history in the diagnosis and treatment of DN and has unique advantages such as significant curative effect and few side effects. A large number of studies have proved that TCM can target miRNA to affect multiple signaling pathways, participate in the regulation of inflammatory response, pyroptosis, mesenchymal transdifferentiation, and other pathological changes, and delay the further development of DN. Therefore, this study discusses the biogenesis mechanism of miRNA and its action

[收稿日期] 2022-08-10

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82060854)

[第一作者] 姜晓雪,在读博士,从事糖尿病及其并发症的中医药防治与研究,E-mail:925198700@qq.com

[通信作者] *金智生,硕士,教授,博士生导师,从事糖尿病及其并发症的中医药防治与研究,E-mail:jzsgszy@126.com

mechanism in disease-related signaling pathways based on TCM diagnosis and treatment approaches from the perspective of miRNA, and summarizes the effect of TCM targeting miRNA on the disease-related signaling pathways and on DN. Thus, this study is expected to provide a theoretical reference for exploring the progress of TCM intervention in DN from the perspective of genes.

[Keywords] diabetic nephropathy; microRNAs (miRNAs); signaling pathway; traditional Chinese medicine

糖尿病肾病(DN)作为常见的糖尿病慢性微血管并发症,是导致终末期肾病及死亡的最主要病因之一^[1]。流行病学显示预计至2045年全球糖尿病患者将增长至7亿,其中40%糖尿病患者可因病迁延日久而导致DN发生,因此早期防治尤为重要^[2-3]。最新研究表明关于对DN的研究早已步入基因层面,微小核糖核酸(miRNA)是一类内源性可获得的非编码短链RNA分子,通过与靶点mRNA序列结合调控细胞活性和基因表达,参与了DN的病程进展及治疗过程,成为DN发生发展的重要微观因素^[4-5]。本文将 miRNA 为新关注点,讨论 miRNA 的生物学机制及在疾病信号通路中的作用机制,探索中医药通过 miRNA 调控 DN 的研究进展,最终为从基因层面研究中医药防治 DN 提供一定的理论依据。

1 miRNA 的生物发生机制

miRNA 能够以特定序列的方式调控多种疾病病理过程和分子信号通路,在许多人类疾病的发病机制中发挥关键作用^[4,6]。miRNA 生物发生机制是由多个步骤所介导的:①初级 miRNA (pri-miRNA) 转录。细胞核中的 miRNA 基因在 RNA 聚合酶 II / III 的作用下进行转录生成长度约为几千个碱基的初级转录本^[7]。②RNA 聚合酶 III (Drosha) 加工及核质输出。pri-miRNA 在由 Drosha 和双链 RNA 结合蛋白 Pasha (Pasha) 2 个蛋白组成的微处理器蛋白复合物中进一步完成对底物的识别和加工,形成具有一个茎环结构的 miRNA 前体 (pre-miRNA) 并被核转运蛋白 5 (exportin-5) 识别转运到细胞质中^[8-9]。③胞质加工。在细胞质中,Pre-miRNA 进一步被另一个 III 型 RNA 酶 Dicer 识别并对茎环结构切割产生一系列 5' 端和 3' 端各异的 miRNA:miRNA* 双链分子,即 miRNA:miRNA* 二聚体^[10]。④形成 RNA 诱导沉默复合物 (RISC 复合物)。根据 5' 端和 3' 端的稳定性,这个互补的双链分子的其中一股被称为引导链 (称为 miRNA), 加载到 Argonaute 蛋白家族中形成 miRNA 诱导的 RISC 复合物,而其他被命名为客运链 (称为 miRNA*) 将被降解^[11]。⑤靶向调控。

RISC 复合物中的 miRNA 与靶基因 mRNA 若不完全互补,则通过结合靶标的 3'UTR 内的不完全互补位点,通过转录抑制的方式来发生 miRNA 介导的基因调控事件^[12]。若完全互补,则通过切割 (cleavage) 的方式调控靶基因。见图 1。

2 miRNA 参与 DN 生理病理机制

DN 的发病机制较为复杂,而随着基因遗传学的高速发展,相关研究表明 DN 的发病与基因转录组学密切相关^[13]。其中 miRNA 介导的基因调控事件在 DN 发生发病及治疗进程中日趋重要,可通过激活或抑制某些信号通路来调控 DN 的病理演变。因此,明确 miRNA 通过介导相关信号通路影响 DN 肾脏病理进展,能够为后续诊疗提供一定的支持。

2.1 miRNA 通过转化生长因子- β (TGF- β) 信号通路影响肾脏纤维化进展

研究发现 miRNA 可通过 TGF- β 信号通路参与肾脏纤维化的进程。TGF- β 信号通路可通过诱导系膜细胞外基质积聚 (ECM)、肾小管上皮-间充质转分化 (EMT) 及纤维化分子的转录,重现肾脏纤维化的表型。激活的 TGF- β 与肾细胞中特异性受体结合触发下游 Smad 家族蛋白 2/3 (Smad2/3) 磷酸化,与 Smad4 形成复合体并易位到细胞核内,从而调控基因表达^[14]。此外,TGF- β 还可以激活转化生长因子 β 活化激酶 1 (TAK1)、细胞外信号调节激酶 (ERK)、沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 等多种非 Smad 信号通路,可单独或与 Smad 信号通路协同发生基因调控作用^[15]。

研究发现高糖状态中的 miR-130b 和 miR-17 表达上调,可分别通过靶向 Smad2/3/4 蛋白的正反馈及 Smad7 蛋白的负反馈机制来激活 TGF- β_1 信号通路转导^[16-17]。ZENG 等^[18] 发现糖肾大鼠肾组织中 miR-98 高表达,可靶向抑制神经前体细胞表达发育调控样蛋白 4 (Nedd4L) 的表达,进而活化 TGF- β_1 / Smad 通路,促进炎症反应,加重 DN 大鼠肾组织病理损伤和纤维化。miR-135a-5p、miR-133b 和 miR-199b 在高糖状态下均呈高表达,可通过靶向抑制 SIRT1,活化 Smad 信号,进而刺激 TGF- β_1 诱导的成纤维细胞的激活,加重肾纤维化^[19-20]。另有研究

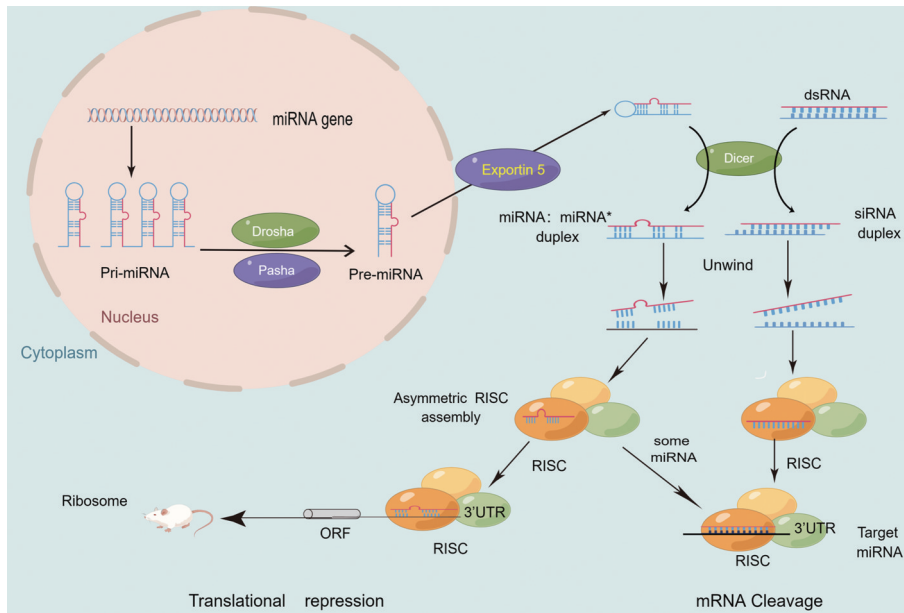


图1 miRNA的生物发生和作用机制图(由figdraw绘制)

Fig. 1 miRNA biogenesis and mechanism of action (drawn by figdraw)

发现 miR-7a-5p 低表达可特异性靶向 P311 mRNA 的 3'UTR,上调 P311 蛋白表达,进而促进 TGF- β_1 信号通路,促进间质转分化的进程,加重 DN 小鼠肾纤维化的发展^[21]。

2.2 miRNA 通过 Toll 样受体 4/核转录因子- κ B (TLR4/NF- κ B)通路影响肾脏炎症反应机制 低度慢性炎症是导致 DN 发病机制的主要因素,研究表明,TLR4 隶属于 TLRs 家族,是激活免疫炎症反应的重要因子,足细胞膜上的 TLR4 受体激活可介导的髓样分化因子 88(MyD88)依赖途径,激活 NF- κ B 通路,进而促进炎症因子的释放,参与 DN 肾脏炎症反应及肾小管上皮-间充质转分化进程,是 DN 进展中足细胞炎症损伤的重要信号通路^[22-23]。

SU 等^[24]用 miRNA 微阵列分析 DN 患者肾组织 miRNA 表达谱发现 miR-140-5p 表达明显下调,而运用质粒转染技术调控 miR-140-5p 使其过表达后发现,miR-140-5p 可直接靶向抑制 TLR4/NF- κ B 通路的激活,减少肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)等促炎因子的表达,从而减缓 DN 进程。另有多项研究发现^[25-26],DN 模型中 miR-195 和 miR-124 均呈低表达,负向调控 TLR4 水平,激活 NF- κ B 信号通路,促进肾脏中 IV 型胶原蛋白(ColIV)、纤维连接蛋白(FN)蛋白表达,从而加重炎症反应及肾纤维化,而在体外实验中分别调控 miR-195 和 miR-124 的表达趋势,可发现上调其表达可靶向抑制 TLR4/NF- κ B 途径,NF- κ B 途径失活阻碍了 HG 刺激下炎症因子的释放及 ColIV 和

FN 的表达,从而减轻肾脏炎症反应及组织纤维化进展。

2.3 miRNA 通过 NOD 样受体蛋白 3/胱天蛋白酶-1/消皮素-D(NLRP3/Caspase-1/GSDMD)通路影响细胞焦亡机制 细胞焦亡是一种与炎症活化有关的程序性细胞死亡,多项研究证明 miRNA 可通过调控细胞焦亡影响肾脏炎症性损伤进程。过度激活的 NLRP3 炎性小体与凋亡相关微粒蛋白(ASC)和剪切的(pro)-Caspase-1 蛋白,共同形成 NLRP3 炎性小体复合物,驱动 Caspase-1/GSDMD 焦亡信号通路直接引起细胞裂解性死亡,同时释放 IL-1 β 和 IL-18 等炎症细胞因子,从而在肾脏及全身建立炎症环境,引起细胞焦亡,导致肾脏炎症性损伤,是重要的内源性调节因子^[27-28]。

研究发现 miR-10a/b 在肾足细胞和肾小管上皮细胞中呈低表达,可促进 NLRP3 炎性小体的激活,从而促进其下游 Caspase-1 活化,以及 IL-1 β 和 IL-18 等促炎细胞因子的释放,增强肾脏炎症损伤^[29]。同时高糖培养的永生化小鼠 MPC-5 足细胞中可见 Caspase-1 呈上调趋势,GSDMD、miR-200c 和 Inc MALAT1 表达增加,核因子 E₂ 相关因子 2(Nrf2)、血红素氧合酶-1(HO-1)、整体存活率(OS)水平升高,激活细胞焦亡和氧化应激的发生,加重 DN 肾脏损伤^[30]。ZHAN 等^[31]发现 DN 模型中 miR-34c 表达下调,靶向上调 NLRP3、Caspase-1 及 IL-1 β 表达,加重肾脏炎症状态,激活细胞焦亡,导致 DN 肾脏炎症性损伤,而给予 miRNA-34c 激动剂,则可通过介导

NLRP3 调控肾脏炎症及焦亡。

2.4 miRNA 通过其他信号通路影响肾脏损伤机制

磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)是一条与增殖、分化、凋亡及迁移等相关的细胞信号通路,参与了DN病理变化过程中发挥重要作用,包括系膜细胞增殖扩张、足细胞凋亡自噬、细胞外基质积聚和肾小球肥大等^[32]。研究发现miR-21与张力蛋白同源物(PTEN)在其3'UTR段存在结合位点,是PI3K/Akt重要的负调控因子,高表达的miR-21可通过靶向PTEN,活化PI3K/Akt信号通路,进而抑制肾小球足细胞自噬水平,ECM积聚,加重肾脏病理损伤^[33]。

分泌型糖蛋白/ β -链蛋白(Wnt/ β -catenin)信号通路可通过调节糖脂代谢、炎症反应、氧化应激、细胞凋亡和上皮间质转分化等领域参与DN发生发展^[34-35]。研究发现高糖状态下miR-17-5p和miR-27a呈高表达状态,可分别下调驱动蛋白家族成员23(KIF23)和分泌型卷曲相关蛋白1(Sfrp1),从而激活Wnt/ β -catenin信号通路,增加细胞外基质的沉积、细胞凋亡和肾纤维化,从而加重DN肾脏损伤^[36-37]。大量研究证明miRNA可通过多种信号通路作用于DN,进而发挥降低炎症反应、抑制细胞凋亡、改善细胞自噬,延缓上皮-间充质转化过程及延缓肾脏纤维化等作用,为从基因层面探索治疗DN提供新的通路靶点预测和证据。

3 中医药通过调节miRNA干预DN

中医药治疗具有多靶点、多疗效、多层次的优势,课题组前期研究发现^[38-41],红芪多糖可通过抑制Wnt/ β -catenin信号通路或下调TGF- β_1 、结缔组织生长因子(CTGF)、蛋白激酶C(PKC)及基质金属蛋白酶组织抑制因子-1(TIMP-1)蛋白及mRNA的表达水平,上调基质金属蛋白酶-2(MMP-2)的表达,来减轻炎性细胞浸润,抑制肾小球高滤过损伤、基底膜增厚及外基质沉积,进而改善DN病程发展,从实验层面揭示了传统中药材可通过信号通路或靶分子等多途径来调理机体阴阳平衡状态的科学内涵。miRNA作为能够调控全身各组织功能的一种RNA,可通过调控多个靶基因表达或一个靶基因调控多个mRNA表达,参与调节机体生理与病理状态的平衡,这一现象与中医阴阳平衡理论存在异曲同工之处^[42]。DN的病理进程也是机体阴阳失衡作用的结果。近年来大量研究发现,多种中药复方、中药组成成分及提取物均可调控miRNA的表达水平达到干预DN进展的目的。

3.1 中药复方通过调节miRNA治疗DN 中药复方根据君臣佐使等配伍理论创建出的复杂组方系统,因其中药物活性成分复杂,可发挥多组分、多靶点、多途径的治疗作用,体现了中医药对机体的多维度整体调控作用^[43]。吕嘉苇等^[44]研究发现对DN小鼠给予益气活血固肾颗粒(黄芪30g、益智仁15g、黄连5g、大黄5g、水蛭5g、牛大力10g)干预后能够抑制Smad3及miR-21表达,促进miR-29s表达,抑制TGF- β_1 信号通路,降低纤维化因子 α -SMA、Col I、Col III表达,缓解肾间质纤维化进展。李杨^[45]研究发现,基于DN肾虚不固、湿热内蕴的病机,结合长期临床实践总结的益肾排浊方(生黄芪30g、党参15g、山药30g、熟地黄10g、土茯苓15g、猫爪草10g、六月雪10g、熟大黄6g)能够改善患者尿素氮(BUN)、血肌酐(SCr)和表皮生长因子受体(eGFR)水平,同时下调miR-21的高表达及TGF- β_1 信号通路,进而发挥抗肾脏纤维化的作用。孙炜等^[46]研究发现, DN大鼠肾组织miR-192表达均较正常组明显升高,而基于湿浊瘀血、热毒壅盛、肾气不固的病机理论,给予益气固肾方(黄芪、女贞子、生地、苍术、丹参、大黄、菟丝子、山药、山茱萸、决明子)治疗后发现miR-192表达均较模型组减少,且ALT、AST、BUN、SCr等肝肾功指标得到改善,发挥保护肾功能作用。叶太生^[47]研究发现,基于气虚血不足而致肾“阴阳失和”的病机理论,给予当归补血汤(当归、黄芪)治疗能够从基层层面抑制肾组织miR-21表达,进而调控病理状态下Akt/mTOR信号通路的失衡,改善自噬相关基因(Beclin-1)、微管相关蛋白1轻链3(LC3)等表达,恢复了肾脏足细胞自噬活性,抑制系膜增生,延缓肾脏损害。

3.2 中药组成成分及提取物通过调控miRNA治疗DN

3.2.1 黄连主要成分通过miR-29b/TGF- β_1 调控DN间质转分化机制研究 黄连具有清热燥湿、泻火解毒的功效,《新修本草》中言:“蜀道者粗大,味极浓苦,疗渴为最”,明确提出黄连可治疗消渴。黄连素又名小檗碱,是一种从黄连根茎中提取的生物碱,具有降低血糖血脂、降低炎症反应及尿蛋白排泄率、改善肾小球滤过等作用^[48]。研究发现,高糖可使足细胞中miR-29b减少,TGF- β_1 表达上升, α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、中间丝状体蛋白(desmin)表达上升,足细胞跨膜蛋白(podocin)表达下降,给予黄连素干预后可见高糖+黄连素组的miR-29b表达上升,而通过转染miR-29b抑制剂和miR-29b模拟

物后发现 miR-29b 模拟物组 TGF- β_1 浓度明显下降, α -SMA、desmin 表达下降, podocin 表达上升, miR-29b 抑制剂组正好相反, 可知黄连素可以通过靶向调控 miR-29b 表达上调, 进而抑制 TGF- β_1 通路, 改善间充质转分化程度, 抑制 DN 纤维化的程度。

3.2.2 葛根主要成分通过 miR-140-5p/TLR4/MyD88/NF- κ B 调控糖尿病炎症损伤的机制研究

葛根的功效在《本经》中就有所记载:“主消渴、身大热、呕吐、诸痹、起阴气、解诸毒。”《本草经疏》中言:“葛根, 解散阳明温病热邪主要药也, 故主消渴”, 都提出葛根是治疗消渴病之要药。葛根素是从豆科植物野葛中分离提取的一种异黄酮类化合物, 可显著改善糖尿病大鼠糖脂代谢紊乱和胰岛素抵抗水平, 抑制足细胞自噬及相关分子通路等表达进而减轻 DN 损害进展^[50-51]。研究发现, miR-140-5p 在高糖状态下呈下调趋势, 给予葛根素治疗后可逆转其表达趋势, 通过转染 miR-140-5p siRNA 上调 miR-140-5p 表达后发现, 可降低 TLR4/MyD88/NF- κ B(p65) 信号通路的活性水平, 降低炎症细胞因子 TNF- α , IL-1 β 和 IL-6 的水平, 减少肾脏慢性炎症反应, 进而预防高糖引起的肾脏损伤^[52]。

3.2.3 黄芪主要成分通过 miR-21 调控 DN 间质纤维化机制研究

黄芪味甘微温, 具有补益脾肺之气, 利水消肿, 托毒生肌之效, 《本草经集注》中言黄芪“其茎、叶治渴及痙挛, 痈肿, 疽疮”, 亦是治疗消渴之要药。现代药理研究发现, 黄芪主要活性成分具有抗氧化应激, 抗炎反应, 降低血糖血脂, 调节糖脂代谢, 保护肾脏足细胞及肾小管上皮细胞凋亡等多方作用^[53]。黄芪甲苷是从黄芪中的提取的一种皂苷类化合物, 是黄芪的主要组成成分^[54]。研究发现高糖培养的系膜细胞、小鼠原代足细胞和糖尿病 KK-Ay 小鼠中的 miR-21 表达增加, 激活 Wnt/ β -catenin 通路和 TGF- β_1 /Smads 通路, 促进系膜细胞外基质积聚及足细胞间充质转分化, 而给予黄芪甲苷治疗则可抑制 miR-21 表达, 进而抑制 Wnt/ β -catenin 和 TGF- β_1 /Smads 通路的激活, 从而抑制系膜细胞外基质积聚状态及足细胞间充质转分化来改善肾功能及肾脏纤维化进程^[55]。

3.2.4 黄芩主要成分通过 miR-124/TLR4/NF- κ B 调控 DN 炎症反应机制研究

黄芩味苦气平性寒, 《神农本草经读》中言:“黄芩……大抵气寒皆能除热, 味苦皆能燥湿”, 明确提出黄芩具有清热燥湿之效。曹士炜等^[56]研究 2 型糖尿病湿热病证用药规律中发现, 黄连、黄芩药物使用最多, 可清上中二焦之热,

以达清热解毒燥湿之效, 改善糖尿病患者湿热症状。现代药理研究发现, 黄芩苷是一种从中药材黄芩中提取的黄酮类化合物, 具有抗炎抗氧化、降血糖血脂等作用, 可以调节 TGF- β_1 /Smad 通路进而延缓肾脏纤维化的作用^[57-58]。研究发现, miR-124 水平在 DN 小鼠以及高糖诱导 HK-2 细胞中显著下调, 抑制了 TLR4 的表达和 NF- κ B 信号通路的激活, 而黄芩苷治疗后可引起 miR-124 依赖性上调, 导致 SCr、BUN 和 ACR 值明显降低, Col IV、FN、磷酸化 NF- κ B/p65 抑制蛋白(p-I κ B α /p-p65) 和 TLR4 等蛋白水平显著下调, 表明黄芩苷可通过诱导上调 miR-124 表达, 进一步抑制 TLR4 的表达和 NF- κ B 信号通路的激活, 改善肾脏功能, 降低炎症反应和纤维化进展, 从而达到肾脏保护作用^[26]。

3.2.5 茵陈提取物通过 miR-21/TGF- β_1 /Smad 调控 DN 间质纤维化机制研究

茵陈味苦微寒, 苦以降泄, 寒能清热, 以达利水道而泻湿淫, 消瘀热而退黄疸之效。现代药理研究发现, 茵陈具有降低血糖血脂水平, 改善胰岛素抵抗, 可通过 PTEN/Akt/mTOR 通路达到缓解 DN 大鼠肾脏功能及组织病理改变等作用^[59]。孙成博^[60]通过 miRNA 芯片筛查结合逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)发现, miR-21 在 DN 大鼠肾脏中呈高表达, 可靶向抑制 Smad7 表达, 激活 TGF- β_1 /Smad 信号通路, 促进肾脏纤维化, 而给予茵陈提取物治疗后可以降低 miR-21 表达水平, 靶向上调 Smad7 表达水平, 抑制 TGF- β_1 、Smad2/3 表达, 负向调控 TGF- β_1 /Smad 信号通路的作用, 从而抑制肾间质纤维化, 缓解 DN 发展进程。

4 总结

DN 作为糖尿病中最常见的慢性微血管并发症之一, 不仅给患者及家庭带来了沉重的身心压力, 也为社会医疗增添了巨大负担。因此, DN 的早期诊断和治疗对提高糖尿病患者生存率和改善生活质量具有重要意义, 同时也为减轻国家医疗压力提供积极助力。近年来针对该病的研究早已深入基因层面并获得广泛关注, miRNA 介导的基因调控事件能通过调控某些特定的信号通路来参与调节机体阴阳平衡及病理进程, 已成为 DN 发生发展的新热点。本文通过了解 miRNA 的生物学作用机制, 总结归纳 miRNA 介导的 TGF- β 、PI3K/Akt、TLR4/NF- κ B、NLRP3/Caspase-1/GSDMD、Wnt/ β -catenin 等多条信号通路在参与调控 DN 相关炎症反应、细胞焦亡及纤维化等病理改变中的作用机制, 创造性地为提出以 miRNA 为新靶点的观念提供更有效的

理论依据。传统中医药诊疗具有其独特优势,益气活血固肾颗粒、益肾排浊方等中药复方因药物组方众多可发挥多靶点多途径多维度调控作用,而如黄连、葛根、黄芪、黄芩、茵陈等单味中药则通过提取分离的方式,细致挖掘中药中的单一化合物成分或主要提取物,从中药主要活性组分角度发挥更为明确的靶向调控作用,两者方式各有千秋,均能够通过靶向特定 miRNA 介导的相关信号通路途径来调理机体阴阳平衡状态,对进一步从基因层面研究中医药治疗 DN 提供了强有力的理论支持。然而传统中医药虽然通过靶向干预 miRNA 在 DN 的诊断及治疗预后等多方面体现出了可观的应用价值,却未能完全阐明其调控机制,因此运用新技术新方法继续探索中医药及 miRNA 的作用机制,将是未来中医药科研工作者的挑战和动力。

[参考文献]

- [1] VARTAK T, GODSON C, BRENNAN E. Therapeutic potential of pro-resolving mediators in diabetic kidney disease[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 178: 113965.
- [2] SUN H, SAEEDI P, KARURANGA S, et al. IDF diabetes atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109-119.
- [3] CHERNEY D Z, TUTTLE K R. Liraglutide for the treatment of type 2 diabetes and safety in diabetic kidney disease: Liraglutide and diabetic kidney disease [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2020, 15(4): 444-446.
- [4] CORREIA M, GJORGJEVA M, DOLICKA D, et al. Deciphering miRNAs' action through miRNA editing [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): 6249.
- [5] WU L, WANG Q, GUO F, et al. Involvement of miR-27a-3p in diabetic nephropathy via affecting renal fibrosis, mitochondrial dysfunction, and endoplasmic reticulum stress [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236 (2) : 1454-1468.
- [6] KRAMMER T L, MAYR M, HACKL M. microRNAs as promising biomarkers of platelet activity in antiplatelet therapy monitoring [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3477.
- [7] RICE G M, SHIVASHANKAR V, MA E J, et al. Functional atlas of primary miRNA maturation by the microprocessor [J]. *Mol Cell*, 2020, 80(5): 892-902.
- [8] JODDER J. Regulation of pri-MIRNA processing: Mechanistic insights into the miRNA homeostasis in plant [J]. *Plant Cell Rep*, 2021, 40(5): 783-798.
- [9] FU X, ZHU W, CAI L, et al. Improved pre-miRNAs identification through mutual information of pre-miRNA sequences and structures [J]. *Front Genet*, 2019, 10: 119.
- [10] PASQUINELLI A E. MicroRNAs and their targets: Recognition, regulation and an emerging reciprocal relationship [J]. *Nat Rev Genet*, 2012, 13(4): 271-282.
- [11] KING V M, BORCHERT G M. MicroRNA expression: Protein participants in microRNA regulation [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1617: 27-37.
- [12] MATSUYAMA H, SUZUKI H I. Systems and synthetic microRNA biology: From biogenesis to disease pathogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21 (1): 132.
- [13] VAN ZUYDAM N R, AHLQVIST E, SANDHOLM N, et al. A genome-wide association study of diabetic kidney disease in subjects with type 2 diabetes [J]. *Diabetes*, 2018, 67(7): 1414-1427.
- [14] WANG L, WANG H L, LIU T T, et al. TGF-beta as a master regulator of diabetic nephropathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(15): 7881.
- [15] ZHANG Y E. Non-smad signaling pathways of the TGF- β family [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9(2): a022129.
- [16] SUN F, YU P F, WANG D, et al. MicroRNA-488 regulates diabetic nephropathy via TGF- β_1 pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(10): 4333-4340.
- [17] WANG Q, CANG Z, SHEN L, et al. Circ_0037128/miR-17-3p/Akt3 axis promotes the development of diabetic nephropathy [J]. *Gene*, 2021, 765: 145076.
- [18] ZENG Y, FENG Z, LIAO Y, et al. Diminution of microRNA-98 alleviates renal fibrosis in diabetic nephropathy by elevating Nedd4L and inactivating TGF- β /Smad2/3 pathway [J]. *Cell Cycle*, 2020, 19 (24): 3406-3418.
- [19] ZHANG J, ZHANG L, ZHA D, et al. Inhibition of miRNA-135a-5p ameliorates TGF- β_1 -induced human renal fibrosis by targeting SIRT1 in diabetic nephropathy [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(3): 1063-1073.
- [20] SUN Z, MA Y, CHEN F, et al. miR-133b and miR-199b knockdown attenuate TGF- β_1 -induced epithelial to mesenchymal transition and renal fibrosis by targeting SIRT1 in diabetic nephropathy [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 837: 96-104.
- [21] DU Y, YANG Y T, TANG G, et al. Butyrate alleviates diabetic kidney disease by mediating the miR-7a-5p/

- P311/TGF- β_1 pathway [J]. *FASEB J*, 2020, 34 (8) : 10462-10475.
- [22] LIN L, LIN H, WANG D, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells ameliorated kidney fibrosis by attenuating TLR4/NF- κ B in diabetic rats[J]. *Life Sci*, 2020, 262:118385.
- [23] LI M, GUO Q, CAI H, et al. miR-218 regulates diabetic nephropathy via targeting IKK- β and modulating NK- κ B-mediated inflammation[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(4):3362-3371.
- [24] SU J, REN J, CHEN H, et al. MicroRNA-140-5p ameliorates the high glucose-induced apoptosis and inflammation through suppressing TLR4/NF- κ B signaling pathway in human renal tubular epithelial cells [J]. *Biosci Rep*, 2020, doi: 10.1042/BSR20192384.
- [25] ZHU L L, WANG H Y, TANG T. Effects of miR-195 on diabetic nephropathy rats through targeting TLR4 and blocking NF- κ B pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(3):1522-1529.
- [26] ZHANG S, XU L, LIANG R, et al. Baicalin suppresses renal fibrosis through microRNA-124/TLR4/NF- κ B axis in streptozotocin-induced diabetic nephropathy mice and high glucose-treated human proximal tubule epithelial cells[J]. *J Physiol Biochem*, 2020, 76(3) : 407-416.
- [27] MULAY S R. Multifactorial functions of the inflammasome component NLRP3 in pathogenesis of chronic kidney diseases[J]. *Kidney Int*, 2019, 96(1) : 58-66.
- [28] CHENG Q, PAN J, ZHOU Z L, et al. Caspase-11/4 and gasdermin D-mediated pyroptosis contributes to podocyte injury in mouse diabetic nephropathy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(6):954-963.
- [29] DING H, LI J, LI Y, et al. MicroRNA-10 negatively regulates inflammation in diabetic kidney via targeting activation of the NLRP3 inflammasome[J]. *Mol Ther*, 2021, 29(7):2308-2320.
- [30] ZUO Y, CHEN L, HE X, et al. Atorvastatin regulates MALAT1/miR-200c/Nrf2 activity to protect against podocyte pyroptosis induced by high glucose [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2021, 14:1631-1645.
- [31] ZHAN J F, HUANG H W, HUANG C, et al. Long non-coding RNA NEAT1 regulates pyroptosis in diabetic nephropathy via mediating the miR-34c/NLRP3 axis [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2020, 45(4):589-602.
- [32] DARICI S, ALKHALDI H, HORNE G, et al. Targeting PI3K/Akt/mTOR in AML: Rationale and clinical evidence[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(9):2934.
- [33] GUO J. Effect of miR-21 on renal fibrosis induced by Nano-SiO₂ in diabetic nephropathy rats via PTEN/Akt pathway [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2021, 21 (2) : 1079-1084.
- [34] CHEN C, SHI Y, MA J, et al. Trigonelline reverses high glucose-induced proliferation, fibrosis of mesangial cells via modulation of Wnt signaling pathway[J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2022, 14(1) :28.
- [35] GUO Q, ZHONG W, DUAN A, et al. Protective or deleterious role of Wnt/beta-catenin signaling in diabetic nephropathy: An unresolved issue [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 144:151-157.
- [36] CHEN X, GU L, CHENG X, et al. MiR-17-5p downregulation alleviates apoptosis and fibrosis in high glucose-induced human mesangial cells through inactivation of Wnt/ β -catenin signaling by targeting KIF23[J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(8) :1702-1712.
- [37] SHI M, TIAN P, LIU Z, et al. MicroRNA-27a targets SFRP1 to induce renal fibrosis in diabetic nephropathy by activating Wnt/ β -catenin signalling[J]. *Biosci Rep*, 2020, doi:10.1042/BSR20192794.
- [38] 陈彦旭,金彩云,金智生,等. 基于Wnt/ β -catenin信号通路探讨红芪多糖对糖尿病肾病 db/db 小鼠作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(21) :74-80.
- [39] 金智生,魏玉娇,林海龙,等. 红芪多糖对早期糖尿病肾病 db/db 小鼠肾间质纤维化的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2017, 40(8) :677-683.
- [40] 金智生,魏玉娇,林海龙,等. 红芪多糖对早期糖尿病肾病 db/db 小鼠肾组织中 MMP-2 及 TIMP-1 mRNA 和蛋白表达的影响[J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(4) :66-70.
- [41] 祁雪艳,金智生,陈长浩,等. 红芪多糖对早期糖尿病肾病 db/db 小鼠肾脏保护作用及 PKC/TIMP-1 表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(18) :5053-5056.
- [42] 李洁,秦性良,邵宁生. MicroRNA 及其靶基因的时空特异性与动态变化[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2013, 40(7) :617-626.
- [43] 李海英,贺鹏,贺玉婷,等. 中药复方配伍研究的关键问题及超分子化学解决对策[J]. *中草药*, 2019, 50(12) :2757-2762.
- [44] 吕嘉苇,庄楷,蒋希羽,等. 益气活血固肾颗粒对 db/db 小鼠肾脏的保护作用及对 Smad3 介导 miR-NA-21、miRNA-29s 表达的影响[J]. *中成药*, 2021, 43(5) :1170-1179.
- [45] 李扬. 益肾排浊方治疗慢性肾脏病的临床疗效观察及 miRNA-21 表达的影响[D]. 南京:南京中医药大学, 2020.

- [46] 孙炜,王云卿. 益气固肾方对STZ诱导的糖尿病肾病大鼠肾功能及miR-192的影响[J]. 新中医, 2020, 52(13):1-3.
- [47] 叶太生. 基于miR-21靶向Akt/mTOR信号通路探讨补气生血法调控自噬防治早期糖尿病肾病临床和实验研究[D]. 武汉:湖北中医药大学, 2019.
- [48] 李白云,刘波,庄新娟,等. 黄连素对2型糖尿病患者血清胱抑素C及微量白蛋白/肌酐比值的影响[J]. 中华医学杂志, 2018, 98(46):3756-3761.
- [49] 郭小雷. 黄连素调节miR-29b抑制高糖诱导的MPC-5足细胞上皮-间质转化研究[J]. 天津中医药, 2021, 38(1):113-118.
- [50] XU W, TANG M, WANG J, et al. Anti-inflammatory activities of puerarin in high-fat diet-fed rats with streptozotocin-induced gestational diabetes mellitus [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(10):7537-7546.
- [51] LI X, ZHU Q, ZHENG R, et al. Puerarin attenuates diabetic nephropathy by promoting autophagy in podocytes[J]. *Front Physiol*, 2020, 11:73.
- [52] XU Y, XIONG Y, XU C, et al. Standard puerarin prevents diabetic renal damage by inhibiting miRNA-140-5p expression [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020, 13:3947-3958.
- [53] 倪慧明,董哲毅,陈香美. 黄芪主要活性成分对糖尿病肾病的疗效机制研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2021, 46(3):294-299.
- [54] LI L, HOU X, XU R, et al. Research review on the pharmacological effects of astragaloside IV [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2017, 31(1):17-36.
- [55] WANG X, GAO Y, TIAN N, et al. Astragaloside IV improves renal function and fibrosis via inhibition of miR-21-induced podocyte dedifferentiation and mesangial cell activation in diabetic mice [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12:2431-2442.
- [56] 曹士炜,王乐旬,荣向路. 中医药治疗2型糖尿病湿热证的用药规律研究[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(8):1137-1142.
- [57] AHAD A, MUJEEB M, AHSAN H, et al. Prophylactic effect of baicalein against renal dysfunction in type 2 diabetic rats[J]. *Biochimie*, 2014, 106:101-110.
- [58] 郑小鹏,冯静,宋朝宇,等. 黄芩苷对糖尿病肾病大鼠肾纤维化的调控作用[J]. 医学研究生学报, 2020, 33(5):471-475.
- [59] 张淑霞,霍文博,苏莹,等. 茵陈提取物对糖尿病大鼠肾组织中PTEN蛋白表达的影响及其肾脏保护作用[J]. 吉林大学学报:医学版, 2019, 45(4):779-783, 982.
- [60] 孙成博. miRNA-21在茵陈提取物干预大鼠糖尿病肾病中的作用及机制[D]. 长春:吉林大学, 2017.

[责任编辑 孙丛丛]