

DOI: 10.13376/j.cbls/2016095

文章编号: 1004-0374(2016)07-0743-09

非编码RNA在调控外源化学物致肾损伤中的作用

曾妮, 王婷, 王庆*

(中山大学公共卫生学院, 广州 510080)

摘要: 外源性化学物质所引起的肾脏损害称为中毒性肾病或化学性肾损伤, 其发病机制十分复杂, 目前为止尚未完全阐明。现有的研究表明, 其可能主要与氧化应激、炎症反应、凋亡或坏死、上皮间质化等过程相关。非编码RNA (non-coding RNAs, ncRNAs) 是指不能翻译成蛋白质的一大类功能性RNA分子。近年来, 以微小RNA (microRNA, miRNA) 和长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 为代表的ncRNA研究发现, 其对基因表达和信号通路的转导具有非常重要的调控作用, 并具有调节外源化合物代谢, 影响外源性化合物的肝肾毒性等功能。现主要围绕近几年非编码RNA在外源化学物致肾脏损伤相关研究中的研究成果, 探讨药物、重金属、化学毒物致肾脏损伤过程中ncRNAs的表达差异, 及ncRNA在调控化学性肾损伤相关信号通路中的作用机制, 并且讨论它们在诊断和治疗过程中作为潜在标志物的前景。

关键词: 外源化学物; 中毒性肾病; ncRNA; 信号通路; 生物标志物

中图分类号: Q75; R692 **文献标志码:** A

The function of non-coding RNA in regulating the renal injury induced by exogenous chemicals

ZENG Ni, WANG Ting, WANG Qing*

(School of Public Health, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: Toxic nephropathy is a kind of renal impairment caused by exogenous chemicals. Although the pathogenesis of toxic nephropathy is very complex and has not been fully elucidated, a large number of studies have revealed that the mechanism of toxic nephropathy is mainly related to the dysfunction of physiological signal transduction pathways including oxidative stress, inflammation, apoptosis/necrosis, epithelial-mesenchymal transition and so on. Non-coding RNAs (ncRNAs) are a group of functional RNA molecules that are not translated into proteins. A great number of studies found that ncRNAs including microRNA (miRNA) and long non-coding RNA (lncRNA) are involved in many cellular physiological and pathological processes *in vivo*. In this paper, we mainly focused on the research achievements of non-coding RNA in recent years which related to the studies of renal injury that induced by chemicals. At the same time, we also inquire into the differential expression of ncRNA in drug, heavy metal, chemical toxicant induced kidney injury, and the mechanism of ncRNA in the regulation of the signaling pathway of chemical induced renal injury. Their prospects of ncRNA as potential markers in the diagnosis and treatment process of related disease were also discussed.

Key words: exogenous chemicals; toxic nephropathy; ncRNA; signaling pathway; biomarker

药物、重金属、化学毒物所引起的肾脏损害称为中毒性肾病, 常以肾毒物质的名称命名。随着工业发展, 金属、冶炼业增多, 化工原料、医药及各种农药的出现, 环境污染增加, 使人群接触肾毒物的机会增加, 中毒性肾病的发病率亦随之增长。不

同肾毒性物质可引发机体不同的肾损害表现。重金

收稿日期: 2015-12-19; 修回日期: 2016-04-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(30800930); 广州市科信局珠江新星专项(2013J2200020)

*通信作者: E-mail: wangq27@mail.sysu.edu.cn

属、化学毒物本身及其代谢产物可通过与生物大分子结合直接损伤肾小管上皮细胞,也可通过损伤细胞膜,引起细胞膜功能丧失和细胞骨架的损害及细胞内钙稳态失衡等损伤肾小球的正常功能。药物诱导的急性肾损伤的机制,目前研究较清楚的是炎症反应、间质性肾损伤及肾脏血流动力学改变引起的功能紊乱^[1-2]。表观遗传调控是当前的研究热点,现有的研究表明,ncRNA作为表观遗传调控方式之一,可能与多种肾脏疾病的发生、发展有着密切的联系,如miRNA miR-30d、miR-125b、miR-192、miR-194、miR-215、miR-182-5p等^[3]及lncRNA HOTAIR (HOX转录反义RNA)、TUG1 (牛磺酸上调基因1)、H19^[4-6]等与肾脏肿瘤的发生、进展、侵袭相关;miR-29、miR-200能够维持上皮细胞的正常分化,在糖尿病肾病中具有抗肾小球细胞纤维化的功能^[7-8];lncRNA如浆细胞瘤变异体1 (plasmacytoma variant translocation 1, PVT1)能够促进糖尿病肾病的发生和发展^[9]。本文就非编码RNA在不同类型化学性肾损伤中的表达差异及其对化学性肾损伤相关信号通路的调控进行综述。

1 非编码RNA简介

人类基因组计划 (human genome program, HGP) 完成之后,人们发现人类基因组大约仅1.5%的序列可编码蛋白质,其余序列均不编码蛋白质^[10],属于非编码RNA,很长一段时间内,这些序列都被认为是进化过程中的“垃圾序列”或所谓的“转录噪声”而不具备生物学功能^[11]。随着对RNA研究的不断深入,人们发现非编码RNA的突变或表达异常与许多疾病的发生密切相关。此外,近年来有研究表明,所谓的非编码RNA还会从小型的开放阅读框产生短肽,从而发挥重要生理调控功能^[12-14]。由此可见,绝大多数的非编码RNA的功能作用尚未完全阐明。越来越多的证据表明,ncRNA,尤其是miRNA及lncRNA在许多疾病病理过程中差异表达,这些差异表达的ncRNA能够靶向特异的核酸分子或蛋白质分子,导致转录抑制或mRNA的降解,从而影响疾病的进展。探索这些非编码序列在各种疾病发生过程中的作用具有十分重要的意义。

miRNA是一类短链的非编码RNA,能够调节基本的细胞生物学过程,如增殖、分化、代谢及死亡,其主要通过抑制其靶基因的表达影响许多疾病的病理生理过程,miRNA通过与靶mRNA的3'UTR区结合,抑制蛋白质翻译或诱导mRNA降解从而减少

或抑制靶基因的表达。据估计,近1000种人类miRNA能够靶向结合至少60%的mRNA并下调其表达过程^[15]。

lncRNA也是一类不编码蛋白质的RNA分子,其长度超过200 nt, lncRNA可通过多种机制,如染色质重塑、组蛋白修饰、DNA甲基化、转录调控、转录后调控及直接作用于mRNA表达等方式影响其靶基因的表达量及相应蛋白质的代谢过程^[16-19]。从早期的染色质结构改变到最终的蛋白质合成或水解过程, lncRNA可在不同水平影响基因的表达。lncRNA被认为在增殖、分化、凋亡、衰老等生理性及代谢失衡、神经、心血管疾病、肿瘤等病理过程中扮演着重要的角色^[20-25]。

2 细胞信号转导与基因表达调控的偶联

20世纪80年代初, Rodbell在*Nature*上发表题为“激素受体与GTP-调节蛋白在膜转运中的作用”的文章,首次用到“signal transduction”一词来介绍他们有关GTP结合蛋白的工作,该词一直沿用至今^[26]。细胞信号转导与基因表达调控的偶联是当前分子生物学的热点研究领域。有学者在遗传信息传递中心法则的基础上提出了环境信息传递中心法则的观点:体内外环境刺激——细胞信号转导——调节基因表达与生理生化反应——表型改变^[27]。那么信号转导异常是如何引起基因表达改变而产生相应表型的,表观遗传或许能够很好地解释这一过程。表观遗传是研究不涉及DNA序列改变的基因表达和调控过程,或者说是研究从基因演绎为表型的过程和机制的一门新兴学科,属于遗传学分支,近年来被广泛应用于许多疾病的研究中。RNA干扰作为表观遗传修饰重要方式之一,对基因表达调控具有深远的影响^[28]。细胞信号转导的最重要效应之一是基因表达谱的改变,而miRNA及lncRNA等能够通过转录和转录后水平调控基因表达,参与到疾病的发生过程中,因此,ncRNA可能在调控化学性肾损伤相关信号转导通路中扮演了重要的角色。

3 ncRNA在外源化学物介导的中毒性肾病中的差异表达

目前,随着各种生物信息学技术、二代测序技术的不断发展,不少研究开始关注药物、重金属、化学毒物作用于人体、动物、细胞模型之后相应靶器官ncRNA的差异表达,本文通过对药物、重金属、

化学毒物致中毒性肾病相关信号通路及基因表达调控等关键词进行检索,总结了一部分外源化学物介导的中毒性肾病中 ncRNA 的差异表达谱(表 1)。

4 ncRNA参与调控中毒性肾病相关信号转导通路

外源化学物引起的多种病理过程,如炎症反应、上皮间质化、重金属及化学毒物的直接作用引起的肾小管细胞凋亡或坏死能够对正常肾脏造成一系列不良影响,引起肾功能的逐渐下降,导致中毒性肾病的发生、发展。各种异常的信号通路可相互作用,产生这些病理过程。ncRNA 作为表观遗传的重要调控方式之一,在参与调控中毒性肾病的信号通路中

扮演着十分重要的角色。

4.1 转化生长因子(transforming growth factor, TGF)/Smad信号通路

TGF- β 是一种典型的促进肥厚和纤维化的细胞因子,广泛分布于不同的组织和器官,并在许多细胞学过程中扮演着重要的角色。TGF- β 受体自身具有蛋白丝氨酸激酶催化结构域,当 TGF- β 与受体结合时,受体得以活化并催化转录因子 Smad 发生丝氨酸磷酸化,磷酸化的 Smad 分子形成同源寡聚体或异源寡聚体进入细胞核,调节相应基因的转录,影响细胞的分化。早期的研究显示多种药物及重金属、化学毒物等均可引起 TGF- β 升高,动物实验及人体临床试

表1 外源化学物致中毒性肾病中ncRNA的差异表达谱

外源化学物	miRNA/LncRNA	反应(上调/下调)	信号转导通路	生物学功能	参考文献
嘌呤霉素	miR-30	上调	钙/钙调神经磷酸酶信号通路	抑制上皮间质化	[29]
糖尿病肾病	miR-34c	上调	Notch信号通路	抑制足细胞凋亡	[30]
氙气	miR-21	上调	AKT信号通路	抗炎、抗凋亡	[31]
索拉菲尼	miR-30a	上调	自噬依赖通路	诱导凋亡、自噬	[32]
促红细胞生成素	miR-21、miR-214、 miR-210、miR-199a	下调	Wnt/ β -catenin信号通路	抑制凋亡	[33]
肾毒性药物	miR-29、miR-21、 miR-150、miR-185	上调/下调	TGF- β 信号通路	抗纤维化/促纤维化	[34-37]
染料木黄酮	miR-1260b	下调	Wnt信号通路	促进肾癌细胞凋亡、 抑制细胞增殖	[38]
多巴胺受体SNPs	miR-217	下调	Wnt信号通路	促进炎症反应	[39]
脂氧素类	let-7c	上调	TGF- β 信号通路	抑制炎症反应	[40]
低剂量紫杉醇	miR-192	下调	TGF- β 信号通路	抑制纤维化	[41]
庆大霉素	miR-21	上调	TGF- β 信号通路	促进炎症反应	[42]
马兜铃	miR-192	上调	TGF- β 信号通路	促进纤维化	[43]
赭曲霉毒素A	miR-129、miR-130a、 miR-130b、miR-141、 miR-218b	上调	MAPK信号通路	促进纤维化	[44]
庆大霉素	miR-21	下调	NF- κ B信号通路	促进氧化损伤、炎症反应	[45]
	miR-30a	上调	Wnt信号通路	促进上皮间质化	[46]
	miR-30c	上调	Notch信号通路	抑制足细胞凋亡	[30]
	miR-185	上调	ATR信号通路	抑制细胞增殖、诱导凋亡	[47]
糖尿病肾病	LncRNA PVT1	上调	TGF- β 信号通路	促进上皮间质化	[9]
	LncRNA MALAT1	上调	Unclear	促进炎症反应	[48]
	LncRNA Arid2-IR	上调	NF- κ B信号通路	促进炎症反应	[49]
	LncRNA INXS	上调	INXS—BCL-X信号轴	诱导凋亡	[50]
非甾体抗炎药	LncRNA np_5318、 np_17856	上调	TGF- β 信号通路	抑制炎症反应、纤维化	[51]
放线菌酮、 过氧化氢、 镉、砷	LncRNA: MIR22HG、 GABPB1-AS1、IDI2- AS1、LINC00152	上调	MAPK信号通路	促进炎症反应	[52]
甲氨蝶呤	LncRNA-p21	上调	NF- κ B通路	抑制凋亡	[53]

验也显示了 TGF- β 在肾纤维化中的重要作用^[54]。

钙调神经蛋白抑制剂 (calcineurin inhibitor, CNI), 如环孢素 A 与他克莫司等药物, 在肾移植后抗免疫排斥治疗中具有重要的应用价值, CNI 引起的慢性肾毒性是限制其广泛使用的一个重要因素。Serenio 等^[55]发现短期环孢素 A (cyclosporin A, CsA) 处理能够通过引起 TGF- β 1、NF- κ B 和 p53 mRNA 表达的升高而引起肾损伤的发生。Zhong 等^[56]发现 TGF- β 信号通路激活可以引起 Smad3 磷酸化并结合到 miR-21 启动子 Smad 结合位点 (Smad binding sites, SBSs) 上, 上调 miR-21 表达进而引起近曲小管上皮细胞的间质化转变。此外, 也有研究报道细胞因子 TGF- β 1 可以通过 TGF/Smad 信号通路影响 miR-192 的表达从而导致肾纤维化, miR-192 发挥作用的靶点为锌指 E 盒结合同源框蛋白 (zinc finger E box junction box, ZEB) ZEB1 和 ZEB2^[57]。人和小鼠 lncRNA np_5318/np_17856 启动子区域具有相同的 Smad3 结合位点, Smad3 能特异性地与该 SBS 结合, 促进肾脏炎症反应和纤维化的发生。Zhou 等^[51]通过构建 Smad3 基因敲除的单侧输尿管阻塞性肾病模型及免疫介导的抗肾小球基底膜肾炎小鼠模型, 在两种模型肾组织中分别有 151、413 种 lncRNA 的表达水平与野生型小鼠相比存在显著差异, 而 Smad3 敲除的这两种肾病模型中炎症反应和纤维化得到显著改善。在有关糖尿病肾病的研究中, Alvarez 和 Distefano^[9]发现, 在高糖条件下培养的肾小球系膜细胞中, PVT1 的表达水平升高了近 5 倍。进一步的研究发现, PVT1 升高引起 TGF- β 水平升高, 促进 ECM 的蓄积, 引起肾间质纤维化, 促进糖尿病肾病的发展, 表明部分 lncRNA 在 TGF- β 介导的肾纤维化中担任了重要的角色。

4.2 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)介导的Ras-丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路

MAPK 信号转导通路含有一系列丝 / 苏氨酸蛋白激酶, 可通过级联放大系统进入细胞, 从而产生不同的效应。MAPK 的核心成分由 3 个激酶组成, 在未受刺激的细胞内, MAPK 处于静止状态。细胞受到生长因子或其他因素刺激后, MAPK 接收 MKK 和 MKKK 的活化信号而被激活, 表现为逐级磷酸化^[58]。上游的刺激及下游的底物在细胞内组合成复杂的信号转导系统, 调控基因的转录及细胞的生命活动。

肾毒性是赭曲霉素 A (ochratoxin A, OTA) 主要

毒效应之一, Dai 等^[59]发现 MAPK 通路在 OTA 诱导的肾毒性过程中具有重要的调控作用。Kumar 等^[44]通过构建不同剂量下 OTA 肾损伤大鼠模型, 应用高通量测序方法分析肾脏中 miRNA 表达水平的改变, 结果显示 417 种 miRNA 表达水平发生改变, 通过生物信息学方法预测其靶基因, 并通过 QT-PCR 对预测靶基因进行验证, miR-129、miR-130a、miR-130b、miR-141、miR-218b 及 miR-3588 在高剂量组显著上调, 与其预测的靶 mRNA 表达水平呈现明显的负相关。通过京都基因与基因百科全书《Kyoto gene and genome encyclopedia, KEGG》、基因网络 (gene ontology, GO) 富集分析发现, 这些可能受 miRNA 调控的差异表达基因主要集中在 MAPK 信号通路上, 因此, 笔者推测其中部分 miRNA 参与了 OTA 通过 MAPK 信号通路诱导的肾毒性。

砷、镉造成肾脏的慢性中毒性损伤已有确凿的证据, 其损伤机制可能与氧化应激相关, 但尚未完全阐明^[52]。Tani 等^[60]通过放线菌酮、过氧化氢、镉、或砷等处理人类诱导多能干细胞 (human-induced pluripotent stem cells, hiPSCs), 通过 qRT-PCR 检测到 4 种模型中的 lncRNAs, 如 MIR22 宿主基因 (MIR22 host gene, MIR22HG)、GABPB1 反义 RNA1 (GABPB1 antisense RNA 1, GABPB1-AS1)、长校正非蛋白编码 RNA152 (long intergenic non-protein coding RNA 152, LINC00152) 及 IDI2 反义 RNA1 (IDI2 antisense RNA1, IDI2-AS1) 表达上调。因此, 笔者推测这些 lncRNA 能够作为 hiPSCs 化学物应激的生物标志物。MAPK 信号通路是连接外源性化学物与机体氧化应激的中心环节, 因此, 推测上述 lncRNA 的表达异常可能与 MAPK 通路的活化相关, 进一步探讨两者在肾损伤时的关联变化, 将有助于解释砷、镉致肾损伤的机制。

4.3 肿瘤坏死因子受体介导核转录因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B)信号通路

NF- κ B 信号通路是慢性炎症和自噬性疾病中至关重要的信号通路, 肾脏高糖及高渗或氧化应激状态下, NF- κ B 抑制蛋白 (inhibitor of NF- κ B, I κ B) 泛素化及去泛素化修饰失去平衡, 使其从 NF- κ B 脱落, NF- κ B 得以活化^[61]。活化的 NF- κ B 转位进入细胞核, 作用于 NF- κ B 增强子元件, 引发其下游靶点炎症相关介质如 TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 等的表达, 反过来诱导炎症反应的持续和增强, 从而引发过量胶原纤维的产生及细胞外基质的蓄积, 导致肾脏纤维化的发生^[62]。

庆大霉素对革兰阴性菌具有良好的抑菌效果,被广泛应用于临床,其能够引起人体一系列副作用,肾脏毒性尤其突出,关于庆大霉素肾毒性机制目前有多种学说。Manikandan等^[45]通过Western blot和RT-PCR检测庆大霉素诱导的肾脏损伤模型相关蛋白的改变,发现NF- κ B表达水平显著增加,说明庆大霉素可以通过NF- κ B通路介导的氧化损伤和炎症反应而导致肾损伤。miR-21是一种具有抗凋亡效应的microRNA, Jia等^[63]在研究间歇接触氙气预防庆大霉素肾毒性的过程中发现,使用氙气预处理Wistar大鼠能够增加miR-21的表达从而拮抗庆大霉素诱导的肾毒性。而Bera等^[64]在肾癌细胞中阻断miR-21的功能后发现,NF- κ B亚型p65磷酸化受到抑制,从而减弱NF- κ B转录活性,细胞周期蛋白D1(cyclin D1, CD1)的表达下降,导致肾癌细胞增殖速度减慢。因此,推测阻断miR-21可以通过NF- κ B通路抑制cyclin D1的表达从而抑制肾癌细胞增殖。

抗癌药甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)作为一种免疫抑制剂,是目前用于治疗类风湿性关节炎的首选药物。MTX能够增加肾脏中炎症和凋亡标志物促炎细胞因子、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、NF- κ B和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3的水平,引起多器官毒性,肾毒性尤其突出^[65]。Spurlock等^[53]发现使用低剂量MTX治疗的患者表达高水平的lncRNA-p21和p65低磷酸化,在培养的原代细胞和转化细胞中,MTX通过DNA依赖性蛋白激酶催化亚单位诱导lncRNA-p21表达而减少NF- κ B的基础水平,从而减少炎症反应的发生。因此,推测lncRNA-p21可能通过NF- κ B通路参与调控中毒性肾病发生中炎症和凋亡相关过程。Arid2-IR(AT-rich interactive domain-containing protein 2, ARID2)是许多肿瘤的抑制基因。Arid2-IR过表达通过促进白介素1诱导的NF- κ B信号通路导致肾脏纤维化的发生^[49,66],阻断Arid2-IR可能成为肾脏疾病纤维化的潜在治疗靶点。

4.4 Wnt (wingless-type MMTV integration site family members)信号通路

Wnt信号通路是一类高度保守的信号通路,Wnt信号分子通过 β -catenin-Axin信号轴上调细胞周期素D2的表达,定向调节细胞分化,促进细胞增殖。许多研究已经表明,激活Wnt/ β -catenin信号通路能够引起纤维化的发生^[66]。

Peng等^[46]在研究肾小球足细胞上皮间质化

(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生过程中发现,足细胞损伤的动物模型和患者miR-30a表达下调能引起间质细胞标志物,如I型胶原、纤维连接蛋白等的增加。而足细胞miR-30a过表达能够增加上皮标志物,如E-钙黏素的表达和减少间质细胞标志物,如I型胶原、纤维连接蛋白等的表达。进一步的研究发现,miR-30a的作用靶点为Wnt信号通路中的转录因子胞浆活化T细胞核因子3(nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 3, NFATc3)。促红细胞生成素通过激活Wnt信号通路减轻由缺血再灌注诱导的肾损伤,Chen等^[33]研究发现,使用促红细胞生成素处理的大鼠,Wnt7b及 β -catenin表达升高,同时miR-21、-214、-210和-199a表达下调,促进肾小管上皮细胞增生,抑制肾小管上皮细胞凋亡,起到对损伤肾脏的保护作用,提示ncRNA可以通过参与Wnt信号通路调控而影响肾毒物质诱导的肾脏损伤过程。

4.5 JAK酪氨酸蛋白激酶-信号转导和转录激活因子(Janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT)信号通路

干扰素、白细胞介素2、白细胞介素3等细胞因子的受体通过与之相结合的蛋白酪氨酸激酶JAK和下游的转录因子STAT,即JAK-STAT通路转导信号。细胞因子能够使JAK活化,活化的JAK使STAT发生磷酸化,磷酸化的STAT进入细胞核,作为转录因子影响相关基因的表达^[67]。JAK-STAT信号通路在细胞因子TGF- β 、细胞外间质蛋白、胶原纤维的产生中具有重要作用,其能够导致肾小球系膜增生和纤维化以及肾小管间质纤维化的发生,并导致肾功能降低,可能在外源化学物致肾毒性的过程中发挥重要作用^[68]。

有证据显示,JAK/STAT信号转导通路可以在中毒性肾病中被激活并参与肾纤维化的病理生理过程。抑制JAK/STAT信号通路,尤其是JAK2、STAT3,可抑制肾脏纤维化,保护肾功能^[69]。某些ncRNA能够作用于STAT,从而对基因转录过程进行调控。如Shukla等^[70]研究发现,miR-133可能在JAK/STAT信号通路转导异常的过程中发挥了重要的功能。

4.6 Notch信号通路

Notch基因编码一类高度保守的细胞表面受体,相邻细胞可以通过Notch受体与配体的结合传递Notch信号,构成Notch信号通路,影响细胞正常形态发生的多个过程,对细胞增殖、分化、凋亡起

调控作用,对细胞的命运决定起关键作用。Du等^[71]在研究正常和低氧条件培养的HK-2细胞中miRNA的表达谱时发现,低氧通过Notch信号通路促使miRNA-34a表达下调,促进肾小管上皮细胞EMT过程的发生。Liu等^[30]发现,在高糖条件下培养的足细胞中,miR-34c表达升高,通过靶向Notch信号通路抑制高糖诱导的足细胞凋亡。

4.7 其他信号通路

Wu等^[72]发现在肾细胞中,miR-30d能作为磷脂酰肌醇3-激酶/Akt(phosphoinositide 3-kinase/Akt, PI3K/Akt)信号通路的下游效应分子,抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡,提示其为一种肿瘤抑制基因。Geng等^[73]在研究横纹肌溶解致中毒性肾病时的基因差异表达谱及信号通路时发现,横纹肌溶解诱导的急性肾损伤小鼠差异表达的基因主要集中于PI3K/Akt、MAPK和NF- κ B信号通路上,即ncRNA可通过PI3K/Akt信号通路参与中毒性肾病的发生过程。

共济失调性毛细血管扩张症与Rad3相关蛋白(ataxia telangiectasia and Rad3 related, ATR)信号通路是细胞周期调控的重要信号通路。Wang等^[47]发现,miR-185能够在转录后水平调节ATR激酶的表达,通过抑制ATR信号通路,增加肾癌细胞对于放射线及药物的敏感性并抑制肾癌细胞增殖。生物信息学分析表明,共济失调毛细血管扩张突变蛋白(ataxia telangiectasia mutated protein, ATM)和ATR是miR-185发挥作用的靶点。

lncRNA发挥作用的方式十分复杂,近年来许多研究以lncRNA-作用靶分子调节轴的方式表示lncRNA发挥作用的信号通路,如心肌梗死相关/核转录因子2(myocardial infarction associated transcript/nuclear transcription factor 2, MIAT/Nrf2)信号通路是近年来发现的参与糖尿病肾病发生发展过程的信号通路。Zhou等^[48]发现,MIAT能够稳定Nrf2水平,在高糖条件下培养的肾细胞中MIAT下调,肾细胞活性降低,MIAT通过MIAT/Nrf2信号轴介导高糖诱导的肾损伤。

此外,近年来发现的许多其他以ncRNA及其相关的靶分子信号轴命名的信号通路也参与了中毒性肾病的发生发展,如Wu等^[29]发现钙调神经磷酸酶抑制剂FK506通过钙/钙调神经磷酸酶信号通路引起miR-30家族表达上调,同时,NFATc3蛋白的表达显著降低,NFATc3为该信号通路的重要组成成分,能够引起显著的足细胞损伤,同时,也是miR-30的作用靶点,因此可以推测,miR-30通过抑制钙

/钙调神经磷酸酶信号通路激活对足细胞损伤起到保护作用。在有关肾细胞癌的研究中发现,使用染料木黄酮处理肾癌细胞后,miR-30d表达上调,通过Akt/FOXO/miR-30d/MTDH信号通路,抑制肾癌细胞增殖,并诱导凋亡从而起到治疗作用^[72,74]。

5 ncRNA作为生物标志物及治疗靶点的价值

综上所述,ncRNA作为信号通路的关键调控因子,能够调控炎症反应、细胞凋亡/坏死、上皮间质化等相关信号通路而影响中毒性肾病,说明ncRNA参与了中毒性肾病发生发展过程^[75]。当前,人和哺乳动物相关ncRNA的研究正处于发展的关键阶段,虽然其具体机制尚未完全明确,但ncRNAs在疾病诊断、治疗方面表现出的巨大潜能,使得许多研究开始探索ncRNA在各种疾病方面的转化研究。

实际上,ncRNA作为多种疾病的早期诊断生物标志或治疗的新靶点已取得了巨大的进展。例如,研究证实,病变组织中的非编码RNA能分泌进入血液和尿液中并保持稳定的表达水平^[76],并且可以作为疾病早期诊断的生物标志物^[77]。这使得在临床上通过对患者生物样本中ncRNA的表达分析来预测及早期诊断中毒性肾病的发生提供了可能,但同时也面临许多挑战,如血或尿液中ncRNA“正常浓度”范围还有待确定,用于批量检测的样本制备及RNA提取,以及在多个样品中检测RNA浓度的方法有待进一步的改进,以便对整个过程进行规范化控制。

另一方面,miRNA在治疗疾病方面的潜能是相当巨大的。SPC3649是第一个进入临床试验的以miRNA-122为靶点的药物^[78-79]。此后,美国食品和药物管理局批准进行miRNA-34治疗肝癌的临床试验。MRX34是一种以脂质体为基础的miRNA-34 mimic,也是第一个被用于肝癌治疗的miRNA^[80]。这些药物目前仍处于临床试验阶段,与所有临床治疗方法一样,必须充分考虑其有效性及安全性,但miRNA已经显示了其在疾病治疗方面的巨大潜能。因此,以ncRNA用作治疗靶点的研究可能可以为中毒性肾病的治疗和预后提供新的临床方案。

6 讨论

不同的信号通路通过不同的机制参与中毒性肾病的发生和发展。然而,这些信号通路从来不是单独存在的,常通过相互作用影响中毒性肾病的进展。未来的研究应该对中毒性肾病相关信号通路给予更

多的关注。对相关 ncRNA、相关蛋白质、相互作用以及这些信号通路之间的 crosstalk 的研究将有助于更深入地理解中毒性肾病的作用机制。理解不同的 ncRNA 在哺乳动物疾病及发育调控中的具体作用, 破解不同 ncRNA 在疾病中的相互调控机制, 需要将 ncRNA 的研究数据同基因组和蛋白质组数据有机整合, 而信号通路为整合这些数据提供了桥梁作用。为了更好地理解 ncRNA 在中毒性肾病中的作用机制, 需要更加深入地研究 ncRNA 与中毒性肾病相关信号通路之间的相互调控过程, 但既往的研究还存在许多亟需解决的问题: (1) 中毒性肾病发生、进展过程中表达差异的 ncRNA 的作用靶点确定; (2) 不同 ncRNA 在中毒性肾病发生过程中发挥作用的权重及相应 ncRNA 在肾组织中的表达丰度; (3) 中毒性肾病发生发展中不同信号通路之间的“交互作用”对 ncRNA 的影响需要明确。因此, 有关外源化学物作用过程中非编码 RNA 表达水平的改变, 激活或抑制的信号通路及其在中毒性肾病形成、发展中的分子作用机制等方面, 仍然需要更多的基础和临床研究来阐明。

[参 考 文 献]

- [1] 薛长江, 王涤新, 赵金垣. 中毒性肾病的病因和临床特点. 中国工业医学杂志, 2011, 24: 116-20
- [2] Niaz K, Bahadar H, Maqbool F, et al. A review of environmental and occupational exposure to xylene and its health concerns. EXCLI J, 2015, 14: 1167-86
- [3] Gu L, Li H, Chen L, et al. MicroRNAs as prognostic molecular signatures in renal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. Oncotarget, 2015, 6: 32545-60
- [4] Padua Alves C, Fonseca AS, Muys BR, et al. The lincRNA Hotair is required for epithelial-to-mesenchymal transition and stemness maintenance of cancer cell lines. Stem Cells, 2013, 31: 2827-32
- [5] Matouk IJ, Raveh E, Abu-lail R, et al. Oncofetal H19 RNA promotes tumor metastasis. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843: 1414-26
- [6] Tan J, Qiu K, Li M, et al. Double-negative feedback loop between long non-coding RNA TUG1 and miR-145 promotes epithelial to mesenchymal transition and radioresistance in human bladder cancer cells. FEBS Lett, 2015, 589: 3175-81
- [7] Bracken CP, Khew-Goodall Y, Goodall GJ. Network-based approaches to understand the roles of miR-200 and other microRNAs in cancer. Cancer Res, 2015, 75: 2594-9
- [8] Lin CL, Lee PH, Hsu YC, et al. MicroRNA-29a promotion of nephrin acetylation ameliorates hyperglycemia-induced podocyte dysfunction. J Am Soc Nephrol, 2014, 25: 1698-709
- [9] Alvarez ML, Distefano JK. The role of non-coding RNAs in diabetic nephropathy: potential applications as biomarkers for disease development and progression. Diabetes Res Clin Pract, 2013, 99: 1-11
- [10] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. Cell, 2009, 136: 629-41
- [11] Shi X, Sun M, Liu H, et al. Long non-coding RNAs: a new frontier in the study of human diseases. Cancer Lett, 2013, 339: 159-66
- [12] Laressergues D, Couzigou JM, Clemente HS, et al. Primary transcripts of microRNAs encode regulatory peptides. Nature, 2015, 520: 90-3
- [13] Anderson DM, Anderson KM, Chang CL, et al. A micropeptide encoded by a putative long noncoding RNA regulates muscle performance. Cell, 2015, 160: 595-606
- [14] Nelson BR, Makarewich CA, Anderson DM, et al. A peptide encoded by a transcript annotated as long noncoding RNA enhances SERCA activity in muscle. Science, 2016, 351: 271-5
- [15] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. Cell, 2009, 136: 215-33
- [16] Ulitsky I, Bartel DP. lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms. Cell, 2013, 154: 26-46
- [17] Yang L, Lin C, Jin C, et al. lncRNA-dependent mechanisms of androgen-receptor-regulated gene activation programs. Nature, 2013, 500: 598-602
- [18] Yoon JH, Abdelmohsen K, Gorospe M. Posttranscriptional gene regulation by long noncoding RNA. J Mol Biol, 2013, 425: 3723-30
- [19] Kim J, Kim KM, Noh JH, et al. Long noncoding RNAs in diseases of aging. Biochim Biophys Acta, 2016, 1859: 209-21
- [20] Qureshi IA, Mehler MF. Non-coding RNA networks underlying cognitive disorders across the lifespan. Trends Mol Med, 2011, 17: 337-46
- [21] Gutschner T, Diederichs S. The hallmarks of cancer: a long non-coding RNA point of view. RNA Biol, 2012, 9: 703-19
- [22] Huarte M, Rinn JL. Large non-coding RNAs: missing links in cancer? Hum Mol Genet, 2010, 19: R152-61
- [23] Greco S, Gorospe M, Martelli F. Noncoding RNA in age-related cardiovascular diseases. J Mol Cell Cardiol, 2015, 83: 142-55
- [24] Qureshi IA, Mattick JS, Mehler MF. Long non-coding RNAs in nervous system function and disease. Brain Res, 2010, 1338: 20-35
- [25] Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. Nat Rev Genet, 2011, 12: 861-74
- [26] Rodbell M. The role of hormone receptors and GTP-regulatory proteins in membrane transduction. Nature, 1980, 284: 17-22
- [27] 孙大业, 崔素娟, 孙颖. 细胞信号转导基础篇 [M]. 4版. 北京: 科学出版社, 2010: 9-10
- [28] Kato M, Natarajan R. Diabetic nephropathy--emerging epigenetic mechanisms. Nat Rev Nephrol, 2014, 10: 517-30
- [29] Wu J, Zheng C, Wang X, et al. MicroRNA-30 family

- members regulate calcium/calcineurin signaling in podocytes. *J Clin Invest*, 2015, 125: 4091-106
- [30] Liu XD, Zhang LY, Zhu TC, et al. Overexpression of miR-34c inhibits high glucose-induced apoptosis in podocytes by targeting Notch signaling pathways. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 4525-34
- [31] Jia P, Teng J, Zou J, et al. Xenon protects against septic acute kidney injury via miR-21 target signaling pathway. *Crit Care Med*, 2015, 43: e250-9
- [32] Zheng B, Zhu H, Gu D, et al. MiRNA-30a-mediated autophagy inhibition sensitizes renal cell carcinoma cells to sorafenib. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 459: 234-9
- [33] Chen X, Wang CC, Song SM, et al. The administration of erythropoietin attenuates kidney injury induced by ischemia/reperfusion with increased activation of Wnt/ β -catenin signaling. *J Formos Med Assoc*, 2015, 114: 430-7
- [34] Chung AC, Huang XR, Meng X, et al. miR-192 mediates TGF- β /Smad3-driven renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21: 1317-25
- [35] Zarjou A, Yang S, Abraham E, et al. Identification of a microRNA signature in renal fibrosis: role of miR-21. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2011, 301: F793-801
- [36] Deshpande SD, Putta S, Wang M, et al. Transforming growth factor- β -induced cross talk between p53 and a microRNA in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Diabetes*, 2013, 62: 3151-62
- [37] Li R, Chung AC, Dong Y, et al. The microRNA miR-433 promotes renal fibrosis by amplifying the TGF- β /Smad3-Azin1 pathway. *Kidney Int*, 2013, 84: 1129-44
- [38] Hirata H, Ueno K, Nakajima K, et al. Genistein downregulates onco-miR-1260b and inhibits Wnt-signalling in renal cancer cells. *Br J Cancer*, 2013, 108: 2070-8
- [39] Han F, Konkalmatt P, Chen J, et al. MiR-217 mediates the protective effects of the dopamine D2 receptor on fibrosis in human renal proximal tubule cells. *Hypertension*, 2015, 65: 1118-25
- [40] Brennan EP, Nolan KA, Borgeson E, et al. Lipoxins attenuate renal fibrosis by inducing *let-7c* and suppressing TGF β R1. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24: 627-37
- [41] Sun L, Zhang D, Liu F, et al. Low-dose paclitaxel ameliorates fibrosis in the remnant kidney model by down-regulating miR-192. *J Pathol*, 2011, 225: 364-77
- [42] Saikumar J, Hoffmann D, Kim TM, et al. Expression, circulation, and excretion profile of microRNA-21, -155, and -18a following acute kidney injury. *Toxicol Sci*, 2012, 129: 256-67
- [43] Jenkins RH, Davies LC, Taylor PR, et al. miR-192 induces G₂/M growth arrest in aristolochic acid nephropathy. *Am J Pathol*, 2014, 184: 996-1009
- [44] Kumar R, Alam S, Chaudhari BP, et al. Ochratoxin A-induced cell proliferation and tumor promotion in mouse skin by activating the expression of cyclin-D1 and cyclooxygenase-2 through nuclear factor- κ B and activator protein-1. *Carcinogenesis*, 2013, 34: 647-57
- [45] Manikandan R, Beulaja M, Thiagarajan R, et al. Ameliorative effects of curcumin against renal injuries mediated by inducible nitric oxide synthase and nuclear factor κ B during gentamicin-induced toxicity in Wistar rats. *Eur J Pharmacol*, 2011, 670: 578-85
- [46] Peng R, Zhou L, Zhou Y, et al. MiR-30a inhibits the epithelial-mesenchymal transition of podocytes through downregulation of NFATc3. *Int J Mol Sci*, 2015, 16: 24032-47
- [47] Wang J, He J, Su F, et al. Repression of ATR pathway by miR-185 enhances radiation-induced apoptosis and proliferation inhibition. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e699
- [48] Puthanveetil P, Chen S, Feng B, et al. Long non-coding RNA MALAT1 regulates hyperglycaemia induced inflammatory process in the endothelial cells. *J Cell Mol Med*, 2015, 19: 1418-25
- [49] Zhou Q, Huang XR, Yu J, et al. Long noncoding RNA arid2-IR is a novel therapeutic target for renal inflammation. *Mol Ther*, 2015, 23: 1034-43
- [50] DeOcesano-Pereira C, Amaral MS, Parreira KS, et al. Long non-coding RNA INXS is a critical mediator of BCL-XS induced apoptosis. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: 8343-55
- [51] Zhou Q, Chung AC, Huang XR, et al. Identification of novel long noncoding RNAs associated with TGF- β /Smad3-mediated renal inflammation and fibrosis by RNA sequencing. *Am J Pathol*, 2014, 184: 409-17
- [52] Nordberg GF, Jin T, Wu X, et al. Prevalence of kidney dysfunction in humans - relationship to cadmium dose, metallothionein, immunological and metabolic factors. *Biochimie*, 2009, 91: 1282-5
- [53] Spurlock CF 3rd, Tossberg JT, Matlock BK, et al. Methotrexate inhibits NF- κ B activity via long intergenic (non-coding) RNA-p21 induction. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66: 2947-57
- [54] Lan HY. Transforming growth factor- β /Smad signalling in diabetic nephropathy. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2012, 39: 731-8
- [55] Sereno J, Rodrigues-Santos P, Vala H, et al. Transition from cyclosporine-induced renal dysfunction to nephrotoxicity in an *in vivo* rat model. *Int J Mol Sci*, 2014, 15: 8979-97
- [56] Zhong X, Chung AC, Chen HY, et al. Smad3-mediated upregulation of miR-21 promotes renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22: 1668-81
- [57] Kato M, Zhang J, Wang M, et al. MicroRNA-192 in diabetic kidney glomeruli and its function in TGF- β -induced collagen expression via inhibition of E-box repressors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 3432-7
- [58] Chang L, Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature*, 2001, 410: 37-40
- [59] Dai Q, Zhao J, Qi X, et al. MicroRNA profiling of rats with ochratoxin A nephrotoxicity. *BMC Genomics*, 2014, 15: 333
- [60] Tani H, Onuma Y, Ito Y, et al. Long non-coding RNAs as surrogate indicators for chemical stress responses in human-induced pluripotent stem cells. *PLoS One*, 2014, 9: e106282
- [61] Yang Y, Xia F, Hermance N, et al. A cytosolic ATM/

- NEMO/RIP1 complex recruits TAK1 to mediate the NF- κ B and p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)/MAPK-activated protein 2 responses to DNA damage. *Mol Cell Biol*, 2011, 31: 2774-86
- [62] Jiang Q, Liu P, Wu X, et al. Berberine attenuates lipopolysaccharide-induced extracellular matrix accumulation and inflammation in rat mesangial cells: involvement of NF- κ B signaling pathway. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 331: 34-40
- [63] Jia P, Teng J, Zou J, et al. Intermittent exposure to xenon protects against gentamicin-induced nephrotoxicity. *PLoS One*, 2013, 8: e64329
- [64] Bera A, Ghosh-Choudhury N, Dey N, et al. NF κ B-mediated cyclin D1 expression by microRNA-21 influences renal cancer cell proliferation. *Cell Signal*, 2013, 25: 2575-86
- [65] Ibrahim MA, El-Sheikh AA, Khalaf HM, et al. Protective effect of peroxisome proliferator activator receptor (PPAR)- α and - γ ligands against methotrexate-induced nephrotoxicity. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2014, 36: 130-7
- [66] Lin CL, Wang JY, Ko JY, et al. Dickkopf-1 promotes hyperglycemia-induced accumulation of mesangial matrix and renal dysfunction. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21: 124-35
- [67] Marrero MB, Banes-Berceli AK, Stern DM, et al. Role of the JAK/STAT signaling pathway in diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006, 290: F762-8
- [68] Wang X, Shaw S, Amiri F, et al. Inhibition of the Jak/STAT signaling pathway prevents the high glucose-induced increase in TGF- β and fibronectin synthesis in mesangial cells. *Diabetes*, 2002, 51: 3505-9
- [69] Matsui F, Meldrum KK. The role of the Janus kinase family/signal transducer and activator of transcription signaling pathway in fibrotic renal disease. *J Surg Res*, 2012, 178: 339-45
- [70] Shukla P, Vogl C, Wallner B, et al. High-throughput mRNA and miRNA profiling of epithelial-mesenchymal transition in MDCK cells. *BMC Genomics*, 2015, 16: 944
- [71] Du R, Sun W, Xia L, et al. Hypoxia-induced down-regulation of microRNA-34a promotes EMT by targeting the Notch signaling pathway in tubular epithelial cells. *PLoS One*, 2012, 7: e30771
- [72] Wu C, Jin B, Chen L, et al. MiR-30d induces apoptosis and is regulated by the Akt/FOXO pathway in renal cell carcinoma. *Cell Signal*, 2013, 25: 1212-21
- [73] Geng X, Wang Y, Hong Q, et al. Differences in gene expression profiles and signaling pathways in rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 14087-98
- [74] Zhou D, Tan RJ, Fu H, et al. Wnt/ β -catenin signaling in kidney injury and repair: a double-edged sword. *Lab Invest*, 2016, 96: 156-67
- [75] Aparicio-Soto M, Sanchez-Hidalgo M, Cardeno A, et al. Dietary extra virgin olive oil attenuates kidney injury in pristane-induced SLE model via activation of HO-1/Nrf-2 antioxidant pathway and suppression of JAK/STAT, NF- κ B and MAPK activation. *J Nutr Biochem*, 2016, 27: 278-88
- [76] Gilad S, Meiri E, Yogev Y, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One*, 2008, 3: e3148
- [77] Velu VK, Ramesh R, Srinivasan AR. Circulating microRNAs as biomarkers in health and disease. *J Clin Diagn Res*, 2012, 6: 1791-5
- [78] van Rooij E, Olson EN. MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. *J Clin Invest*, 2007, 117: 2369-76
- [79] Lindow M, Kauppinen S. Discovering the first microRNA-targeted drug. *J Cell Biol*, 2012, 199: 407-12
- [80] Ling H, Fabbri M, Calin GA. MicroRNAs and other non-coding RNAs as targets for anticancer drug development. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12: 847-65