

• 论 著 •

糖尿病肾病患者血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 水平与病情进展的关系

吴多培¹, 杨佳玲², 陈文玉¹, 贾 莉^{1△}

陵水黎族自治县人民医院: 1. 血液透析科; 2. 肾内科, 海南陵水 572400

摘 要: **目的** 探讨糖尿病肾病患者血清长链非编码 RNA (lncRNA) 核丰富转录本 1 (NEAT1)、微小 RNA miR-23c 水平与糖尿病肾病 (DN) 病情进展的关系。 **方法** 将该院 2019 年 5 月至 2020 年 5 月收治的 136 例 DN 患者纳入研究作为 DN 组。另选取 58 例同期于该院进行体检的健康者作为对照组。采用实时荧光定量 PCR (qPCR) 检测两组受试者血清 lncRNA NEAT1、miR-23c、肾损伤分子-1 (KIM-1)、中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白 (NGAL)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) mRNA、白细胞介素-6 (IL-6) mRNA 水平。采用 Pearson/Spearman 相关分析 DN 患者血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 与 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平及 eGFR 的相关性。对 DN 患者进行 CKD 分期, 比较不同 CKD 分期患者血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 和 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平, 采用多元有序 Logistic 回归分析血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 水平是否为 DN 病情进展的影响因素。 **结果** 与对照组比较, DN 组血清 lncRNA NEAT1 和 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平升高, miR-23c、估算的肾小球滤过率 (eGFR) 降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。G1~G5 期 DN 患者血清 lncRNA NEAT1 和 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平均依次升高, miR-23c 水平依次降低 ($P < 0.05$)。DN 患者血清 lncRNA NEAT1 与 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平呈正相关 ($P < 0.05$), 与 miR-23c、eGFR 呈负相关 ($P < 0.05$); 血清 miR-23c 水平与 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平呈负相关 ($P < 0.05$), 与 eGFR 呈正相关 ($P < 0.05$)。lncRNA NEAT1 ($OR = 2.177, 95\%CI: 2.113 \sim 2.441$) 为 DN 病情进展的独立危险因素, miR-23c ($OR = 0.595, 95\%CI: 0.543 \sim 0.726$) 为独立保护因素 ($P < 0.05$)。 **结论** DN 患者血清 lncRNA NEAT1 水平的升高及 miR-23c 水平的降低均与 DN 病情进展密切相关。

关键词: 糖尿病肾病; 病情进展; 长链非编码 RNA; 核丰富转录本 1; 微小 RNA-23c

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.06.017

中图法分类号: R446.11; R587.2

文章编号: 1673-4130(2024)06-0727-06

文献标志码: A

The relationship between serum levels of lncRNA NEAT1 and miR-23c and disease progression in patients with diabetic nephropathy

WU Duopei¹, YANG Jialing², CHEN Wenyu¹, JIA Li^{1△}

1. Department of Hemodialysis; 2. Department of Nephrology, People's Hospital of Lingshui Li Autonomous County, Linshui, Hainan 572400, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between serum levels of long non-coding RNA (lncRNA) nuclear-enriched abundant transcript 1 (NEAT1) and microRNA miR-23c in patients with diabetic nephropathy (DN). **Methods** A total of 136 DN patients admitted to the hospital from May 2019 to May 2020 were enrolled in the study as the DN group. Fifty-eight healthy people who underwent physical examination in the hospital during the same period were enrolled as the control group. Real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR) was used to detect serum lncRNA NEAT1, miR-23c, kidney injury molecule-1 (KIM-1), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), tumor necrosis factor- α (TNF- α) mRNA and interleukin-6 (IL-6) mRNA in the two groups. Pearson/Spearman correlation was used to analyze the correlation of serum lncRNA NEAT1 and miR-23c with KIM-1, NGAL, TNF- α , IL-6 mRNA levels and eGFR in DN patients. DN patients were divided into different CKD stages, and the levels of serum lncRNA NEAT1, miR-23c, KIM-1, NGAL, TNF- α , and IL-6 mRNA in patients in different CKD stages were compared. Multivariate ordered Logistic regression was used to analyze whether serum levels of lncRNA NEAT1 and miR-23c were influencing factors for the progression of DN. **Results** Compared with the control group, the serum levels of lncRNA NEAT1, KIM-1, NGAL, TNF- α and IL-6 mRNA in the DN group were increased, while miR-23c and esti-

mated glomerular filtration rate (eGFR) were decreased, and the differences were all statistically significant ($P<0.05$). The serum levels of lncRNA NEAT1, KIM-1, NGAL, TNF- α and IL-6 mRNA in DN patients in G1–G5 stages were increased in order, and the level of miR-23c was decreased in order ($P<0.05$). Serum lncRNA NEAT1 in DN patients was positively correlated with KIM-1, NGAL, TNF- α and IL-6 mRNA levels ($P<0.05$), and negatively correlated with miR-23c and eGFR ($P<0.05$). The level of serum miR-23c was negatively correlated with the mRNA levels of KIM-1, NGAL, TNF- α and IL-6 ($P<0.05$), and positively correlated with eGFR ($P<0.05$). lncRNA NEAT1 ($OR=2.177, 95\%CI:2.113-2.441$) was an independent risk factor for DN progression, while miR-23c ($OR=0.595, 95\%CI:0.543-0.726$) was an independent protective factor ($P<0.05$). **Conclusion** Elevated serum lncRNA NEAT1 levels and reduced miR-23c levels in DN patients are closely associated with the progression of DN disease.

Key words: diabetic nephropathy; disease progression; long non-coding RNA; nuclear-rich transcript 1; microRNA-23c

糖尿病肾病(DN)是由糖尿病引起的慢性肾脏疾病(CKD),相较于未合并CKD的糖尿病患者,DN患者病死率明显增加^[1-2]。DN的发病和进展机制复杂,揭示DN发病的分子和进展机制对DN的早期诊断和治疗意义重大。非编码RNA是一类不能翻译为蛋白质的RNA,包括长链非编码RNA(lncRNA)、微小RNA(miRNA)等,能通过调节炎症、纤维化、细胞增殖、凋亡、焦亡、自噬等过程参与DN发生、发展^[3]。核丰富转录本1(NEAT1)是新发现的一种lncRNA,有研究报道下调lncRNA NEAT1能抑制DN细胞增殖、纤维化、炎症反应^[4]。另有研究报道,上调miR-23c能抑制DN炎症反应和细胞焦亡^[5]。本研究旨在分析血清lncRNA NEAT1、miR-23c水平与DN和病情进展的关系,以期探讨DN疾病进展的内在分子机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将本院2019年5月至2020年5月收治的136例DN患者纳入研究作为DN组,其中男73例、女63例,年龄(54.50 $\pm$ 7.77)岁,病程(5.83 $\pm$ 1.18)年。纳入标准:(1)DN的诊断符合《中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南》中DN的诊断标准^[6];(2)年龄 $\geq$ 18岁;(3)临床资料完整。排除标准:(1)近6个月接受过免疫抑制剂、激素治疗;(2)近3个月患急性感染或急性心、脑血管疾病;(3)合并甲状腺、甲状旁腺或肾上腺等其他内分泌器官的疾病;(4)合并免疫、血液系统疾病;(5)恶性肿瘤;(6)合并高血压肾损害、膜性肾病、肾病综合征或系膜增生性肾小球肾炎等其他肾脏疾病。另选取同期于本院体检的58例健康者作为对照组,其中男26例、女32例,年龄(53.45 $\pm$ 7.26)岁。两组性别构成、年龄比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。纳入研究者及其直系亲属均对本研究知情同意并签署知情同意书。本研究经本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 临床实验室指标的检测 DN组和对照组分别于入院次日和体检当日清晨(禁食8h后)接受空腹静脉血标本采集。采用美国贝克曼库尔特DXC800型全自动生化分析仪测定空腹血糖(FBG)、血脂四项[总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)]、肌酐(Scr)、血尿素氮(BUN);根据简化MRDR公式计算估算的肾小球滤过率(eGFR), $eGFR=[186\times Scr(mg/dL)]-(1.154\times 年龄)-0.203$,若为女性,则需将计算结果再乘以0.742。收集受检者24h尿液,采用放射免疫分析法检测尿清蛋白和肌酐水平,计算尿清蛋白/肌酐比值(UACR)。

1.2.2 实时荧光定量PCR(qPCR)检测 采集受试者6mL空腹静脉血,以3000r/min离心10min(离心半径为8cm),取上清液,立即保存于-80℃冰箱备用。采用TRIzol试剂盒提取血清总RNA,验证RNA浓度和纯度[260nm和280nm处吸光度(A)比值(A_{260}/A_{280})为1.8~2.0]后,使用Takara反转录试剂盒转录合成cDNA,SYBR Green Master Mix qPCR试剂盒检测血清lncRNA NEAT1、miR-23c、肾损伤分子-1(KIM-1)mRNA、中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)mRNA、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)mRNA、白细胞介素-6(IL-6)mRNA水平。lncRNA NEAT1、miR-23c的检测以U6作为内参;KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6的检测以GAPDH作为内参。引物序列见表1。反应体系共20 μ L:1 μ L cDNA,2 μ L正/反向引物,10 μ L SYBR Green Master Mix,5 μ L ddH₂O。反应条件:95℃ 5min,95℃ 15s,62℃ 40s共40个循环。2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算血清lncRNA NEAT1、miR-23c、KIM-1 mRNA、NGAL mRNA、TNF- α mRNA、IL-6 mRNA相对表达量。

1.2.3 CKD分期 DN患者入院后参考《中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南》^[6],根据有无肾脏损害(包括病理异常、影像学异常、血尿、其他尿沉渣异常、

UACR ≥ 30 mg/g 等)和 eGFR 进行 CKD 分期。G1 期:有肾脏损害,eGFR ≥ 90 mL $\cdot$ min $^{-1}\cdot 1.73$ m $^{-2}$;G2 期:有肾脏损害,eGFR 为 60 $\sim$ <90 mL $\cdot$ min $^{-1}\cdot 1.73$ m $^{-2}$;G3 期:有或无肾脏损害,eGFR 为 30 $\sim$ <60 mL $\cdot$ min $^{-1}\cdot 1.73$ m $^{-2}$;G4 期:有或无肾脏损害,eGFR 为 15 $\sim$ <30 mL $\cdot$ min $^{-1}\cdot 1.73$ m $^{-2}$;G5 期:有或无肾脏损害,eGFR<15 mL $\cdot$ min $^{-1}\cdot 1.73$ m $^{-2}$ 或透析。根据 CKD 分期将 DN 患者分为 G1 期(34 例)、G2 期(26 例)、G3 期(36 例)、G4 期(22 例)、G5 期(18 例)。

表 1 qPCR 引物序列(5'-3')

基因	上游引物	下游引物
lncRNA NEAT1	TGGCTAGCTCAGGGCTTCAG	TCTCCTTGCCAAGCTTCCTTC
miR-23c	CCAGAAGGACGTAGAAAG	CTTCACTGTGATGGGGCTC
KIM-1	TCTGCTTGTCAAAATACACT	TCTTGGAGGACGTGTGGGAA
NGAL	GGCAGGGAATGCAATTCTCA	TTGTAGTTGGTGCTCACCAC
TNF- α	TCTGGGCAGGTCTACTTTGG	GGTTGAGGGTCTCTGAAGGA
IL-6	CAATGAGGAGACTTGCCTGG	GGCATTTGTGGTTGGGTCAG
U6	CTCGCTTCGGCAGCACA	AACGCTTTCACGAATTTGCGT
GAPDH	CTCGCTTCGGCAGCACA	AAGTGG TCGTTGAGGGCAATG

1.3 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计学软件进行统计分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布且方差齐的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用 SNK-*q* 检验;呈偏态分布的计量资料以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,两组间比较采用非参数 Mann-Whitney *U* 检验。采用 Pearson/Spearman 相关进行相关性分析。

DN 病情进展的影响因素采用多元有序 Logistic 回归进行分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组临床实验室检测指标比较 DN 组 FBG、TC、TG、LDL-C、Scr、BUN、UACR 水平均高于对照组,HDL-C 水平低于对照组,差异均有统计学意义(*P*<0.05),见表 2。

表 2 两组临床实验室检测指标比较[$\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25},P_{75})$]

组别	<i>n</i>	FBG (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	Scr (μ mol/L)	BUN (mmol/L)	UACR (mg/g)
DN 组	136	10.21 $\pm$ 2.63	4.68 $\pm$ 1.09	1.93 $\pm$ 0.35	1.57 $\pm$ 0.31	2.66 $\pm$ 0.81	106.75 $\pm$ 22.50	7.11 $\pm$ 1.36	82.30(57.65,105.61)
对照组	58	4.56 $\pm$ 0.96	4.25 $\pm$ 1.10	1.62 $\pm$ 0.32	1.85 $\pm$ 0.21	2.36 $\pm$ 0.58	92.03 $\pm$ 17.20	6.18 $\pm$ 0.95	16.07(12.94,20.54)
<i>t/Z</i>		21.863	2.509	5.921	-6.176	2.848	4.455	5.424	-10.333
<i>P</i>		<0.001	0.013	<0.001	<0.001	0.005	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 水平比较 DN 组血清 lncRNA NEAT1 水平高于对照组,miR-23c 水平低于对照组,差异均有统计学意义(*P*<0.05),见表 3。

2.3 两组血清 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平和 eGFR 比较 DN 组 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平均高于对照组,eGFR 低于对照组,差异均有统计学意义(*P*<0.05),见表 4。

2.4 不同 CKD 分期 DN 患者血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 和 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平比较 G1 $\sim$ G5 期 DN 患者血清 lncRNA NEAT1 和 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平

依次升高,miR-23c 水平依次降低,差异均有统计学意义(*P*<0.05),见表 5。

表 3 两组血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	lncRNA NEAT1	miR-23c
DN 组	136	7.06 $\pm$ 2.28	0.40 $\pm$ 0.10
对照组	58	4.16 $\pm$ 1.13	1.02 $\pm$ 0.25
<i>t</i>		11.571	-18.361
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.5 DN 患者血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 水平与 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平及 eGFR 的相关性 Pearson/Spearman 相关分析显示,DN 患

者血清 lncRNA NEAT1 水平与 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平均呈正相关($P<0.05$),与 miR-23c、eGFR 呈负相关($P<0.05$)。DN 患者血清 miR-23c 水平与 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平均呈负相关($P<0.05$),与 eGFR 呈正相关($P<0.05$)。见表 6。

表 4 两组血清 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平及 eGFR 比较[$\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25},P_{75})$]

组别	<i>n</i>	KIM-1 mRNA	NGAL mRNA	TNF- α mRNA	IL-6 mRNA	eGFR(mL $\cdot$ min ⁻¹ $\cdot$ 1.73 m ⁻²)
DN 组	136	8.22 $\pm$ 1.74	9.49 $\pm$ 2.26	8.94 $\pm$ 2.69	7.80 $\pm$ 1.43	46.26(43.32,49.56)
对照组	58	6.52 $\pm$ 1.34	6.04 $\pm$ 1.72	4.15 $\pm$ 1.20	3.95 $\pm$ 1.24	101.94(89.84,112.69)
<i>t/Z</i>		7.361	10.405	17.146	17.818	-11.016
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 5 不同 CKD 分期 DN 患者血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 和 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

CKD 分期	<i>n</i>	lncRNA NEAT1	miR-23c	KIM-1 mRNA	NGAL mRNA	TNF- α mRNA	IL-6 mRNA
G1 期	34	4.48 $\pm$ 1.26	0.48 $\pm$ 0.05	6.00 $\pm$ 0.92	7.16 $\pm$ 1.73	5.99 $\pm$ 1.99	6.08 $\pm$ 0.73
G2 期	26	6.13 $\pm$ 0.92 ^a	0.45 $\pm$ 0.08 ^a	7.64 $\pm$ 0.67 ^a	8.72 $\pm$ 0.95 ^a	8.04 $\pm$ 1.26 ^a	7.26 $\pm$ 0.79 ^a
G3 期	36	7.35 $\pm$ 1.66 ^{ab}	0.40 $\pm$ 0.07 ^{ab}	8.96 $\pm$ 0.98 ^{ab}	9.97 $\pm$ 1.72 ^{ab}	9.25 $\pm$ 1.64 ^{ab}	8.14 $\pm$ 0.75 ^{ab}
G4 期	22	8.85 $\pm$ 1.12 ^{abc}	0.33 $\pm$ 0.06 ^{abc}	9.54 $\pm$ 0.80 ^{abc}	11.06 $\pm$ 1.28 ^{abc}	11.01 $\pm$ 0.98 ^{abc}	8.93 $\pm$ 0.42 ^{abc}
G5 期	18	10.11 $\pm$ 1.00 ^{abcd}	0.27 $\pm$ 0.09 ^{abcd}	10.17 $\pm$ 1.17 ^{abcd}	12.14 $\pm$ 1.60 ^{abcd}	12.69 $\pm$ 1.24 ^{abcd}	9.78 $\pm$ 0.77 ^{abcd}
<i>F</i>		75.433	38.481	90.283	42.104	70.276	51.343
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 G1 期比较,^a $P<0.05$;与 G2 期比较,^b $P<0.05$;与 G3 期比较,^c $P<0.05$;与 G4 期比较,^d $P<0.05$ 。

2.6 血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 水平与 DN 病情进展的关系 以血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 水平为自变量,CKD 分期为因变量(G1~G5 期分别赋值为 1、2、3、4、5),建立未校正、校正血糖后(用 FBG 进行校正)、校正血糖和血脂后(用 FBG、TC、TG、HDL-C、LDL-C 进行校正)、校正血糖、血脂、肾功能后(用 FBG、TC、TG、HDL-C、LDL-C、Scr、BUN、UACR 进行校正)4 种多元有序 Logistic 回归模型,平行线检验均 $P>0.05$,满足平行线假设。结果显示,校正血糖、血脂、肾功能后,lncRNA NEAT1 仍然是 DN 病情进展的独立危险因素,miR-23c 是独立保护因素($P<0.05$)。见表 7。

表 6 DN 患者血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 水平与 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平及 eGFR 的相关性

指标	lncRNA NEAT1		miR-23c	
	<i>r/r_s</i>	<i>P</i>	<i>r/r_s</i>	<i>P</i>
lncRNA NEAT1	—	—	-0.599	<0.001
miR-23c	-0.599	<0.001	—	—
KIM-1 mRNA	0.761	<0.001	-0.577	<0.001
NGAL mRNA	0.671	<0.001	-0.551	<0.001
TNF- α mRNA	0.537	<0.001	-0.544	<0.001
IL-6 mRNA	0.602	<0.001	-0.507	<0.001
eGFR	-0.604 [*]	<0.001	0.510 [*]	<0.001

注:^{*}为 Spearman 相关分析;—表示该项无数据。

表 7 血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 水平作为 DN 病情影响因素的多元有序 Logistic 回归分析

模型	lncRNA NEAT1			miR-23c		
	OR	95%CI	<i>P</i>	OR	95%CI	<i>P</i>
未校正	2.192	2.142~2.257	<0.001	0.576	0.503~0.676	<0.001
校正血糖后	2.204	2.148~2.263	<0.001	0.578	0.505~0.678	<0.001
校正血糖和血脂后	2.215	2.156~2.278	<0.001	0.582	0.508~0.684	<0.001
校正血糖、血脂、肾功能后	2.177	2.113~2.441	<0.001	0.595	0.543~0.726	<0.001

3 讨 论

糖尿病是危害人类健康的重大疾病之一,2019 年全球 20~79 岁人群患病人数达 4.63 亿^[7]。DN 是糖

尿病常见微血管并发症之一,临床特征为持续清蛋白尿排泄增加和(或)GFR 进行性下降,最终可发展为终末期肾脏疾病,严重威胁人类生命健康^[8-9]。DN 的主

要病理生理改变包括肾小球/肾小管基底膜增厚、肾小球硬化、肾小管萎缩和细胞凋亡、肾间质炎症浸润、肾间质纤维化等^[10]。目前 DN 进展的机制尚不清楚,探讨 DN 进展的机制对 DN 的早期诊断和治疗意义重大。

lncRNA 是一类由 200 个核苷酸构成的无蛋白质编码功能的 RNA,广泛参与转录调节、转录后调节、表观遗传调节等基因表达的调控过程,其异常表达与 DN 等多种疾病有关。DUAN 等^[11]的研究报道,lncRNA 干扰素刺激基因 20 能通过 miR-486-5p/活化 T 细胞核因子 5 诱导蛋白激酶 B 磷酸化促进 DN 中的肾纤维化过程。lncRNA NEAT1 定位于染色体 11q13.1,最初的研究发现其主要通过稳定细胞核内 miRNA 调节基因表达,后来发现其在肿瘤发生、发展中也发挥重要作用。有研究显示,lncRNA NEAT1 能促进肾癌细胞增殖、上皮-间质转化、侵袭、迁移^[12-13]。肾间质炎症浸润、肾细胞凋亡、肾间质纤维化是 DN 的主要病理生理特征^[10]。WANG 等^[14]的研究报道,lncRNA NEAT1 能通过 miR-27a-3p/活化激酶 1 结合蛋白 3 轴调控急性肾损伤炎症和细胞凋亡。LI 等^[15]研究报道,lncRNA NEAT1 能靶向 miR-129 促进肾纤维化。本研究结果显示,DN 组血清 lncRNA NEAT1 水平高于对照组,且 G1~G5 期 DN 患者血清 lncRNA NEAT1 水平依次升高,说明 lncRNA NEAT1 参与 DN 发生、发展,推测其作用机制可能为通过靶向 miRNA 促进肾脏炎症及肾间质纤维化。随着 lncRNA NEAT1 水平的升高,肾损伤程度更加严重^[14-15]。KIM-1 是一种跨膜糖蛋白,正常生理状态下表达极少,当肾脏出现缺血、炎症等损伤时其水平可快速升高;NGAL 是一种脂质运载蛋白,正常生理状态下表达极少,当肾脏出现缺血、炎症等损伤时其水平可快速升高,并通过增强抗炎反应发挥保护作用。目前 KIM-1、NGAL 已被认为是 DN 肾损伤的标志物^[16]。有研究表明,DN 是一种慢性低水平炎症疾病,TNF- α 、IL-6 等促炎症细胞因子通过刺激并损伤胰岛 β 细胞而诱发胰岛素抵抗,并且进一步介导 DN 的发生、发展过程^[17-18]。肾功能改变为 DN 的重要表现,eGFR 是反映肾功能的主要指标,目前 CKD 分期也是基于 eGFR^[6]。本研究结果显示,DN 组血清 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平升高且随着 CKD 分期增加而升高,符合既往研究报道;进一步研究显示,DN 患者血清 lncRNA NEAT1 与 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平呈正相关,而与 eGFR 呈负相关,说明 lncRNA NEAT1 参与 DN 发生、发展,推测其机制可能与 lncRNA NEAT1 能抑制蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白信号通路促进 DN 肾细胞增殖和组织纤维化有关^[19]。

miRNA 是一种包含约 22 个核苷酸的无蛋白质编码功能的 RNA,能通过结合靶基因 3'非编码区,降解或抑制 mRNA 翻译,在转录水平上调节基因表达^[3]。有研究表明,miRNA 也广泛参与 DN 发生、发展,如 miR-27a-3p 能通过影响肾纤维化、线粒体功能障碍、内质网应激参与 DN 发生、发展^[20]。miR-23c 定位于染色体 Xp22.12,既往研究报道了其在肿瘤中的作用,如 miR-23c 能通过调控染色质解旋酶 DNA 结合蛋白 7 影响子宫内膜癌细胞的恶性特征和预后^[21]。目前有关 miR-23c 与肾脏疾病的研究报道较少,LU 等^[21]通过下一代测序分析发现,miR-23c 为 DN 患者尿液差异表达 miRNA 之一,但未进一步分析 miR-23c 与 DN 的关系。本研究结果显示,DN 组血清 miR-23c 水平低于对照组,而且 G1~G5 期 DN 患者血清 miR-23c 水平依次降低,说明 miR-23c 参与 DN 发生、发展。但 LEE 等^[22]报道,DN 患者尿液中 miR-23c 水平明显上调,而本研究中 DN 组血清 miR-23c 水平明显下调,考虑与 DN 患者肾功能恶化引起 miR-23c 渗漏至尿液有关,本研究后续也将进一步验证相关推论。本研究结果还显示,DN 患者血清 miR-23c 与 KIM-1、NGAL、TNF- α 、IL-6 mRNA 水平呈负相关,而与 eGFR 呈正相关,进一步说明 miR-23c 参与 DN 发生、发展,推测其作用机制与低水平 miR-23c 会促进高糖诱导的 DN 细胞的焦亡,增加促炎因子 IL-1 β 表达,加重肾损伤有关^[5,23]。lncRNA 能通过竞争胞内 miRNA,抑制靶基因表达^[24]。LI 等^[25]通过 starBase 生物信息学软件和双荧光素酶报告基因实验证实,lncRNA NEAT1 可海绵化 miR-23c,促进 DN 患者肾间质细胞增殖和纤维化。本研究结果也显示,DN 患者血清 lncRNA NEAT1 与 miR-23c 水平呈负相关,说明二者共同参与 DN 病情进展,但二者在 DN 中发挥的具体作用,本课题组未进行深入探讨。本研究仅通过检测患者血清指标探讨了二者与 DN 病情进展的关系,并未通过肾穿刺获取组织标本来进行验证,可能对肾损伤的评估存在一定的偏差,后续本研究将进一步扩大样本量,通过收集肾穿刺组织标本进一步验证 lncRNA NEAT1 和 miR-23c 水平与 DN 肾损伤进展的关系,为探讨 DN 发展的内在机制提供参考,也为 DN 肾损伤早期评估提供依据。

DN 发生与高血糖所致的糖代谢、脂代谢异常密切相关,合理控制血糖和血脂水平对延缓 DN 进展意义重大^[10]。本研究中,DN 患者血糖、血脂水平明显异常,同时肾功能指标 Scr、BUN、UACR 水平也明显升高。最后,本研究通过多元有序 Logistic 回归证实,无论是否校正血糖、血脂、肾功能指标,血清 lncRNA NEAT1、miR-23c 均是 DN 病情进展的独立影响因素,进一步说明二者与 DN 病情进展密切相关。

综上所述, DN 患者血清 lncRNA NEAT1 水平提升, miR-23c 水平降低, 与 DN 病情进展密切相关。但本研究为初步研究, 后续还需大样本量的研究证实得到的结论并进一步分析二者与 DN 病情进展的关系。

参考文献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(4): 315-409.
- [2] 糖尿病肾病多学科诊治与管理共识专家组. 糖尿病肾病多学科诊治与管理专家共识[J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(5): 522-527.
- [3] LV J, WU Y, MAI Y, et al. Noncoding RNAs in diabetic nephropathy: pathogenesis, biomarkers, and therapy[J]. J Diabetes Res, 2020, 2020: 3960857.
- [4] MA J, ZHAO N, DU L, et al. Downregulation of lncRNA NEAT1 inhibits mouse mesangial cell proliferation, fibrosis, and inflammation but promotes apoptosis in diabetic nephropathy[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2019, 12(4): 1174-1183.
- [5] LI X, ZENG L, CAO C, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates renal tubular epithelial pyroptosis by modulated miR-23c targeting of ELAVL1 in diabetic nephropathy[J]. Exp Cell Res, 2017, 350(2): 327-335.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南[J]. 中华糖尿病杂志, 2019, 11(1): 15-28.
- [7] SAEEDI P, PETERSOHN I, SALPEA P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: results from the international diabetes federation diabetes atlas, 9th edition[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2019, 157: 107843.
- [8] RUIZ-ORTEGA M, RODRIGUES-DIEZ R R, LAVOZ C, et al. Special issue “diabetic nephropathy: diagnosis, prevention and treatment”[J]. J Clin Med, 2020, 9(3): 813.
- [9] HOU J H, ZHU H X, ZHOU M L, et al. Changes in the spectrum of kidney diseases: an analysis of 40 759 biopsy-proven cases from 2003 to 2014 in China[J]. Kidney Dis (Basel), 2018, 4(1): 10-19.
- [10] 中华医学会肾脏病学分会专家组. 糖尿病肾脏疾病临床诊疗中国指南[J]. 中华肾脏病杂志, 2021, 37(3): 255-304.
- [11] DUAN Y R, CHEN B P, CHEN F, et al. LncRNA lnc-*ISG20* promotes renal fibrosis in diabetic nephropathy by inducing AKT phosphorylation through miR-486-5p/NFAT5[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(11): 4922-4937.
- [12] NING L, LI Z, WEI D, et al. LncRNA NEAT1 is a prognosis biomarker and regulates cancer progression via epithelial-mesenchymal transition in clear cell renal cell carcinoma[J]. Cancer Biomark, 2017, 19(1): 75-83.
- [13] 柯伟, 周洪勇, 胡子好, 等. 长链非编码 RNA NEAT1 调控微小 RNA-506/组蛋白-赖氨酸 N-甲基转移酶对肾癌 786-O 细胞生物学行为的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(6): 1049-1052.
- [14] WANG J, CHEN Y, TANG Z, et al. LncRNA NEAT1 regulated inflammation and apoptosis in a rat model of sepsis-induced acute kidney injury via MiR-27a-3p/TAB3 axis[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2020, 84(11): 2215-2227.
- [15] LI C, LIU Y F, HUANG C, et al. Long noncoding RNA NEAT1 sponges miR-129 to modulate renal fibrosis by regulation of collagen type I [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2020, 319(1): 93-105.
- [16] 张盈莹, 卓永, 欧佩, 等. 尿 NGAL 及 KIM-1 水平对藏区糖尿病肾脏病的临床诊断价值研究[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2020, 40(5): 294-299.
- [17] 陈娟, 高鹏霞, 石敏, 等. 血清炎性细胞因子水平与糖尿病肾病病情进展的关系[J]. 中华肾脏病杂志, 2019, 35(2): 106-112.
- [18] 沈漪萍, 沈轩宇. 糖尿病肾病患者血清 ACA、IL-6、NGAL 水平变化及意义[J]. 山东医药, 2019, 59(4): 23-26.
- [19] HUANG S, XU Y, GE X, et al. Long noncoding RNA NEAT1 accelerates the proliferation and fibrosis in diabetic nephropathy through activating Akt/mTOR signaling pathway[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(7): 11200-11207.
- [20] 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.
- [21] LU M, DING N, ZHUANG S, et al. LINC01410/miR-23c/CHD7 functions as a ceRNA network to affect the prognosis of patients with endometrial cancer and strengthen the malignant properties of endometrial cancer cells[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 469(1/2): 9-19.
- [22] LEE W C, LI L C, NG H Y, et al. Urinary exosomal microRNA signatures in nephrotic, biopsy-proven diabetic nephropathy[J]. J Clin Med, 2020, 9(4): 1220.
- [23] 安鑫, 杨丽娜. 细胞焦亡与糖尿病微血管并发症关系的研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2020, 28(5): 395-397.
- [24] 皮益苑, 周爽, 简鸣, 等. LncRNA 中 miRNA 海绵活性与肿瘤的研究进展[J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(3): 230-234.
- [25] LI N, JIA T, LI Y R. LncRNA NEAT1 accelerates the occurrence and development of diabetic nephropathy by sponging miR-23c [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(3): 1325-1337.