

参附注射液对慢性充血性心力衰竭大鼠心肌 miRNA 表达谱的影响^Δ

施 洋^{1,2,3*}, 樊官伟^{2,3#}(1.克拉玛依市人民医院药剂科, 新疆 克拉玛依 834000; 2.天津市现代中药重点实验室/省部共建国家重点实验室培育基地/天津中医药大学中医药研究院, 天津 300193; 3.天津中医药大学方剂学教育部重点实验室, 天津 300193)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)22-3048-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.22.07

摘要 目的:研究参附注射液(SFI)对慢性充血性心力衰竭(简称心衰)大鼠心肌微小RNA(miRNA)表达谱的影响,以明确SFI抗心衰的作用靶点。方法:将40只大鼠按随机数字表法分成假手术组(生理盐水,ip)、模型组(生理盐水,ip)、缬沙坦组(阳性对照,10 mg/kg,ig)和SFI组(0.75 mL/kg,im),每组10只,除假手术外的其余各组大鼠均复制心衰模型。造模成功后,各组小鼠每天给予相应药物1次,连续给药28 d后采用Affymetrix miRNA V4.0芯片技术对心衰大鼠心肌组织中miRNA表达进行分析,并筛选各组大鼠心肌组织中共同差异表达miRNA,以差异基因表达倍数大于或等于1.1为阈值分析心衰相关miRNA;利用基因本体论(GO)分析对差异表达基因进行功能分类及生物信号通路分析。结果:共筛选出29条共同差异表达miRNA,7条心衰相关miRNA(rno-miR-30c-1-3p、rno-miR-125b-5p、rno-miR-133a-5p、rno-miR-199a-5p、rno-miR-221-3p、rno-miR-146a-5p和rno-miR-1-3p),SFI能显著下调心衰大鼠心肌组织中rno-miR-125b-5p、rno-miR-133a-5p、rno-miR-221-3p、rno-miR-1-3p表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。GO分析结果显示,差异表达miRNA主要与信号通路转导、细胞质及核苷酸结合有关。结论:SFI参与下调心衰进展相关miRNA,进而经细胞质与核苷酸结合后影响相关信号通路的转导,从而发挥其抗心衰作用。

关键词 参附注射液;慢性充血性心力衰竭;微小RNA;差异筛选;基因本体论分析

Effect of Shenfu Injection on the Expression Profile of Myocardial miRNA in Rats with Chronic Congestive Heart Failure

SHI Yang^{1,2,3}, FAN Guanwei^{2,3}(1.Dept. of Pharmacy, Karamay Municipal Peoples' Hospital, Xinjiang Karamay 834000, China; 2.Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine/Breeding Base, State Key Laboratory/Research Institute of TCM for Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 3.Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medical Formulae, Tianjin University of TCM, Ministry of Education, Tianjin 300193, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the effect of Shenfu injection (SFI) on the expression profile of myocardial miRNA in rats with chronic congestive heart failure (referring to heart failure). **METHODS:** 40 rats were randomly divided into sham operation group (normal saline, ip), model group (normal saline, ip), valsartan group (positive control, 10 mg/kg, ig) and SFI group (0.75 mL/kg, im), 10 in each group. Except for sham operation group, another groups were reduced heart failure. After modeling, rats in other groups received related medicines, once a day. Affymetrix miRNA V4.0 chip technology was conducted to analyze the miRNA expression in myocardial tissue of rats with heart failure after administration for 28 d, and screen the miRNA on common differential expression in myocardial tissue of rats in each group. The miRNA associated with heart failure was analyzed by threshold of differential gene expression multiple value greater than or equal to 1.1. Gene Ontology (GO) analysis was used to analyze functional classification and biological signaling pathway of differentially expressed genes. **RESULTS:** There were totally 29 miRNAs on common differential expression and 7 miRNAs associated with heart failure (rno-miR-30c-1-3p, rno-miR-125b-5p, rno-miR-133a-5p, rno-miR-199a-5p, rno-miR-221-3p, rno-miR-146a-5p and rno-miR-1-3p). SFI can significantly downregulate the expressions of rno-miR-125b-5p, rno-miR-133a-5p, rno-miR-221-3p, rno-miR-1-3p in myocardial tissue of rats ($P<0.05$ or $P<0.01$). Results of GO analysis showed, miRNAs on differential expression were mainly related to signal transduction, cytoplasm and nucleotide binding. **CONCLUSIONS:** SFI plays the role of anti-heart failure by participating in the downregulation of miRNAs

^Δ 基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)课题(No.2012CB518404);教育部“创新团队发展计划”课题(No.IRT1276)

* 药师,硕士。研究方向:临床药理学、心血管药理学。电话:0990-6865417。E-mail:shiyangjctcm@126.com

通信作者:副研究员,硕士生导师,博士。研究方向:心血管药理学。电话:022-59596163。E-mail:fgw1005@hotmail.com

associated with heart failure process and then affecting related signal pathways transduction after the combination of cytoplasm and nucleotide.

KEYWORDS Shenfu injection; Chronic congestive heart failure; miRNA; Differential screening; Gene ontology analysis

慢性充血性心力衰竭(简称心衰),是由心脏结构或功能异常导致的心室充盈或射血能力受损所致的一组复杂的临床综合征,已成为严重危害人类健康的顽疾之一,具有发病率高、病情危重、病死率高、预后不良等特点,其5年生存率与恶性肿瘤相仿^[1]。据流行病学调查显示,我国现有约1 000万左右心衰患者,发病率为2%~3%,住院30 d的病死率为5.4%^[2-3]。降低心衰患者病死率,延长心衰患者寿命并提高其生活质量已成为当今医学界共同致力研究的焦点。

参附注射液(SFI)源自古方参附汤,由人参和附子两味中药组成,经提取有效成分后加工制成注射液^[4]。自上市后,其疗效受到了众多医药工作者及患者的好评,现临床主要用于抗心衰和抗休克^[5]。微小RNA(microRNA,简称miRNA),是在真核细胞生物中存在的一类具有调控功能的高度保守的内源性非编码小RNA,由18~22个碱基组成,通过与其互补的mRNA选择性地结合,从而抑制蛋白的产生,广泛参与各种调节途径^[6]。近年,许多研究表明,发生心衰后miRNA的表达会发生显著变化,这提示miRNA在心衰过程中发挥着重要的调控作用^[7]。基于此,本研究旨在探究SFI对心衰大鼠心肌miRNA表达谱的影响,并利用基因本体论(GO)分析对差异表达基因进行功能分类和生物信号通路分析,以明确SFI抗心衰的作用靶点,进而为临床设计合理的治疗方案、延缓心衰患者病情进展提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

Scanner3000型扫描仪、Hybridization Oven640型杂交炉、Fluidics Station450型洗涤工作站(美国Affymetrix公司);UV1901型双光束紫外-可见分光光度计(上海奥析科学仪器有限公司);G2939A型2100质检仪(美国Agilent公司);2000型NanoDrop RNA浓度检测仪(美国Thermo公司);9700型定量聚合酶链式反应(Q-PCR)仪(美国ABI公司);LX-300型离心机(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司)。

1.2 药品与试剂

SFI(雅安三九药业有限公司,批号:141001010,规格:10 mL/支);缬沙坦胶囊(北京诺华制药有限公司,批号:X1711,规格:80 mg/粒);注射用青霉素钠(石家庄制药集团有限公司,批号:017140617,规格:0.96 g/瓶);FlashTag Biotin HSR RNA Labeling Kit(RNA标记试剂盒,美国Affymetrix公司);GeneChip® Hybridization, Wash, and Stain Kit(基因芯片杂交、洗涤、染色试剂盒,美国Affymetrix公司);mirVana™ RNA Isolation Kit AM1556(miRNA提取试剂盒,美国Thermo Fisher公司)。

1.3 动物

SPF级SD大鼠40只,♂,体质量(240±10)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[合格证号:SCXK(京)2012-0001]。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

将40只大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、缬沙坦组(阳性对照)及SFI组,每组10只。除假手术组大鼠行假手术外(只穿线不结扎),其余各组大鼠均采用冠状动脉左前降支结扎术造成大鼠心肌梗死。术后连续ip青霉素钠3 d抗感染,笼中饲养4周后检测左室射血分数,若小于或等于35%则判定心衰模型造模成功^[8-10]。造模成功后,缬沙坦组大鼠ig缬沙坦胶囊水溶液(10 mg/kg,根据临床用量换算而得),SFI组大鼠im SFI(0.75 mL/kg,根据临床用量换算而得),假手术组和模型组大鼠ip生理盐水(10 mL/kg),每天1次,连续28 d。

2.2 总RNA提取

给药结束后,处死大鼠,取梗死边缘区心肌组织200 mg,立即浸入液氮中迅速降温后置于-80℃超低温冰箱中保存,备用。按照mRNA提取试剂盒的相关操作说明进行操作,提取心肌组织中的总RNA。

2.3 Affymetrix miRNA V 4.0表达谱芯片试验

提取的心肌组织总RNA,采用分光光度计分别在波长为260、280 nm处测定其吸光度(A), A_{260}/A_{280} 比值在1.8~2.0之间为较纯RNA。通过2100质检仪对RNA进行检测,定义RNA分子完整数(RIN)≥7且28S/18S≥0.7为质量合格RNA。然后依次经过加尾、生物素标记、杂交、洗涤、染色和扫描等步骤完成表达谱芯片试验。此项工作由上海欧易生物医学科技有限公司完成。

2.4 差异表达miRNA分析

将假手术组、模型组、缬沙坦组、SFI组4个组按照实验目的进行两两配对,得到假手术组与模型组、模型组与缬沙坦组、模型组与SFI组3个配对组,分别对经表达谱试验筛选的差异miRNA进行列表比较,从而得到各配对组差异表达miRNA。再取上述3个配对组交集,得到各组共同差异表达miRNA,运用Q-PCR仪定量检测差异miRNA的表达水平。之后查阅文献并以差异基因表达倍数大于或等于1.1为阈值挑选出与心衰相关miRNA,以假手术组和模型组分别作为基准,对比给药前后心衰相关miRNA的相对表达水平,并进行统计学分析。所有试验均平行3次,以保证实验结果的可重复性和客观性。

2.5 基因功能GO分析

对表达谱芯片试验筛选得到的所有具有差异表达的基因进行GO分析,从而描述该基因的功能。该分析主要从3个方面进行描述,即生物途径、细胞组分和细胞分子功能。统计每个GO条目中所包括的差异基因数目并计算其富集的显著性。当富集度>0时,表明显著性GO上调;富集度<0时,表明显著性GO下调;若P值相同,那么GO富集度越大,则意味着该功能受试验的影响越大(富集度大小用转录域覆盖率表示,转录域覆盖率越大表明富集度越高)。

2.6 统计学方法

采用SPSS 17.0软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,若方差齐时组间比较采用LSD法,若方差不齐则采用Dunnnett's T3法。

$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 3个配对组的差异表达miRNA分析结果

将假手术组与模型组、模型组与缙沙坦组以及模型组与SFI组分别进行配对比较并筛选差异miRNA后,得到共同差异表达miRNA 29条。其中,假手术组、模型组和SFI组共同差异表达miRNA 38条;假手术组、模型组和缙沙坦组共同差异表达miRNA 47条;模型组、缙沙坦组和SFI组共同差异表达miRNA 36条,结果见图1。

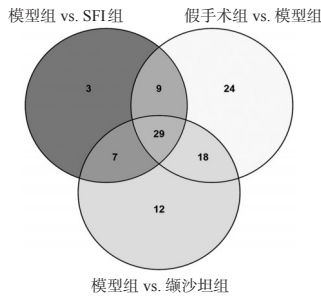


图1 3个配对组的差异表达miRNA交集图

Fig 1 Intersection diagram of miRNAs on differential expression in 3 matched groups

3.2 心衰相关miRNA表达差异分析结果

根据查阅的文献[7, 11-12]和miRNA的筛选结果,挑选出了7条与心衰相关的miRNA,即rno-miR-30c-1-3p、rno-miR-125b-5p、rno-miR-133a-5p、rno-miR-199a-5p、rno-miR-221-3p、rno-miR-146a-5p和rno-miR-1-3p。与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织中筛选出的7个心衰相关miRNA表达均上调,其中rno-miR-125b-5p、rno-miR-133a-5p、rno-miR-221-3p、rno-miR-146a-5p、rno-miR-1-3p差异有统计学意义($P < 0.01$)。给药28d后,与模型组比较,缙沙坦组和SFI组大鼠心肌组织中7个心衰相关miRNA表达均有不同程度的下调,其中rno-miR-125b-5p、rno-miR-133a-5p、rno-miR-221-3p和rno-miR-1-3p差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。该试验结果表明,SFI发挥抗心衰作用的机制与下调心衰相关miRNA的表达有密切联系。心衰相关7个miRNA表达差异结果见表1,统计分析结果见图2。

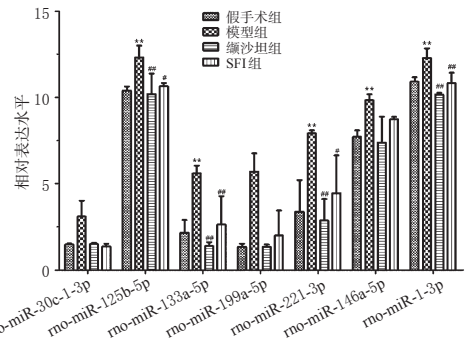
表1 心衰相关7个miRNA表达差异结果

Tab 1 Results of expression differences of 7 miRNAs associated with heart failure

miRNA名称	假手术组 vs. 模型组	模型组 vs. 缙沙坦组	模型组 vs. SFI组
rno-miR-30c-1-3p	+2.098	-2.063	-2.268
rno-miR-125b-5p	+1.185	-1.207	-1.156
rno-miR-133a-5p	+2.588	-4.034	-2.119
rno-miR-199a-5p	+4.231	-4.257	-2.851
rno-miR-221-3p	+2.343	-2.758	-1.775
rno-miR-146a-5p	+1.273	-1.330	-1.126
rno-miR-1-3p	+1.126	-1.208	-1.134

注:“+”表示上调,“-”表示下调,数字表示miRNA差异倍数

Note: “+” means upregulation, “-” means downregulation, the number means differential multiple of miRNA



注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group, ** $P < 0.01$; vs. model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

图2 心衰相关7个miRNA表达差异统计分析结果(n=3)

Fig 2 Statistical analysis results of expression differences of 7 miRNAs associated with heart failure (n=3)

3.3 差异基因GO分析结果

GO分析结果显示,在生物途径方面,信号转导相关的基因占7.5%,包括低氧诱导因子1(HIF-1)信号转导通路、环磷酸腺苷(cAMP)信号转导通路和腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK)信号转导通路;在细胞组成方面,细胞质相关的差异表达基因占38.8%,其余有细胞核、细胞膜、细胞质膜、细胞溶质、线粒体等;在分子功能方面,与结合有关的差异基因占71.4%,主要为核苷酸结合(20%)、蛋白结合(19.2%)、金属离子结合(17.4%)和三磷酸腺苷(ATP)结合(14.8%),结果见图3。

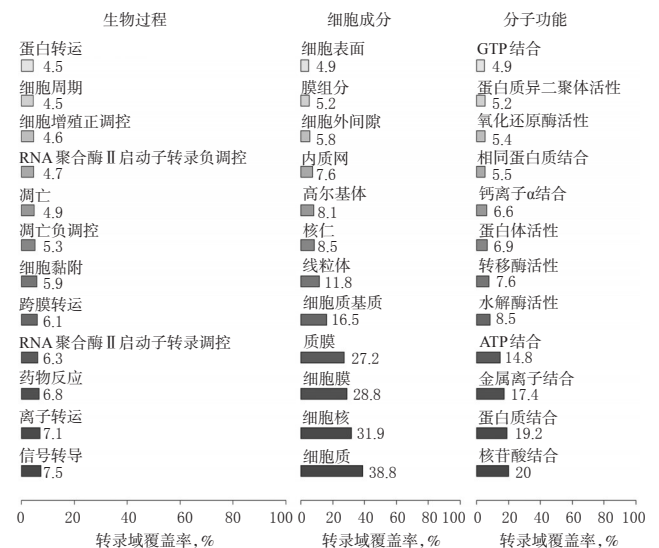


图3 差异基因GO分析结果

Fig 3 GO analysis results of differential genes

4 讨论

miRNA基因芯片检测原理与DNA、RNA芯片相近,即用标记物对总体RNA样本进行标记,然后与miRNA芯片杂交,通过扫描芯片上绿光信号的强度,计算出该样品中miRNA的表达量,从而了解该样品中miRNA

表达的异常情况。目前该技术在医药领域主要应用于疾病相关研究和药物研发中,是一种较快的研究 miRNA 表达的方法。缬沙坦是一种血管紧张素 II (Ang II) 受体拮抗药,其对 Ang II 的 I 型受体(AT1)有高度选择性,可通过阻断 Ang II 与 AT1 受体的结合,抑制血管收缩和醛固酮的释放,从而产生降压作用。长期应用缬沙坦,可抑制血管重塑、提高心功能、降低心血管事件的发生率^[13-15]。此外,该药不良反应少、安全性高、耐受性好,故常作为心肌梗死、心衰、糖尿病、高血压等患者的常规用药,故在本研究中以其为阳性对照药。

GO 是“Gene Ontology”的缩写,译为基因本体论,可分为分子功能、生物过程和细胞组成 3 个部分。通过对靶基因进行 GO 分析,可对该基因的功能进行描述。蛋白质或者基因可通过身份识别对应或序列注释的方法找到与之对应的 GO 号,而 GO 号可对应找到相应的类别,即功能分类或细胞定位。GO 分析目前已广泛应用于分子生物领域,其对靶基因的筛选和细胞信号通路的预测有着重要而深远的作用^[16]。

Li J 等^[17]研究发现,miR-30 家族在抑制细胞凋亡方面具有重大意义,其可抑制细胞抑癌基因 P53 的表达,阻止线粒体的分裂,从而保护心肌细胞。而 miR-30c 是 miR-30 家族的一员,其在心肌细胞中高表达。van Rooij E 等^[18]通过检测原发性心力衰竭患者心脏组织中 miRNA 表达的变化,发现在原发性心力衰竭过程心脏组织中 miRNA 表达失调,其中 miR-125、miR-199a 表达显著升高。miR-133a 在维持心脏细胞外基质平衡中占重要地位,当其表达异常时,会出现心脏结构畸形,并存在严重的心肌纤维化,最终导致心衰^[19-20]。有学者认为,miR-221 可通过调控 p27/CDK2/mTOR 通路介导的自噬抑制诱发心衰,是心肌细胞内自噬调控的关键因子^[21]。miR-146a 通过对靶基因 Smad4 进行调控,可减弱对 TGF-β/Smads 信号传导通路的抑制作用,而 TGF-β/Smads 信号通路心肌纤维化及心衰密切相关^[22]。miR-1 虽然能抑制心肌细胞发达,但却会负性调节心肌缺血损伤,促进细胞凋亡,在缺氧或过氧化氢及高糖环境下均可使 miR-1 表达水平升高^[23-25]。笔者通过对上述 7 种 miRNA 进行统计分析后发现,SFI 能不同程度地下调心衰大鼠心肌组织中 rno-miR-30c-1-3p、rno-miR-125b-5p、rno-miR-133a-5p、rno-miR-199a-5p、rno-miR-221-3p、rno-miR-146a-5p 及 rno-miR-1-3p 的表达水平,且对 rno-miR-125b-5p、rno-miR-133a-5p、rno-miR-221-3p 和 rno-miR-1-3p 的下调作用最为明显。

综上所述,大鼠心衰过程中,7 个心衰相关 miRNA 表达均明显上调;SFI 参与下调心衰进展相关的 miRNA,包括 rno-miR-30c-1-3p、rno-miR-125b-5p、rno-miR-133a-5p、rno-miR-199a-5p、rno-miR-221-3p、rno-miR-146a-5p 及 rno-miR-1-3p 等,进而经细胞质与核苷酸结合后影响某些信号通路(如 HIF-1 信号转导通路、cAMP 信

号转导通路和 AMPK 信号转导通路等)的转导,从而发挥其抗心衰的作用。

参考文献

- [1] Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines [J]. *Circulation*, 2013, 128(16): e240-e327.
- [2] 黄峻. 中国心力衰竭流行病学特点和防治策略[J]. *中华心脏与心律电子杂志*, 2015, 3(2): 81-82.
- [3] 顾东风, 黄广勇, 何江, 等. 中国心力衰竭流行病学调查及其患病率[J]. *中华心血管病杂志*, 2003, 31(1): 3-6.
- [4] 朱金墙, 梁钰彬, 华声瑜, 等. 参附注射液的成分及其对心血管系统的药理作用研究进展[J]. *中成药*, 2014, 36(4): 819-823.
- [5] 姜龙军, 吴建新, 赵容军, 等. 参附注射液联合丹参川芎嗪注射液治疗慢性肺源性心脏病心力衰竭的临床观察[J]. *中国药房*, 2015, 26(18): 2483-2485.
- [6] 王冲. microRNA 研究热点的分析[D]. 北京: 北京协和医学院, 2012.
- [7] 陈凌燕, 孙兰军, 徐强. microRNA 对心力衰竭调控作用的研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2014, 32(7): 1627-1630.
- [8] Maki T, Nasa Y, Tanonaka K, et al. Beneficial effects of sampatrilat, a novel vasopeptidase inhibitor on cardiac remodeling and function of rats with chronic heart failure following left coronary artery ligation[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 305(1): 97-105.
- [9] Gao E, Lei YH, Shang X, et al. A novel and efficient model of coronary artery ligation and myocardial infarction in the mouse[J]. *Circ Res*, 2010, 107(12): 1445-1453.
- [10] 中华医学会心血管病分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014[J]. *中华心血管病杂志*, 2014, 42(2): 3-10.
- [11] 肖乾凤, 谭茗月. 微 RNA 在心力衰竭中的作用[J]. *医学综述*, 2014, 20(7): 1193-1196.
- [12] 孙桂兰. 微小 RNA 与心室重构的研究进展[J]. *中外医学研究*, 2014, 12(18): 158-159.
- [13] 张利群. 缬沙坦对实验性心肌梗死大鼠心室重构的影响[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2005.
- [14] 王业松, 马虹, 胡苑, 等. 血管紧张素 II 经 AT-1 受体和 ERK1/2 上调心肌细胞 Cx43 间隙连接[J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(1): 58-62.
- [15] 张英杰. AT-1 受体拮抗剂缬沙坦对心肌缺血再灌注损伤保护作用的机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2006.
- [16] 邹璐, 方泓, 吴银根. 基于基因芯片技术的哮喘六味合剂治疗寒哮型支气管哮喘的靶点发现和机制研究[J]. *天津中医药*, 2017, 34(2): 89-93.
- [17] Li J, Donath S, Li Y, et al. miR-30 regulates mitochondrial fission through targeting p53 and the dynamin-related protein-1 pathway[J]. *PLoS Genet*, 2010, 6(1): e1000795.

渐尖毛蕨二氢黄酮苷对糖尿病肾病大鼠肾上皮-间质转化的影响^Δ

熊佳俊^{1*}, 陈镜楼^{2#}, 宋红萍²(1.湖北中医药大学药学院, 武汉 430065; 2.华中科技大学同济医学院附属普爱医院药学部, 武汉 430033)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)22-3052-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.22.08

摘要 目的:考察渐尖毛蕨二氢黄酮苷(CAF)对糖尿病肾病(DKD)大鼠肾上皮-间质转化(EMT)的影响。方法:将大鼠随机分为正常组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、阳性组[罗格列酮, 0.4 mg/(kg·d)]和CAF高、低剂量组[12.5、25 mg/(kg·d)], 每组10只。除正常组的其余大鼠均采用ip链脲霉素(60 mg/kg)+高脂饮食诱导DKD的发生, 并于实验第13~16周同时ig相应药物。实验结束后, 检测大鼠空腹血糖值和血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)含量, 观察肾组织胶原沉积及基底膜增厚情况, 免疫组化法检测肾组织中 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、纤维连接蛋白(fibronectin)和上皮细胞钙黏蛋白(E-cadherin)表达, Western blot法检测肾组织中糖原合成酶激酶3 β (GSK-3 β)、磷酸化GSK-3 β (p-GSK-3 β)和 β -链蛋白(β -catenin)的表达。结果:与正常组比较, 模型组大鼠空腹血糖值和Scr、BUN含量均显著升高($P < 0.01$); 肾组织有明显胶原沉积、基底膜增厚; 肾组织中 α -SMA、fibronectin、 β -catenin表达水平和GSK-3 β 磷酸化程度均显著升高($P < 0.01$), E-cadherin表达水平显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较, 各给药组大鼠空腹血糖值和Scr、BUN含量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 肾组织胶原沉积和基底膜增厚情况显著改善; 肾组织中 α -SMA、fibronectin、 β -catenin表达水平和GSK-3 β 磷酸化程度均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 阳性组和CAF高剂量组大鼠肾组织中E-cadherin表达水平显著升高($P < 0.01$)。结论:CAF能抑制DKD大鼠的肾EMT, 其作用的分子机制可能与下调肾组织中 β -catenin表达和抑制GSK-3 β 磷酸化失活有关。

关键词 渐尖毛蕨; 二氢黄酮苷; 糖尿病肾病; 上皮-间质转化; 上皮细胞钙黏蛋白; 糖原合成酶激酶3 β ; 大鼠

Effect of *Cyslosorus acuminatus* Flavonone Glycoside on Kidney Epithelial-mesenchymal Transition in Rats with Diabetic Kidney Disease

XIONG Jiajun¹, CHEN Jinglou², SONG Hongping²(1.College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2.Dept. of Pharmacy, Pu'ai Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430033, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effect of *Cyslosorus acuminatus* flavonone glycoside (CAF) on kidney epithelial-mesenchymal transition (EMT) in rats with diabetic kidney disease (DKD). METHODS: Rats were randomly divided into nor-

- [18] van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, *et al.* A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(48):18255-18260.
- [19] da Costa Martins PA, Bourajraj M, Gladka M, *et al.* Conditional dicer gene deletion in the postnatal myocardium provokes spontaneous cardiac remodeling[J]. *Circulation*, 2008, 118(15):1567-1576.
- [20] Han J, Lee Y, Yeom KH, *et al.* Molecular basis for the recognition of primary micro RNAs by the Drosha-DGCR8 complex[J]. *Cell*, 2006, 125(5):887-901.
- [21] 苏明. microRNA及自噬对心肌重构的调控作用[D]. 北京:北京协和医学院, 2014.
- [22] Zhong H, Wang HR, Yang S, *et al.* Targeting Smad4 links microRNA-146a to the TGF-beta pathway during retinoid acid induction in acute promyelocytic leukemia cell line [J]. *Int J Hematol*, 2010, 92(1):129-135.
- [23] Shan ZX, Lin QX, Deng CY, *et al.* Mir-1/mir-206 regulate hsp60 expression contributing to glucose-mediated apoptosis in cardiomyocytes[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(16):3592-3600.
- [24] Xu CQ, Lu YJ, Pan ZW, *et al.* The muscle-specific microRNAs mir-1 and mir-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting hsp60, hsp70 and caspase-9 in cardiomyocytes[J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt17):3045-3052.
- [25] Tang YH, Zheng JY, Sun Y, *et al.* MicroRNA-1 regulates cardiomyocyte apoptosis by targeting bcl-2[J]. *Int Heart J*, 2009, 50(3):377-387.

^Δ 基金项目:湖北省卫生计生科研基金(No.WJ2017M189); 武汉市科学技术计划项目(No.2015071704011629)

* 硕士研究生。研究方向:药物新剂型、生物药剂学。电话:027-68831991。E-mail:shanghuchuan@126.com

通信作者:主管药师, 博士。研究方向:泌尿生殖系统药理学研究。电话:027-68831991。E-mail:jinglouchen@126.com

(收稿日期:2016-12-01 修回日期:2017-05-12)
(编辑:林 静)