

# 大黄素调控 miR-21 介导细胞自噬减轻糖尿病肾病小鼠肾脏氧化性损伤机制研究

齐宝宁<sup>1,3</sup>,熊永爱<sup>2\*</sup>,潘艳芳<sup>1</sup>,徐守竹<sup>3\*</sup>,纪明睿<sup>3</sup>,王嘉欣<sup>3</sup>,王一<sup>3</sup>,邹佳盈<sup>3</sup>

<sup>1</sup>陕西中医药大学附属医院,西安 712046;<sup>2</sup> 遵义医科大学药学院,遵义 563000;<sup>3</sup> 陕西中医药大学公共卫生学院,西安 712046

**摘要:**探讨大黄素调控 miR-21 介导细胞自噬减轻糖尿病肾病小鼠肾脏氧化性损伤机制。采用高糖高脂饮食加链脲佐菌素腹腔注射诱导小鼠糖尿病肾病模型,将模型建立成功小鼠按体重随机分为模型组、格列美脲组(0.6 mg/kg/d, ig)、大黄素高剂量组(50 mg/kg/d, ig)、大黄素低剂量组(25 mg/kg/d, ig),另设正常组,每组 10 只。治疗一周后测定各实验组小鼠血糖、肾脏重量系数及病理形态;荧光探针法测定肾脏 ROS 含量,Elisa 法测定肾脏 BUN、Cr、uAE 含量;透射电镜观测肾脏细胞自噬程度,Western blot 测定 P62、Atg7 和 LC3 蛋白表达。结果显示,与模型组比较,大黄素给药组小鼠肾脏重量系数有显著减小( $P < 0.05$ ),肾脏病理性损伤明显减轻;肾脏 ROS 含量显著降低( $P < 0.05$ );BUN、Cr、uAE 含量显著降低( $P < 0.05$ );肾脏足细胞自噬程度显著增强,miR-21 基因表达显著下调( $P < 0.05$ );P62、Atg7 和 LC3 蛋白表达显著上调( $P < 0.05$ )。提示大黄素可通过下调 miR-21 促进 DN 小鼠肾脏细胞自噬减轻其肾脏氧化性损伤。

**关键词:**糖尿病肾病;大黄素;miR-21;自噬;氧化损伤

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)12-2012-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.12.004

## Study on the mechanism of emodin alleviating oxidative damage of mice diabetic nephropathy by regulating miR-21-mediated autophagy

QI Bao-ning<sup>1,3</sup>, XIONG Yong-ai<sup>2\*</sup>, PAN Yang-fang<sup>1</sup>,

XU Shou-zhu<sup>3\*</sup>, JI Ming-rui<sup>3</sup>, WANG Jia-xin<sup>3</sup>, WANG Yi<sup>3</sup>, ZOU Jia-ying<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Shaanxi University of Chinese Medicine Hospital, Xi'an 712046, China;

<sup>2</sup>School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China;

<sup>3</sup>Department of Public Health, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

**Abstract:** To investigate the mechanism of emodin alleviating oxidative damage in diabetic nephropathy mice via cell autophagy mediated by miR-21. Mice were fed with high-sugar and high-fat fodder and streptozotocin was injected intraperitoneally to induce diabetic nephropathy model. Mice of successful model were randomly divided into model group and glimepiride group (0.6 mg/kg/d, ig), emodin high-dose group (50 mg/kg/d, ig), emodin low-dose group (25 mg/kg/d, ig), each group of 10, normal group was also set. After one week of treatment, the blood glucose, kidney weight coefficient and pathological morphology of the mice in each group were measured; renal probe ROS content was measured by fluorescent probe method, and blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), and urinary albumin excretion rate were measured by Elisa method; the degree of autophagy of renal cells was observed by transmission electron microscopy, and the expressions of P62, Atg7 and LC3 proteins were determined by Western blot. Compared with the model group, the kidney weight coefficient of the emodin group was significantly reduced ( $P < 0.05$ ), and the renal pathological damage was significantly reduced too; The renal ROS content was significantly reduced ( $P < 0.05$ ), and he content of BUN, Cr, uAE were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). What's more, the degree of autophagy of renal podocytes was significantly enhanced, and miR-21 gene expression was significantly reduced

收稿日期:2020-03-30 接受日期:2020-10-28

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81703842);陕西省中医药管理局科研项目(2019-ZZ-ZC012);咸阳市 2019 年科技成果推广计划(2019KT-24);2019 年国家级大学生创新创业训练计划(201910716020)

\*通信作者 Tel:86-851-28642515;E-mail:xya180@sina.com, xsz@sntcm.edu.cn

( $P < 0.05$ ); P62, Atg7, and LC3 protein expressions were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Our study indicated that emodin could promote autophagy and reduce oxidative damage in kidneys of DN mice by down-regulating miR-21.

**Key words:** diabetic nephropathy; emodin; miR-21; autophagy; oxidative damage

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病最常见的严重继发性肾小球疾病,也是慢性肾衰竭的常见原因。血糖过高可引发肾脏氧化应激,导致活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 在肾脏固有细胞内蓄积,可造成足细胞、内皮细胞、肾小管上皮细胞和系膜细胞等的氧化损伤,加剧 DN 的发生发展<sup>[1]</sup>。自噬是真核细胞内维持细胞内环境稳定的重要内降解机制,作用在通过溶酶体蛋白的降解,清除受损的结构或过度表达的蛋白,参与维持细胞更新和细胞内稳态。DN 病理生理过程与内质网应激、线粒体功能障碍及炎症反应密切相关,细胞自噬清除错误的折叠蛋白和受损细胞器,促使自噬体形成和自噬-溶酶体的融合,缓解内质网应激和细胞凋亡。氧化应激状态下产生的 ROS 可诱导自噬发生,自噬可以清除自由基缓解氧化应激对肾组织和细胞的损伤,是细胞的重要促生存机制。有效诱导自噬,控制炎症过程是治疗 DN 的有效策略。

近年来研究表明,微 RNAs (microRNAs, miRNAs) 在 DN 患者中异常表达并参与系膜细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 聚集及足细胞损伤等 DN 的病理过程,尤其是 microRNA-21 (miR-21) 更是成为研究的热点。miR-21 普遍存在并调节细胞分化、增生、凋亡,国内外多项研究发现, DN 患者血清 miR-21 浓度显著高于正常人,且在 DN 患者肾组织活检中发现 miR-21 与肾小管间质纤维化呈正相关<sup>[2,3]</sup>。因此,沉默 miR-21 或抑制其表达对抑制糖尿病长期或短期并发症有重要意义。而 miR-21 被报道可通过调控 Akt/mTOR、PTEN 等信号通路调控细胞自噬<sup>[4]</sup>。但目前国内外文献中未见通过调控 miR-21 介导细胞自噬减轻糖尿病肾病肾脏氧化性损伤相关报道。

大黄素 (emodin, EM) 是蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. 和药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的有效活性成分,属于蒽醌类化合物,具有抑菌、抗炎、调节免疫、抗肿瘤、改善肾功能等药理作用<sup>[5,6]</sup>。前期研究发现<sup>[7]</sup>,大黄素可通过抑制高糖诱导的肾小球膜细胞增殖,促进系膜细胞凋亡来延缓 DN 的进展。预实验结果也显示,25 mmol/L 葡萄糖可以显

著促进肾小球系膜细胞 miR-21 的表达。本研究拟从调控 miR-21 介导细胞自噬探讨大黄素减轻糖尿病肾病小鼠肾脏氧化性损伤的作用机制。

## 1 材料与仪器

### 1.1 实验材料

SPF 级小鼠,体重 18 ~ 22 g,雌雄各半,购自空军军医大学实验动物中心。实验动物质量合格证号:SCXK(陕)2012-002。

大黄素 (emodin, CAS:518-82-1,成都格利普生物科技有限公司); anti-P62 (货号 ab227207,英国 abcam 公司); anti-Atg7 (货号 ab80639,英国 abcam 公司), anti-LC3 (货号 ab128025,英国 abcam 公司); 小鼠血尿素氮 (BUN) Elisa 试剂盒 (货号 YS06475B,上海雅吉生物科技有限公司); 肌酐 (Cr) Elisa 试剂盒 (货号 YS059871B,上海雅吉生物科技有限公司); 尿白蛋白排泄率 (uAE) Elisa 试剂盒 (货号 YS035742B,上海雅吉生物科技有限公司); 链脲佐菌素 (STZ) 购自 Sigma 公司。血糖试纸购自三诺生物传感股份有限公司。

### 1.2 实验仪器

JEM-F200 型透射电镜 (日本电子株式会社); BJ005266 型 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司); BG-ver-MIDI 型垂直式电泳仪 (北京百晶生物技术有限公司); Image Lab 型凝胶分析系统 (美国 BIO-RAD 公司); MK3 型多功能酶标仪 (美国 ThermoFisher 仪器有限公司); FPMIC-razoII 型病理切片机 (孚光精仪 (中国)有限公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 DN 模型建立

实验小鼠适应性饲养 3 天后,喂养高脂高糖饲料 (实验室自制。配方:猪油:蔗糖:蛋黄:基础饲料 = 18:20:3:59),连续 8 周,自实验第 1 天开始按 100 mg/kg 剂量腹腔注射 STZ 柠檬酸钠溶液,连续 7 天。实验第 8 天尾静脉检测小鼠血糖水平,以血糖大于 16.7 mmol/L 为糖尿病模型成模标准。DN 小鼠需具备以下条件:随机血糖大于 13.8 mmol/L,并伴有胰岛素抵抗;出现尿蛋白、肾功能异常及相应肾脏组织病理学特征,视为模型建立成功<sup>[5]</sup>。造模及各实验组给药时间节点见图 1。

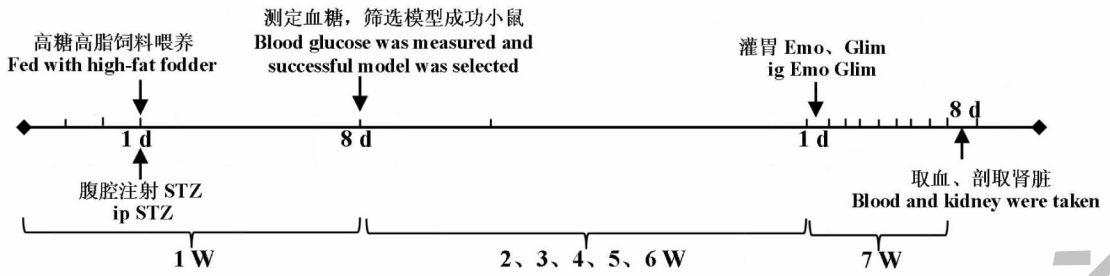


图1 造模及各实验组给药时间节点

Fig. 1 Model and administration time points of each group

## 2.2 分组与给药

选择模型建立成功的小鼠,按体重随机分为模型组(model)、格列美脲组(glim, 0.6 mg/kg/d, ig)、Emo高剂量组(50 mg/kg/d, ig)、Emo低剂量组(25 mg/kg/d, ig),每组10只。另取10只未建立模型小鼠作为正常组(normal)。自造模第7周开始灌胃(ig)给药,连续7天。实验第8天,尾静脉取血检测血糖(blood glucose, BG),取血后用2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉小鼠,颈椎离断处死后取肾脏,置冰台上去除被膜,滤纸吸干血迹后称质量。部分小鼠肾脏处理如下:取少量左肾上极皮质固定于预冷的2.5%戊二醛中,用于电镜检测;其余肾脏纵向切开,1/4置于10%中性福尔马林中固定,然后进行PAS染色,另外1/4肾脏进行冰冻切片。部分小鼠肾脏用于分离肾小球。

## 3 检测指标

### 3.1 肾脏重量系数检测

以左右两侧肾脏重量(mg)除以小鼠体重(g)来作为肾脏重量系数(mg/g)。

### 3.2 病理形态学检测

实验结束后,取各实验组小鼠肾脏组织,经10%中性福尔马林固定48 h,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片,HE染色,电子显微镜检测肾脏病理形态改变。

### 3.3 肾小球 ROS 含量检测

采用 ROS 荧光探针-二氢乙啶法(dihydroethidium, DHE)检测各实验组小鼠肾脏 ROS 含量。DHE可自由透过活细胞膜进入细胞内,并被细胞内 ROS 氧化形成氧化乙啶,氧化乙啶可掺入染色体 DNA 中,产生红色荧光。再利用流式细胞仪测定 ROS 阴性细胞和 ROS 阳性细胞的比值即可表征肾小球 ROS 含量。

### 3.4 肾脏生化指标检测

取各实验组小鼠肾脏组织,以生理盐水为匀浆

介质手动匀浆,3 000 rpm 离心 10 min,取上清匀浆液,ELISA 测定肾脏组织 BUN、Cr、uAE 含量。

### 3.5 电镜检测

取小鼠肾脏皮质组织,用3%的戊二醛固定3 h,再用1%的锇酸固定1 h,50%~90%的丙酮梯度脱水,Epon812包埋。取包埋块进行薄切片,甲苯胺蓝染色,光镜下半薄定位后进行超薄切片,醋酸铀和枸橼酸铅双染色,最后在透射电镜下观察各实验组肾脏足细胞自噬情况。

### 3.6 RT-qPCR 检测

TRIzol 法提取肾脏组织 RNA,使用逆转录试剂盒获得 cDNA,进一步使用 SYBR-Green 在 PIKO Red96 RT-PCR 扩增仪上进行 qPCR。以 U6 为内参,检测各实验组小鼠肾脏 miR-21 水平。所用引物如下:miR-21:5'-UACTAUUCCAAAGAAGTCACCAC-3';U6:5'-CGATGTTGACATCCGTAAGACC-3'。

### 3.7 Western blot 检测

取肾脏组织约 100 mg,样品加适量 RIPA buffer 细胞裂解液,细胞样品器反复吹打,组织样品使用超声波细胞破碎仪进行破碎,然后冰上孵育 30 min。12 000 rpm,4 °C 离心 20 min,转移上清至新管。使用 Lowry 法测定上清液中蛋白含量,根据蛋白含量制作样品。SDS-PAGE 凝胶电泳,然后将蛋白电转到硝酸纤维素膜上,用含 5% 脱脂奶粉的 TBS 中封闭,加入一抗,4 °C 封闭过夜;第 2 天用 TBS 洗膜 3 次,加入辣根过氧化物酶偶联的二抗室温下摇床上孵育 1 h;取出 PVDF 膜,用 TBST 洗 3 次,每次 5 min。应用全自动数码凝胶成像系统成像,使用 ScionImage 软件对蛋白电泳带进行灰度值分析,以  $\beta$ -actin 作为内参照蛋白进行校准,采用目标蛋白条带灰度值/ $\beta$ -actin 条带灰度值来表示 p62、Atg7、LC3 的相对蛋白表达水平。

### 3.8 统计学分析

用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间采用单因素方差分析,方差齐者组间

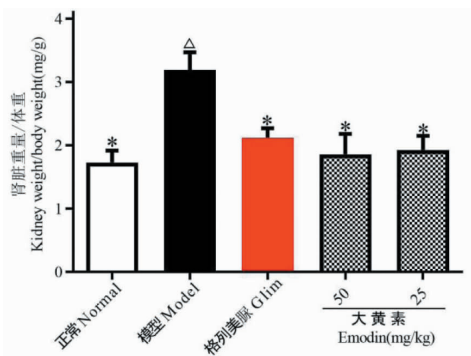


图2 大黄素对 DN 小鼠肾脏重量指数的影响

Fig. 2 Effects of emodin on kidney weight index in DN mice

注:与正常组比较,  $\Delta P < 0.05$ ;与模型组比较,  $* P < 0.05$ 。Note: Compared with normal,  $\Delta P < 0.05$ ; Compared with model,  $* P < 0.05$ 。

进行 LSD 检验,方差不齐者进行 Tamhane's T2 检验,以  $P < 0.05$  为统计学意义。

## 4 实验结果

### 4.1 对小鼠肾脏重量系数的影响

实验结果如图 2 所示。与正常组比较,模型组小鼠肾脏重量系数显著增大 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,大黄素给药组小鼠肾脏重量系数显著减小 ( $P < 0.05$ )。表明大黄素口服给药可明显减轻 DN 小鼠肾脏炎性水肿。同时 Glim 组小鼠肾脏重量系数较模型组比较也显著减小 ( $P < 0.05$ )。

### 4.2 对小鼠肾脏病理形态的影响

实验结果如图 3 所示。图 3A 所示,正常组小鼠毛细血管清晰,呈网状,系膜区未见增生。DN 小鼠炎症性水肿、纤维化明显,如图 3B 所示。大黄素高、低剂量组小鼠肾脏结构基本恢复正常,图 3D 和图 3E 所示。

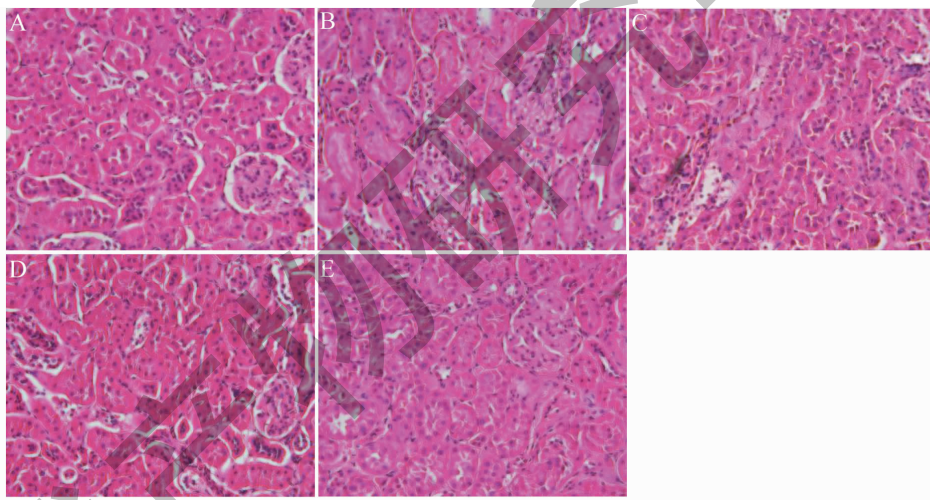


图3 各实验组小鼠肾脏病理形态(HE,  $\times 200$ )

Fig. 3 Pathological morphology of mouse kidney in each experimental group(HE,  $\times 200$ )

注:A: Normal; B: Model; C: Glim; D: Emo 50 mg/kg; E: Emo 25 mg/kg, 下同。

Note: A: Normal; B: Model; C: Glim; D: Emo 50 mg/kg; E: Emo 25 mg/kg, the same below.

### 4.3 各实验组小鼠肾脏 ROS 含量比较

实验结果如图 4 所示。与正常组比较,模型组小鼠肾脏 ROS 含量显著增大 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,大黄素给药组小鼠肾脏 ROS 含量显著减少 ( $P < 0.05$ )。表明大黄素口服给药可明显清除 DN 小鼠肾脏 ROS。Glim 组小鼠肾脏 ROS 与模型组比较无显著变化。

### 4.4 对 DN 小鼠血糖 (BG) 和肾脏 BUN、Cr、uAE 含量的影响

实验结果如表 1 所示。与正常组比较,模型组

小鼠 BG、BUN、Cr 和 uAE 含量均显著增大 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,大黄素高、低剂量组小鼠 BG、BUN、Cr 和 uAE 含量均显著降低 ( $P < 0.05$ )。同时 Glim 组小鼠 BG、BUN、Cr 和 uAE 含量较模型组也均显著降低 ( $P < 0.05$ )。

### 4.5 各实验组小鼠肾脏足细胞自噬的透射电镜观测结果

实验结果如图 5 所示。从图 5A 可见,正常组小鼠肾脏足细胞可见较多自噬体及凋亡小体,表明正常情况下,肾脏足细胞自噬程度较高;DN 发生时,

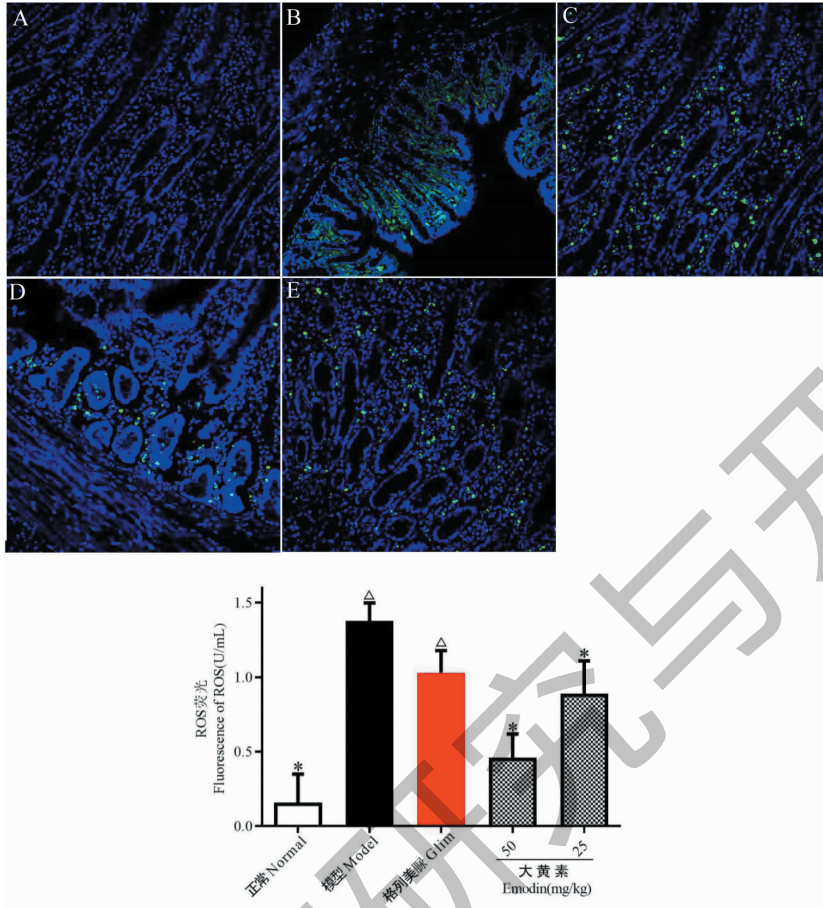


图4 各实验组小鼠肾脏 ROS 含量

Fig. 4 ROS content in kidney of mice in each experimental group

注:与正常组比较,  $\Delta P < 0.05$ ;与模型组比较,  $* P < 0.05$ 。Note: Compared with normal,  $\Delta P < 0.05$ ; Compared with model,  $* P < 0.05$ 。

表1 各实验组小鼠血糖和肾脏 BUN、Cr、uAE 含量 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Blood glucose and kidney BUN, Cr, uAE contents of mice in each experimental group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别 Group	BG (mmol/L)	BUN (mmol/L)	Cr ( $\mu$ mol/L)	uAE (mg/24 h)
正常 Normal	5.31 $\pm$ 0.98 **	4.13 $\pm$ 1.02 *	9.89 $\pm$ 1.66 *	6.79 $\pm$ 1.03 **
模型 Model	20.36 $\pm$ 2.65 $\Delta\Delta$	12.33 $\pm$ 2.65 $\Delta$	22.64 $\pm$ 3.67 $\Delta$	18.67 $\pm$ 2.34 $\Delta\Delta$
格列美脲 Glim	9.68 $\pm$ 2.55 *	5.16 $\pm$ 1.24 *	12.35 $\pm$ 2.01 *	8.96 $\pm$ 1.38 *
Emo 高剂量 Emodin-H	9.87 $\pm$ 1.67 *	5.98 $\pm$ 2.18 *	13.66 $\pm$ 2.66 *	8.67 $\pm$ 0.69 *
Emo 低剂量 Emodin-L	11.62 $\pm$ 3.24 *	7.84 $\pm$ 1.59 *	17.54 $\pm$ 1.85 * $\Delta$	10.36 $\pm$ 2.14 *

注:与正常组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.05$ ;与模型组比较,  $* P < 0.05$ ,  $** P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.05$ ; Compared with model,  $* P < 0.05$ ,  $** P < 0.01$ 。

足细胞自噬体和凋亡小体明显减少;而大黄素作用后,小鼠肾脏足细胞自噬体及凋亡小体明显增多,如图 5D、5E 所示,表明大黄素口服可显著促进 DN 小鼠肾脏足细胞自噬。Glim 组小鼠肾脏足细胞也能观测到少量自噬体,但和模型组比较无明显变化(见图 5C)。

#### 4.6 对 DN 小鼠肾脏 miR-21 表达的影响

实验结果如图 6 所示。与正常组比较,模型组小鼠肾脏 miR-21 表达显著增多( $P < 0.05$ );表明 miR-21 与 DN 的发生呈正相关。与模型组比较,大黄素给药组小鼠肾脏 miR-21 表达显著减少( $P < 0.05$ ),提示大黄素可下调 DN 小鼠肾脏 miR-21 的表达。

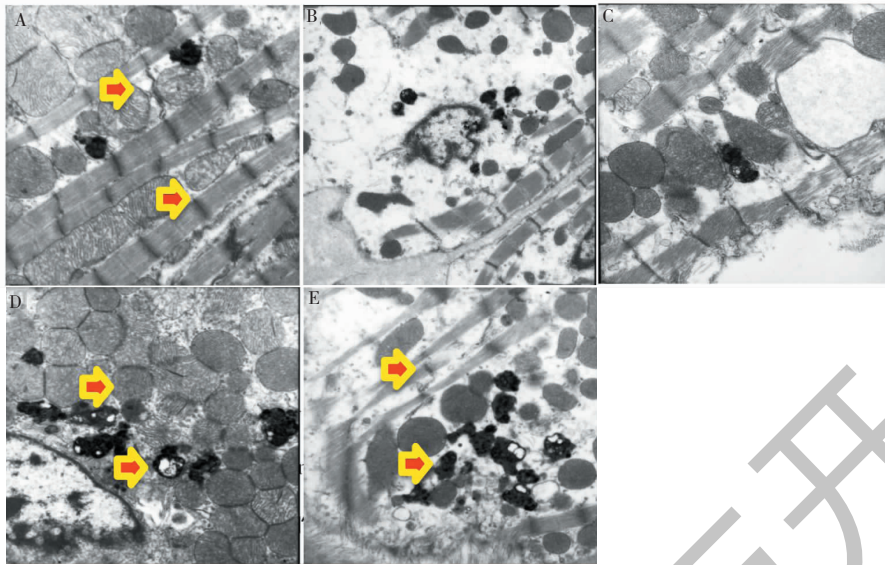


图5 各实验组小鼠肾脏足细胞自噬的电镜检测

Fig. 5 Electron microscope detection of autophagy of kidney podocytes of mice in each experimental group

#### 4.7 各实验组小鼠肾脏 p62、Atg7、LC3 蛋白表达

实验结果如图 7 所示。与正常组比较,模型组小鼠肾脏 p62、Atg7、LC3 蛋白表达显著减少( $P < 0.05$ );与模型组比较,大黄素给药组小鼠肾脏 p62、Atg7、LC3 蛋白表达显著上调( $P < 0.05$ )。

#### 5 讨论与结论

糖尿病肾病患者及动物模型肾组织中已被证实有氧化应激和凋亡发生,体外实验也发现高糖环境可诱导足细胞发生氧化应激、凋亡、炎症等事件。肾脏足细胞对于维持肾小球滤过屏障的完整性、调节肾小球的通透性具有重要作用。在此过程中,肾小球足细胞自噬与糖尿病肾病发病密切相关。一旦足

细胞自噬活性改变,过度激活或者被抑制,都会造成足细胞炎性损伤、滤过屏障受损<sup>[8,9]</sup>。本实验中我们也观察到 DN 小鼠肾脏足细胞自噬严重不足,同时 ROS 显著增多,ROS 是足细胞线粒体内的信号分子,是糖尿病及其并发症发生发展始动的环节<sup>[10]</sup>,减少 ROS 产生是一种潜在的预防 DN 进展的方法。小鼠灌胃给与大黄素以后,我们观察到肾脏 ROS 显著减少,自噬程度得到增强,进而一系列级联反应得到改善,如肾脏炎性病理损伤明显减轻、BUN、Cr 和 uAE 含量显著降低。因此,通过促进自噬清除高糖诱导的小鼠肾脏 ROS 可能是大黄素改善 DN 小鼠的重要机制。同时我们也看到,Glim 也可显著降低 DN 小鼠 BUN、Cr 和 uAE 水平。Glim 为磺酰脲类降糖药物,其作用机制是通过与胰腺  $\beta$ -细胞表面的磺酰脲受体结合而在体内均匀、缓慢释放。同时 Glim 可增强周围组织对胰岛素敏感性,同时具有改善胰岛素抵抗作用,周围组织对葡萄糖的利用增加,血糖下降明显。血糖达标后,糖基化终末产物生成减少,对肾脏的损害减轻。

miR-21 作为广谱基因,已被证实与 DN 发病成正相关。国内外已有文献表明,miR-21 可通过介导 TGF- $\beta$ /Smad、PTEN/Akt、MMP-S/TIMPS 等信号通路参与 DN 的发生发展<sup>[11]</sup>。自噬方面,也有文献报道 miR-21 可干预 Akt/mTOR 信号通路抑制肾脏足细胞自噬而加重 DN 的发病<sup>[12]</sup>。这些证据都表明,抑制 miR-21 进而调控其下游通路是改善 DN 的有效

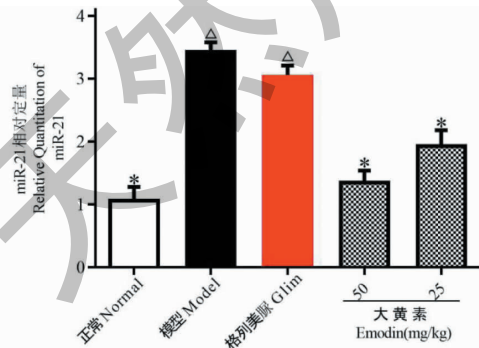


图6 各实验组小鼠肾脏 miR-21 表达

Fig. 6 MiR-21 expression in mouse kidney of each experimental group

注:与正常组比较,  $\Delta P < 0.05$ ;与模型组比较, \*  $P < 0.05$ 。Note: Compared with normal,  $\Delta P < 0.05$ ; Compared with model, \*  $P < 0.05$ 。

0.05。

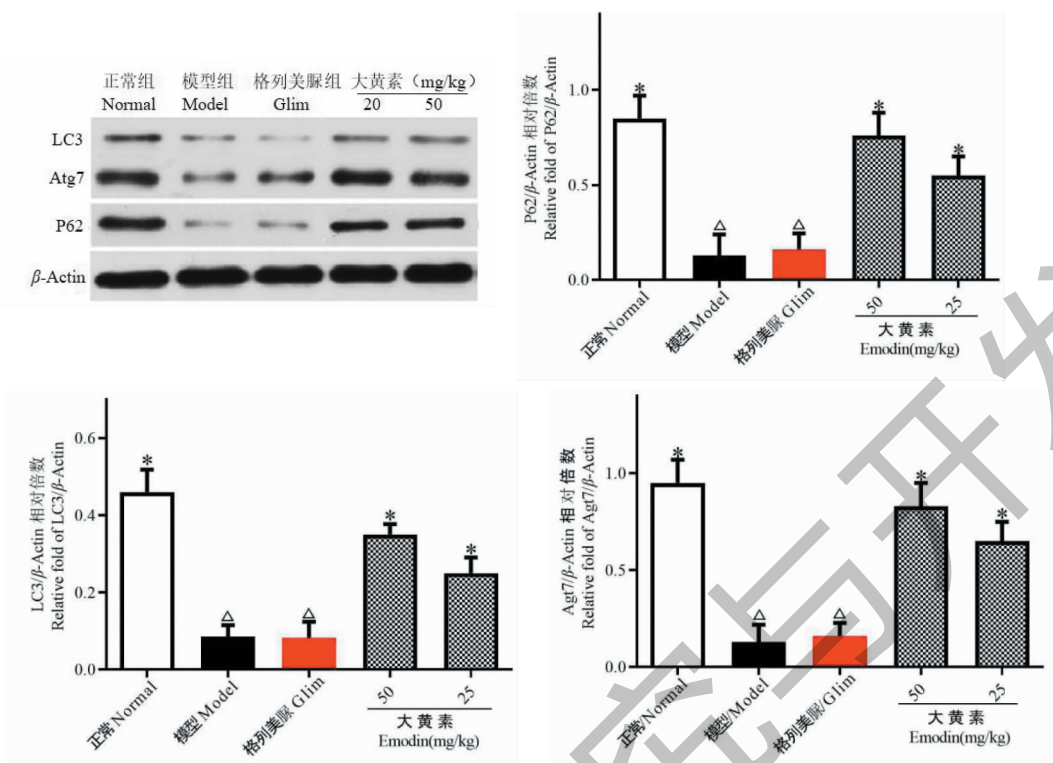


图7 各实验组小鼠肾脏 LC3、Atg7、p62 蛋白表达

Fig. 7 Expression of LC3, Atg7 and p62 proteins in the kidneys of mice in each experimental group

注:与正常组比较,  $\Delta P < 0.05$ ;与模型组比较,  $* P < 0.05$ 。Note: Compared with normal,  $\Delta P < 0.05$ ; Compared with model,  $* P < 0.05$ 。

策略。本研究也看到, DN 小鼠较正常组小鼠肾脏 miR-21 表达显著上调,这可能与 DN 小鼠肾脏自噬减弱有关系。在非 DN 疾病中,miR-21 也被证明通过负调控自噬参与到肺纤维化、巨噬细胞、缺氧卵圆细胞等生命活动中。大黄素给药后, DN 小鼠肾脏 miR-21 表达显著下调,而自噬抑制得到解除。但大黄素是否直接介导自噬还是通过调控 miR-21 介导细胞自噬需要借助靶基因预测分析进行确证,因为也有研究者报道大黄素可通过溶酶体途径、线粒体途径调控自噬,但是否与调控 miR-21 有关需要深入研究。

在自噬机制探索方面,我们检测了 P62、Atg7 和 LC3 三个经典的自噬标志性蛋白的表达,这三个蛋白是自噬溶酶体途径的关键成员,而自噬溶酶体途径在消除、降解受损细胞器、变性蛋白质等生物大分子具有重要作用,是细胞的重要修复机制<sup>[13]</sup>。故我们推测大黄素增强自噬恢复 DN 小鼠肾脏病理、生理功能可能与自噬溶酶体途径有关。结果表明,大黄素给药后 DN 小鼠肾脏 P62、Atg7 和 LC3 三种蛋白表达上调,提示大黄素可能作用于肾脏足细胞自噬溶酶体途径对 DN 小鼠肾脏产生保护作用。

#### 参考文献

- Runa L, Gavin H, Judy B, et al. Targeting mitochondria and reactive oxygen species-driven pathogenesis in diabetic nephropathy[J]. Rev Diabet Stud, 2015, 12: 134-156.
- Qin F, Zhang HL. Relationship and significance between blood miR-21 expression and renal interstitial injury in diabetic nephropathy[J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志), 2019, 35: 1743-1748.
- Ling M, Kaucusar T, Schauerte C, et al. Therapeutic miR-21 silencing ameliorates diabetic kidney disease in mice[J]. Mol Ther, 2017, 25: 165-180.
- Zhao WW, Tu XW. Research progress of MiR-21 and its signal pathway in diabetic nephropathy[J]. Chin J Nephrol Integr Tradit West Med(中国中西医结合肾病杂志), 2014, 15: 747-749.
- Yu XZ, Liu RX, Yin CH, et al. Research progress on the relationship between Emodin and apoptosis and autophagy[J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2019, 39: 381-384.
- Yuan XF, Xie JMZ, Tan XH, et al. Research progress of Rhubarb and its effective components in anti-tumor[J]. Chin J Surg Integr Tradit West Med(中国中西医结合外科杂志),

- 2018,24:363-366.
- 7 Pang X, Liu J, Li Y, et al. Emodin inhibits homocysteine-induced c-reactive protein generation in vascular smooth muscle cells by regulating PPAR-gamma expression and ROS-ERK1/2/p38 signal pathway [J]. PLoS One, 2015, 10: e0131295.
  - 8 Dong A, Tan XY, Zhang MZ, et al. Protective effect and mechanism of *Schisandra chinensis* extract on oxidative stress in diabetic nephropathy mice [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2019, 50:6038-6044.
  - 9 Lin TA, Wu VCC, Wang CY. Autophagy in chronic kidney diseases [J]. Cells, 2019, 8(1):61.
  - 10 Ding Y, Choi ME. Autophagy in diabetic nephropathy [J]. J Endocrinol, 2015, 224(1):R15-30.
  - 11 Yu S, Ni YQ. Autophagy, oxidative stress and kidney disease [J]. Prog Physiol Sci(生理科学进展), 2018, 49:275-279.
  - 12 Lai J Y, Luo Jh, OConnor C, et al. MicroRNA-21 in glomerular injury [J]. J Am Soc Nephrol, 2015, 26:805-816.
  - 13 Zhang S, Wu YP, Xin YF, et al. Progress in molecular singal pathways of autophagy [J]. Chem Life(生命的化学), 2018, 38:213-223.

## 《天然产物研究与开发》青年编委会

### 青年编委(以姓氏笔划为序)

#### Members

王红兵	戈惠明	尹文兵	尹 胜	吕兆林	刘相国
WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LV Zhaolin	LIU Xiangguo
孙昊鹏	孙桂波	李良成	李国友	邱 莉	汪海波
SUN Haopeng	SUN Guibo	LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo
沐万孟	张炳火	陈益华	林昌俊	欧阳杰	易华西
MU Wanmeng	ZHANG Binghuo	CHEN Yihua	LIN Changjun	OU Yangjie	YI Huaxi
罗应刚	周 文	胡友财	袁 涛	夏永刚	高慧敏
LUO Yinggang	ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang	GAO Huimin
唐金山	黄胜雄	韩秀珍	韩淑燕	曾克武	蓝蔚青
TANG Jinshan	HUANG Shengxiong	HAN Xiuzhen	HAN Shuyan	ZENG Kewu	LAN Weiqing
廖晨钟	薛永波				
LIAO Chenzhong	XUE Yongbo				