DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000740

MicroRNA在肾纤维化中的意义

柯　本，吴险峰，房向东
（南昌大学第二附属医院肾内科，南昌　330006）

【摘　要】MicroRNA（miRNA）是内源性非编码短 RNA，它通过在转录之前抑制靶 mRNA 达到抑制基因表达的能力。在肾脏中，miRNA 与肾脏病变、稳态及生理功能等紧密相连。临床与动物实验均证明，miRNA 在肾病的发病机制中起着重要作用。转录生长因子 β（transforming growth factor-β，TGF-β），由于其能刺激细胞外基质（extracellular matrix，ECM）的沉积损害正常肾脏功能，被认为是导致肾纤维化重要的介质之一。大量证据表明在肾脏疾病中，TGF-β 信号通路与 miRNA 的表达有着密切联系。肾病患者血液及尿液中 miRNA 的出现已作为侦测肾脏疾病的早期生物标记物。慢性肾脏病动物模型的实验研究也表明，靶向miRNA 在治疗肾脏疾病中有着巨大的潜在价值。因此研究 miRNA 在肾纤维化中的作用也许能为临床早期诊断及治疗肾脏疾病提供新方法。

【关键词】microRNA；肾脏疾病；肾纤维化；转录生长因子 β 信号通路
【中图分类号】R692.5　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2015-05-04

Progress in microRNA and renal fibrosis

Ke Ben, Wu Xianfeng, Fang Xiangdong
(Department of Nephrology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University)

【Abstract】MicroRNAs (miRNAs) are endogenous short non-coding RNAs that regulate most of important cellular processes by inhibiting gene expression through the post-transcriptional repression of their target mRNAs. In kidneys, miRNAs have been associated with renal development, homeostasis, and physiological functions. Results from clinical and experimental animal studies demonstrate that miRNAs play essential roles in the pathogenesis of various renal diseases. Transforming growth factor-β (TGF-β) is recognized as a major mediator of renal fibrosis because it is able to stimulate the accumulation of extracellular matrix (ECM) proteins to impair normal kidney function. Recently, substantial evidences demonstrate the relationship between TGF-β signaling and miRNAs expression during renal diseases. Clinically, the presence of miRNAs in blood and urine has been examined to be early biomarkers for detecting renal diseases. From experimental animal studies of CKD, targeting microRNAs also provides evidences about therapeutic potential of miRNAs during renal diseases. Therefore, determining the function of miRNAs and TGF-β in renal fibrosis may facilitate the development of both early diagnosis and of renal diseases.

【Key words】microRNA; kidney disease; renal fibrosis; transforming growth factor-β (TGF-β) signaling

MicroRNA（miRNA）是小分子内源性非蛋白编码短RNA，它通过调节靶基因来调控细胞程序，如细胞代谢、增殖、分化、死亡及多种疾病的病理生理。miRNA 在肾脏疾病中同样起着非常重要的作用。微阵列分析研究表明，与其他器官相比，肾脏的 miR-192、miR-194、miR-204、miR-215 和 miR-216 的丰度都很高[1]。越来越多的证据显示 miRNA 参与肾脏的发展、稳态及疾病[2]。本文就 miRNA 在肾纤维化中的进展作一综述。

1　miRNA 的产生及生物学功能

miRNA是高度保守的内源性小分子 RNA，广泛表达于机体各个器官及组织。其主要机理是通过绑定各自的 mRNA，产生 RNA 介导的沉默复合物（RNA-induced silencing complex，RISC）使靶基因沉默。miRNA 影响靶基因表达的过程较复杂：首先，在细胞核内，RNA 聚合酶Ⅱ或Ⅲ参与转录时会形成长茎环原始 miRNA（primary miRNA，Pri-miR），接着 Pri-miR被 RNA酶Ⅲ-Drosha 酶裂解成双链短的 miRNA 前体及迪乔治综合征关键区域基因 8（DiGeorge syndrome critical region gene 8，DGCR8）[1]。这些 miRNA 前体再通过三磷酸鸟苷和输出蛋

作者介绍：柯　本，Email：keben-1989125@163.com，
研究方向：肾脏纤维化。
通信作者：房向东，Email：xiangdongfang818@sina.com。
基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：81460142）。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150805.1551.018.html（2015-08-05）

白 5 被运送到细胞质，miRNA 前体被另外一种 RNA 酶Ⅲ-Dicer 酶进一步裂解为 20~22 bp 双链成熟 RNA。这种 miRNA-miRNA 复合形式是展开的有功能的成熟 miRNA，它能够与 RISC 结合[1]。成熟的 miRNA 诱导 RISC 与靶 mRNA 的 3'末转录区（3'-*untranslated region*，3'UTR）结合，这将导致在转录前基因的沉默。因此，miRNA 通过使 mRNA 衰变的形式抑制靶基因的表达。

2 miRNA 通过 TGF-β 信号通路参与肾纤维化中

转录生长因子-β（transforming growth factor-β，TGF-β）属于 TGF-β 超家族成员，其由 3 个亚型组成，包括 TGF-β1、TGF-β2 和 TGF-β3。TGF-β 在机体中的主要作用是促进细胞的增殖与分化。此外，TGF-β 还能诱导细胞外基质的合成。肾纤维化是慢性肾脏病发展到终末期肾脏病的普遍现象。肾纤维化的主要特点是细胞外基质（extracellular matrix，ECM）或肌成纤维细胞的沉积及肾小管的损害。众所周知，TGF-β 是导致肾纤维化的主要细胞因子[3]。在 TGF-β 信号通路中，Smad2 和 Smad3 是重要的信号传递介质[4]。TGF-β 通过Smad2、Smad3 或丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinases，MAPKS）诱导多种纤维化蛋白的表达参与肾纤维化过程[1]。研究发现，miR-155 在肾小管上皮细胞中通过调节TGF-β1 促进肾脏纤维化的产生[5]。另有研究也发现，miR-214 的主要功能是在肾脏损伤时通过 TGF-β 信号通路促进肾纤维化[6]。TGF-β 在肾纤维化中也能调控多种 miRNA 的功能。TGF-β1 可以抑制 miR-19 及 miR-200 家族，诱导 miR-21、miR-192、miR-491-5p、miR-382、miR-377、miR-214 及 miR-433 的产生[7-10]。不仅如此，在肾损伤的大鼠模型中，上述miRNA 的表达也发生了明显改变[10]，这些均表明 miRNA 在 TGF-β 导致的肾纤维化中可能起着核心作用。

3 miRNA 通过 TGF-β 信号通路介导肾纤维化的可能机制

关于 TGF-β 信号通路在肾纤维化中是如何调节 miRNA 表达的具体机制还在探索之中，但最近的研究已经证实，TGF-β 信号通路通过增加 miRNA 或 pri-miR 的转录，诱导肾纤维化相关 miRNA 的合成。研究证明，TGF-β 信号通路可增强一些 miRNA 的转录程序，再通过 Drosha 复合物使它们直接转变为成熟 miRNA[1]。此外，在所有 TGF-β 调控的 miRNA 原始转录区的主干区发现一个共有序列。Smad 与此序列的直接结合会启动 TGF-β 对 Drosha 复合物的征用以及使 DGCR8 向 miRNA 前体的转变，还会加强 TGF-β 对 miRNA 前体生成的调控[11]。

在肾脏疾病中，TGF-β/Smad3 信号通路能调节 miR-21，miR-192，miR-433 和 miR-29 家族的表达[12]。在体外研究中发现，TGF-β 通过 Smad3 上调 miR-21，miR-192，miR-433 的表达，抑制 miR-29 的表达，以及抑制肾小管内皮细胞 Smad7 的表达[10]。此外，Smad3 通过与位于促 Smad 分泌蛋白中 Smad 结合域（Smad bind eara，SBE）结合发挥功能[12]。与 SBE 结合后的 Smad3 既能促进一些 miRNA 的转录，催化 miRNA 的成熟，如 miR-21，miR-192，miR-433，也能抑制一些 miRNA 的转录，如 miR-29 及 miR-200[12-13]。Smad7 作为 Smad 抑制剂，能维持 miR-29b 的功能，抑制 miR-21，miR-192，miR-433，防止肾脏纤维化[9-10]。

大量研究表明，miRNA 亦能反过来调节 TGF-β/Smad3 信号通路。在肾损伤时，TGF-β 诱导 miR-21 的表达，miR-21 的升高会抑制 Smad7 的表达，增强 TGF-β 信号通路[14]。在成纤维细胞中，miR-21 能激活 ERK/MAP 激酶信号通路，增强 TGF-β 的促纤维化能力，间接增强 TGF-β 信号通路[1]。

TGF-β 的表达也会受一些 miRNA 的负性调控。如 miR-200a 能抑制 TGF-β 的表达。尽管 TGF-β2 能抑制肾细胞 miR-200a 的表达，但 TGF-β2 的编码基因也是 miR-200a 的靶基因。miR-200a 的过表达能抑制 TGF-β2 的表达，进而影响 Smad3 的激活及 TGF-β1 诱导的肾纤维化[15]。miR-29 与 TGF-β 也有着同样的调节方式[16]。

除了上述途径之外，多胺的消耗及 CD44 的短暂上调均能激活 TGF-β 信号通路[1,17]。研究表明，细胞内的多胺能够被靶 Azin1 消耗，这一过程能增强 TGF-β 诱导的肾纤维化[12]。体外及体内研究表明，经 TGF-β1 干预后，TGF-β1、TGF-β1 受体、miR-433 及磷酸化的 Smad3 的表达均会被 Azin1 抑制。此外，过表达的 miR-433 能抑制 Azin1 的表达，反过来，Azin1 的过表达也会抑制 TGF-β 信号通路[12]。

4 miRNA 在肾脏疾病中的临床应用

4.1 生物标记物

血、尿中 miRNA 的出现表明 miRNA 能作为肾脏疾病的新型生物标记物。由于 miRNA 稳定，具有组织特异性，且可以被定量识别，最近越来越多的研究发现，循环系统中的 miRNA 能作为肿瘤生长及器官损伤的潜在标记物[18]。关于 miRNA 能否作为肾脏疾病的潜在标记物的研究也在进行之中。研究报道，在严重肾间质纤维化及肾小管萎缩的病人中，循环系统 miR-21 水平显著升高[19]。最近还发现，循环系统中 miR-130b 可能参与糖尿病肾病肾纤维化的发病过程，血清中 miR-130b 能作为早期诊断 2 型糖尿病肾病肾纤维的生物标记物[20]。另外一项研究也显示，在不同阶段的糖尿病肾病患者尿液中有多达 27 种 miRNA 处于不同的表达水平。不仅如此，进一步的研究表明，这 27 种 miRNA 均参与了糖尿病肾病肾脏纤维化的形成过程[21]。在 IgA 肾病患者中，尿液miR-29b 和 miR-29c 的水平与蛋白尿及肾功能均存在关联，而 miR-93 与肾小球疤痕的形成密切相关[22]。因此，出现在血液及尿液中不同类型的 miRNA 与肾脏疾病的关系是值得进一步研究的。

4.2 治疗的潜力

由于其在肾损伤中的重要作用，miRNA 在治疗肾脏疾病方面有着巨大潜力。mRNA 与 miRNA 之间互补序列的发现

为发明一种特异性的靶 miRNA 药物提供了可能[1]。化学工程的快速发展也能使这种靶 miRNA 成为现实，其能自由进入细胞，特异性的与靶 mRNA 或 miRNA 作用，使之沉默[2]。shRNA 质粒等常规手段则提供了另外一种手段修复或抑制 miRNA 的转录[23]。在肾脏病大鼠模型中，修复 miR-29 和miR-200 家族及抑制 miR-21、miR-192、miR-433 均能抑制肾纤维化[10,14,24]。在糖尿病肾病大鼠模型中，miR-29 能抑制 TGF-β/Smad3 介导的肾纤维化，并显示出其治疗糖尿病肾病的潜能[25]。miRNA 应用于临床治疗的主要关注点是其治疗方式及临床安全性。目前，化学合成的寡核苷酸系统性治疗是抑制 miRNA 功能的主要方法[2]。其缺点是寡核苷酸系统性治疗不仅能抑制导致疾病的 miRNA 的功能，也会抑制器官中其他 miRNA的功能。为了克服这项缺陷，在特异性器官中特异性的基因治疗来限制 miRNA 的功能也在探索之中[26]。基因治疗成功的关键是控制转基因表达在预期的治疗水平，这样可以最大的减少副作用。为了实现这一目标，miRNA 的理想剂量就显得很重要。而这依然有待进一步研究。

5 小 结

综上所述，MicroRNA 在肾脏疾病的发病机制中起着重要作用，其主要通过 TGF-β 信号通路影响肾纤维化的形成。正因如此，MicroRNA 同时也具有巨大的治疗价值，抑制 miRNA 功能将会成为未来治疗肾病的新方向。但国内外关于此方面的研究较少，仍需更多的试验来实现这一目标。

参 考 文 献

[1] Chung AC, Lan HY. MicroRNAs in renal fibrosis[J]. Front Physiol, 2015(6):50.

[2] Lorenzen JM, Haller H, Thum T. MicroRNAs as mediators and therapeutic targets in chronic kidney disease[J]. Nat Rev Nephrol, 2011, 7(5): 286-294.

[3] Meng XM, Huang XR, Xiao J, et al. Disruption of Smad4 impairs TGF-beta/Smad3 and Smad7 transcriptional regulation during renal inflammation and fibrosis in vivo and in vitro[J]. Kidney Int, 2012, 81(3): 266-279.

[4] Meng XM, Chung AC, Lan HY. Role of the TGF-beta/BMP-7/Smad pathways in renal diseases[J]. Clin Sci(Lond), 2013, 124(4): 243-254.

[5] Xie S, Chen H, Li F, et al. Hypoxia-induced microRNA-155 promotes fibrosis in proximal tubule cells[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(6): 4555-4560.

[6] Denby L, Ramdas V, Lu R, et al. MicroRNA-214 antagonism protects against renal fibrosis[J]. J Am Soc Nephrol, 2014, 25(1): 65-80.

[7] Kriegel AJ, Liu Y, Cohen B, et al. MiR-382 targeting of kallikrein 5 contributes to renal inner medullary interstitial fibrosis[J]. Physiol Genomics, 2012, 44(4): 259-267.

[8] Kantharidis P, Wang B, Carew RM, et al. Diabetes complications: the microRNA perspective[J]. Diabetes, 2011, 60(7): 1832-1837.

[9] Lan HY, Chung AC. TGF-beta/Smad signaling in kidney disease [J]. Semin Nephrol, 2012, 32(3): 236-243.

[10] Chung AC, Dong Y, Yang W, et al. Smad7 suppresses renal fibrosis via altering expression of TGF-beta/Smad3-regulated microRNAs[J]. Mol Ther, 2013, 21(2): 388-398.

[11] Davis BN, Hilyard AC, Nguyen PH, et al. Smad proteins bind a conserved RNA sequence to promote microRNA maturation by Drosha [J]. Mol Cell, 2010, 39(3): 373-384.

[12] Li R, Chung AC, Dong Y, et al. The microRNA miR-433 promotes renal fibrosis by amplifying the TGF-beta/Smad3-Azin1 pathway[J]. Kidney Int, 2013, 84(6): 1129-1144.

[13] Zhong X, Chung AC, Chen HY, et al. Smad3-mediated upregulation of miR-21 promotes renal fibrosis[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(9): 1668-1681.

[14] Zhong X, Chung AC, Chen HY, et al. miR-21 is a key therapeutic target for renal injury in a mouse model of type 2 diabetes[J]. Diabetologia, 2013, 56(3): 663-674.

[15] Wang B, Koh P, Winbanks C, et al. miR-200a Prevents renal fibrogenesis through repression of TGF-beta2 expression[J]. Diabetes, 2011, 60(1): 280-287.

[16] Zhang Y, Huang XR, Wei LH, et al. miR-29b as a therapeutic agent for angiotensin II-induced cardiac fibrosis by targeting TGF-beta/Smad3 signaling[J]. Mol Ther, 2014, 22(5): 974-985.

[17] Chen CH, Cheng CY, Chen YC, et al. MicroRNA-328 inhibits renal tubular cell epithelial-to-mesenchymal transition by targeting the CD44 in pressure-induced renal fibrosis[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e99802.

[18] Velu VK, Ramesh R, Srinivasan AR. Circulating MicroRNAs as Biomarkers in Health and Disease[J]. J Clin Diagn Res, 2012, 6(10): 1791-1795.

[19] Glowacki F, Savary G, Gnemmi V, et al. Increased circulating miR-21 levels are associated with kidney fibrosis[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e58014.

[20] Lv C, Zhou YH, Wu C, et al. The changes in miR-130b levels in human serum and the correlation with the severity of diabetic nephropathy[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2015. doi: 10.1002/dmrr.2659.

[21] Argyropoulos C, Wang K, Mcclarty S, et al. Urinary microRNA profiling in the nephropathy of type 1 diabetes[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54662.

[22] Wang G, Kwan BC, Lai FM, et al. Urinary miR-21, miR-29, and miR-93: novel biomarkers of fibrosis[J]. Am J Nephrol, 2012, 36(5): 412-418.

[23] Qin W, Chung AC, Huang XR, et al. TGF-beta/Smad3 signaling promotes renal fibrosis by inhibiting miR-29[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(8): 1462-1474.

[24] Putta S, Lanting L, Sun G, et al. Inhibiting microRNA-192 ameliorates renal fibrosis in diabetic nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(3): 458-469.

[25] Chen HY, Zhong X, Huang XR, et al. MicroRNA-29b inhibits diabetic nephropathy in db/db mice[J]. Mol Ther, 2014, 22(4): 842-853.

[26] Xiao J, Meng XM, Huang XR, et al. miR-29 inhibits bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. Mol Ther, 2012, 20(6): 1251-1260.

（责任编辑：张辉洁）