

人体体液中 miRNA 与狼疮性肾炎的关系

钱飞婷¹, 张绍杰², 陈洪宇³, 曾佳丽³

(1. 浙江中医药大学附属广兴医院肾病科, 浙江省杭州市 310007; 2. 杭州市丁桥医院肾病科, 浙江省杭州市 310021; 3. 杭州市中医院肾病科, 浙江省杭州市 310007)

[关键词] 狼疮性肾炎; miRNA; 肾脏疾病

[摘要] 在狼疮性肾炎中, 目前多采用血肌酐、尿蛋白等实验室指标来评估疾病活动和评价疗效, 但这些指标并不一定与肾脏活动及肾脏病理类型呈正相关。肾穿刺活检虽为评估其病理改变的金指标, 但属有创检查, 而人体体液中的微小 RNA(miRNA) 似乎与诊断狼疮性肾炎、评估疾病活动及肾脏病理类型存在相关性。本文就此做一综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The relationship between microRNAs in human body fluids and lupus nephritis

QIAN Feiting¹, ZHANG Shaojie², CHEN Hongyu³, ZENG Jiali³

(1. Guangxing Hospital Affiliated to Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310007, China; 2. Hangzhou Dingqiao Hospital, Hangzhou, Zhejiang 310021, China; 3. Hangzhou Traditional Chinese Medical Hospital, Hangzhou, Zhejiang 310007, China)

[KEY WORDS] lupus nephritis; miRNA; kidney disease

[ABSTRACT] In lupus nephritis, laboratory indicators such as serum creatinine and urinary protein are often used to evaluate disease activity and curative effect, but these indicators are not necessarily positively correlated with renal activity and renal pathological types. Although renal biopsy is a golden index for evaluating pathological changes, it is invasive. It seems that the microRNA(miRNA) in human body fluid are correlated with the diagnosis of lupus nephritis, the assessment of disease activity and the pathological type of kidney.

狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)是系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)所导致的肾脏损害, 系统性红斑狼疮是系统性免疫性疾病, 病变可累及多个系统器官及组织, 尤以肾为甚, 肾活检也显示肾脏受累几乎为 100%。Hong 等^[1]最近的一项荟萃分析表明 29% 的 SLE 患者均有狼疮性肾炎发生, 并且在肾活检数据库中占继发性肾小球疾病的 60%。本病治疗较为困难, 治疗后虽能缓解, 但易复发, 且有病情逐渐加重的趋势, 最终进展为肾衰竭, 靠透析来维持生命, 加重公共卫生系统的负担。目前在疗效评价方面多采用血肌酐、尿蛋白等实验室指标, 但这些指标并不一定与肾脏活动及肾脏病理类型呈正相关。肾穿刺活检虽为评估病理改变的金指标, 但属有创检查, 且穿刺的组织极少, 难以说明全部肾脏的病理状况, 所以需要探

索稳定且应用方便的新指标来辅助诊断狼疮性肾炎、评估其疾病活动及判断疗效, 近年来很多学者从微小 RNA(microRNA, miRNA) 分子方面对其进行了不少研究。

miRNA 是基因表达和失调的重要调节因子, 是多种疾病的共同病理机制。miRNA 不仅揭示了真核生物中某些转录体的复杂性蜂窝网络, 同时由它主导的新兴作用机制对肾小球相关疾病, 如局灶节段硬化性肾小球肾炎、IgA 肾病、狼疮性肾炎和糖尿病肾病均有所影响, 这可能可以帮助阐明以 miRNA 基因调控为基础的上述疾病的病理机制^[2]。miRNA 是一类非编码短小 RNA, 其作用是通过与目标信使 RNA 配对互补调节转录后基因表达, 从而调节各种蛋白质的翻译, 最终影响各种生物酶、调节通路及相关因子的生成释放或者降解。miRNA 不

[收稿日期] 2019-02-25

[修回日期] 2019-04-24

[基金项目] 浙江省中医药管理局青年人才基金项目(2018ZQ043)

[作者简介] 钱飞婷, 硕士研究生, 住院医师, 研究方向为中医内科学肾病方向, E-mail 为 1641093299@qq.com。通信作者张绍杰, 博士, 主治医师, 研究方向为中医内科学狼疮性肾炎方向, E-mail 为 625368403@qq.com。

仅广泛表达于各个器官组织,且大量稳定存在于生物体体液中,人体中包括血液、尿液等。近年来越来越多的证据表明大量 miRNA 在狼疮性肾炎患者的体液中随着狼疮性肾炎的发病、肾脏活动及肾脏病理改变而发生相应变化,可以说人体体液中的 miRNA 可作为诊断、评估狼疮性肾炎肾脏活动及肾脏病理改变的潜在生物学指标。本文就近年来有关人体体液中的 miRNA 与狼疮性肾炎诊断、肾脏疾病活动及肾脏病理类型的关系做一综述。

1 人体体液中的 miRNA 与狼疮性肾炎诊断的相关性

1.1 尿液中的 miRNA

在近年来的两组病例对照研究中,Ichii 等^[3]发现在狼疮性肾炎患者中,尿液外泌体中的 miR-26a 水平显著高于健康对照组,而 Reis 等^[4]的研究却表明,狼疮性肾炎患者尿液中 miR-26a 和 miR-30b 与健康对照组相比显著减少,Costa-Reis 等^[5]也发现 miR-26a 和 miR-30b 的水平在狼疮性肾炎患者的肾脏和尿液中均减少,且认为它们直接调节肾小球系膜细胞的细胞周期,同时也认为 miR-30b 是潜在的狼疮性肾炎生物标志物。由此可见,miR-26a 在狼疮性肾炎病理机制中可能存在某种双向调节机制,有待进一步研究。另外,值得补充的是,Cardenas-Gonzalez 等^[6]研究发现在狼疮性肾炎患者的尿液中,miR-3201 和 miR-1273e 被下调,由此看出,在狼疮性肾炎患者尿液中的许多 miRNA 发生了明显改变,部分 miRNA 在狼疮性肾炎的发病机制中起着一定作用,并且尿液检测标本采集方便,具有作为生物标志物的前景,有待学者进一步研究。

1.2 血液中的 miRNA

Te 等^[7]在研究狼疮性肾炎患者外周血单个核细胞(PBMC)和人类外周血 B 淋巴细胞(EBV)转化细胞中 miRNA 差异表达的过程中,发现有 18 种 miRNA 在不同种族中存在差异表达,并已鉴定出其中 5 种,分别为 hsa-371-5P、hsa-423-5P、hsa-638、hsa-1224-3P 和 hsa-663。另外也有研究表明狼疮性肾炎患者的血清中存在着 17 种被上调的 miRNA,同时也明确证实了 hsa-miR-150、hsa-miR-200c、hsa-miR-181a、hsa-miR-125a 和 hsa-miR-675 这几种 miRNA 的上调^[8]。Navarro-Quiroz 等^[9]的一项横断面研究中发现狼疮性肾炎患者与健康者血清比较,有 89 种 miRNA 的丰度发生了变化,且在狼疮性肾炎患者或无肾脏累及的 SLE 患者之间显示出显著变异的 17 种 miRNA。Zununi 等^[10]把 26 例狼疮性肾炎患

者与 26 例健康者比较后,发现狼疮性肾炎患者的血浆 miR-125a ($P = 0.048$)、miR-146a ($P = 0.005$) 和 miR-155 ($P < 0.001$) 水平显著升高。Su 等^[11]也认为血清 miR-146a-5p 可以及时预测狼疮性肾炎的发生。另外,Zhang 等^[12]的研究结果显示狼疮性肾炎患者与健康对照组相比血 miR-200b-5p、miR-141-5p 和 miR-200c-5p 表达减少,认为以此诊断狼疮性肾炎可能具有重要价值。同时,Wu 等^[13]发现 miR-130b 在狼疮性肾炎组中上调。这些结果都不难看出血液中的部分 miRNA 均可能作为诊断狼疮性肾炎的生物标志物。

上述一系列有关尿液和血液中 miRNA 的结果均显示人体体液中存在某些特异表达的 miRNA 在狼疮性肾炎的发生发展过程中被上调或下调,其中部分 miRNA 在狼疮性肾炎病理机制中可能存在某种双向调节机制,这些 miRNA 均可能可以作为潜在的诊断狼疮性肾炎的生物标志物,用来辅助诊断狼疮性肾炎,以期及时采取相关诊疗措施。

2 人体体液中的 miRNA 与狼疮性肾炎活动性的相关性

2.1 尿液中的 miRNA

近年有研究发现活动性狼疮性肾炎患者的尿沉渣中 miR-146a 和 miR-155 比健康对照组显著升高^[14],与此一致的是,Perez-Hernandez 等^[15]研究也表明,与 SLE 未累及肾脏患者或健康对照组相比,活动性狼疮性肾炎患者 miR-146a 显著增加,可见,miR-146a、miR-155 与狼疮性肾炎活动性之间可能存在一定的相关性。Guan 等^[16]报道了在患有活动性狼疮性肾炎的患者中,尿沉渣 miR-221 和 miR-222 的水平与血清抗双链 DNA 水平呈负相关,血清补体 C3 水平与 miR-221 也有相关性,而血清抗双链 DNA 水平目前仍然作为判断狼疮性肾炎活动性的标志之一,血清补体 C3 水平也与狼疮性肾炎活动性显著相关,由此可以推测尿沉渣 miR-221 和 miR-222 的水平也可能与狼疮性肾炎活动性有关。另外,Tangtanatakul 等^[17]发现 let-7a 和 miR-21 在活动性狼疮性肾炎患者中与非活动性患者相比显著下调。长期随访的狼疮性肾炎患者在疾病活动期间也显示 let-7a 和 miR-21 的下调,而在经过完整治疗后表达升高。由此也不难看出 let-7a 和 miR-21 可能可以作为疾病活动和好转的监测指标,并以此来指导治疗。在儿童方面,也有研究报道狼疮性肾炎儿童患者尿液上清液中的 miR-125a、miR-150 和 miR-155 的水平与中性粒细胞明胶酶相关脂质运载

蛋白、单核细胞趋化蛋白 1、转铁蛋白和 β -痕量蛋白等生物标志物的表达有关,若用于估计是否并发狼疮性肾炎活动,那么上述这些 miRNA 指标可以用于辅助评估^[18]。

2.2 血液中的 miRNA

近年来, Khoshmirasafa 等^[19]研究发现活动性狼疮性肾炎组外周血单个核细胞(PBMCs)中的 miR-21 和 miR-155 水平明显高于非活动性狼疮性肾炎组或健康对照组,统计学分析也显示, miR-21 和 miR-155 是狼疮性肾炎的重要危险因素。可见, PBMCs 中 miR-21 和 miR-155 的过度表达可能参与了狼疮性肾炎的病理生理学,这些 miRNA 可作为狼疮性肾炎的生物标志物。另外,陈京京等^[20]发现中重度活动的系统性红斑狼疮患者外周血中 miR-21、miR-155 表达显著升高,且与抗双链 DNA 抗体及肾脏损伤相关,提示 miR-21 和 miR-155 表达升高可能在系统性红斑狼疮疾病活动中起作用,而活动性狼疮性肾炎也是其中的一种活动形式,这与 Khoshmirasafa 等^[19]结果一致。另外,Hashad 等^[21]研究表明,与患有非活动性狼疮性肾炎的患者相比,活动性狼疮性肾炎患者的血 miRNA-146a 表达较低。Zhu 等^[22]研究表明与健康对照组相比,狼疮性肾炎患者外周血单个核细胞 miR-146a 下降。它们的表达可用于有效区分是否合并狼疮性肾炎和评估他们的肾脏活动。值得补充的是, Zununi 等^[10]发现狼疮性肾炎患者血浆中的 miR-146a 与抗双链 DNA 抗体和蛋白尿的水平显著相关,此外, miR-142-3p 水平与狼疮性肾炎慢性和活动指数之间存在显著相关性($P < 0.05$),这可能也支持了上述观点。另外也有研究表明活动性狼疮性肾炎患者的外周血血浆中的 miR-342-3p、miR-223 和 miR-20a 的表达显著降低^[23]。Xiao 等^[24]的研究表明与健康志愿者相比, IV 型狼疮性肾炎患者血清 miR-151a-3p 表达降低,且与肾组织活动呈负相关。Zhang 等^[12]观察到狼疮性肾炎患者血浆 miR-141-5p 与血清肌酐和 SLEDAI 评分呈负相关,并且发现 miR-200c-5、miR-200b-3p 与 SLEDAI 评分以及蛋白尿也呈负相关。而另一方面, Wang 等^[25]发现血清 miR-130b-3p 的表达与早期狼疮性肾炎患者的 24 h 蛋白尿和肾慢性指数呈正相关。孙芳等^[26]也发现狼疮性肾炎患者循环 miRNA 表达水平可能随着肾功能的进一步下降而出现表达下调,其循环 miR-130b-3p 的表达与肾脏功能、血脂水平呈现明显的相关性,这在狼疮性肾炎的疾病发生发展过程中可能起着重要的作用。这无疑与 Wang 等^[25]结果类似。

由此可见,尿液中的 miR-146a、miR-155、miR-

221、miR-222、let-7a、miR-21、miR-125a、miR-150 和血液中的 miR-21、miR-155、miRNA-146a、miR-142-3p、miR-342-3p、miR-223、miR-20a、miR-151a-3p、miR-141-5p、miR-200c-5、miR-200b-3p、miR-130b-3p 的表达可能与狼疮性肾炎的活动性存在一定相关性,可能可以作为狼疮性肾炎活动性的标志。目前,狼疮性肾炎的临床活动性实验室指标主要为白细胞降低、低补体血症、抗双链 DNA 抗体阳性,病理指标主要为间质炎症细胞浸润、存在“白金耳”现象、核碎裂、存在苏木精小体、微血栓形成,以及皮肤黏膜损害、血管炎、明显血尿等临床表现,然而这些指标的敏感性和特异性均不高,因此需要发现一种敏感性和特异性均较好的指标,而 miRNA 可能可以为之提供一定的方向。

3 人体体液中的 miRNA 与狼疮性肾炎病理类型的相关性

3.1 尿液中的 miRNA

近年来有研究发现在狼疮性肾炎的患者中,尿外泌体 miR-29c 与肾脏慢性程度相关,可用作狼疮性肾炎患者早期肾脏纤维化的新型非侵入性标志物^[27]。另外,又有研究证实狼疮性肾炎患者尿外泌体中的 miR-3135b、miR-654-5p 和 miR-146a-5p 可用作狼疮性肾炎细胞新月体的新型非侵入性诊断标志物^[28]。这表明尿液中的部分 miRNA 与狼疮性肾炎病理特点存在一定相关性。

3.2 血液中的 miRNA

苏美玲等^[29]发现狼疮性肾炎患者血清 miR-4762-5p 有可能作为鉴别 IV 和 IV + V 型狼疮性肾炎病理类型的生物标志物。李丹等^[30]研究表明狼疮性肾炎患者血清中 miR-29c 与肾脏的慢性纤维化程度以及肾功能存在相关性,表明 miR-29c 可能可以作为狼疮性肾炎患者早期肾脏纤维化的一种新型生物标志物。这表明血液中的部分 miRNA 与狼疮性肾炎病理特点也存在一定相关性。

目前,肾穿刺活检病理虽然能为临床用药及治疗指明方向,但却属于有创检查,且费用高,取出组织也极少,难以说明全部肾脏情况,而上述研究已表明尿液中的 miR-29c 和血液中的 miR-29c 与肾脏纤维化相关,尿液中的 miR-3135b、miR-654-5p 和 miR-146a-5p 可用来诊断狼疮性肾炎细胞新月体的形成,血液中的 miR-4762-5p 有可能作为鉴别 IV 和 IV + V 型狼疮性肾炎病理类型的生物学标志物。由此可见,miRNA 与狼疮性肾炎肾脏病理表现存在一定相关性,可能可以作为肾脏各种病理表现的潜在

生物标志物,可以避免多次肾脏穿刺,并为临床用药及治疗指明方向。

综上所述,人体体液中 miRNA 作为一种非侵入性生物学标志物,在肾脏疾病早期发现、监测病情活动和进展以及判断病理类型等方面已崭露头角。但目前就人体体液中 miRNA 与狼疮性肾炎诊断、疾病活动及肾脏病理类型关系的相关研究仍缺少大样本的数据,大部分 miRNA 作用机制也未探究清楚,以致无法提供理论依据。而另一方面,miRNA 若作为一项临床实验室指标,具备特异性灵敏度佳,半衰期短,在体液中易检出,价格低廉,操作方便等特点,因此,促使 miRNA 能够明确成为临床上辅助诊断狼疮性肾炎、检测狼疮性肾炎活动及判断狼疮性肾炎肾脏病理类型的临床指标的任务仍任重道远。

[参考文献]

- [1] Hong W, Ren YL, Chang J, et al. A systematic review and meta-analysis of prevalence of biopsy-proven lupus nephritis [J]. *Arch Rheumatol*, 2018, 33(1): 17-25.
- [2] Trionfini P, Benigni A. MicroRNAs as master regulators of glomerular function in health and disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(6): 1686-1696.
- [3] Ichii O, Otsuka-Kanazawa S, Horino T, et al. Decreased miR-26a expression correlates with the progression of podocyte injury in autoimmune glomerulonephritis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e110383.
- [4] Reis APC, Russo P, Gallucci S, et al. A150: control of cell proliferation in lupus nephritis: the role of miRNAs and HER2[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66(11): 194.
- [5] Costa-Reis P, Russo PA, Zhang Z, et al. The role of microRNAs and human epidermal growth factor receptor 2 in proliferative lupus nephritis[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(9): 2415-2426.
- [6] Cardenas-Gonzalez M, Srivastava A, Pavkovic M, et al. Identification, confirmation, and replication of novel urinary microRNA biomarkers in lupus nephritis and diabetic nephropathy [J]. *Clin Chem*, 2017, 63(9): 1515-1526.
- [7] Te JL, Dozmorov IM, Guthridge JM, et al. Identification of unique microRNA signature associated with lupus nephritis[J]. *PLoS One*, 2010, 5(5): e10344.
- [8] Li HY, Ding GH. Elevated serum inflammatory cytokines in lupus nephritis patients, in association with promoted hsa-miR-125a[J]. *Clin Lab*, 2016, 62(4): 631-638.
- [9] Navarro-Quiroz E, Pacheco-Lugo L, Lorenzi H, et al. High-throughput sequencing reveals circulating miRNAs as potential biomarkers of kidney damage in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166202.
- [10] Zununi VS, Nakhjavani M, Etemadi J, et al. Altered levels of immune-regulatory microRNAs in plasma samples of patients with lupus nephritis[J]. *Bioimpacts*, 2018, 8(3): 177-183.
- [11] Su YJ, Lin IC, Wang L, et al. Next generation sequencing identifies miRNA-based biomarker panel for lupus nephritis [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(46): 27911-27919.
- [12] Zhang Y, Wang Y. The correlation of plasma microRNA-200 family expressions with risk and disease severity of lupus nephritis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(10): 3118-3125.
- [13] Wu S, Wang J, Li F. Dysregulation of PTEN caused by the underexpression of microRNA130b is associated with the severity of lupus nephritis[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 17(6): 7966-7972.
- [14] Wang G, Tam LS, Kwan BC, et al. Expression of miR-146a and miR-155 in the urinary sediment of systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Rheumatol*, 2012, 31(3): 435-440.
- [15] Perez-Hernandez J, Forner MJ, Pinto C, et al. Increased urinary exosomal microRNAs in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0138618.
- [16] Guan J, Wang G, Tam LS, et al. Urinary sediment ICAM-1 level in lupus nephritis[J]. *Lupus*, 2012, 21(11): 1190-1195.
- [17] Tangtanatakul P, Klinchanhom S, Sodsai P, et al. Down-regulation of let-7a and miR-21 in urine exosomes from lupus nephritis patients during disease flare[J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2018, 17(6): 1-8.
- [18] Abulaban KM, Fall N, Nunna R, et al. Relationship of cell-free urine microRNA with lupus nephritis in children [J]. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2016, 14(1): 4.
- [19] Khoshmirsafa M, Kianmehr N, Falak R, et al. Elevated expression of miR-21 and miR-155 in peripheral blood mononuclear cells as potential biomarkers for lupus nephritis[J]. *Int J Rheum Dis*, 2019, 22(3): 458-467.
- [20] 陈京京,王丹丹,周士亮,等. 系统性红斑狼疮患者外周血微小RNA的表达及临床意义[J]. *中华风湿病学杂志*, 2013, 17(1): 23-26.
- [21] Hashad DI, Abdelmagid MH, Elsherif SH. MicroRNA146a expression in lupus patients with and without renal complications [J]. *J Clin Lab Anal*, 2012, 26(1): 35-40.
- [22] Zhu Y, Xue Z, Di L. Regulation of MiR-146a and TRAF6 in the diagnose of lupus nephritis[J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23(1): 2550-2557.
- [23] Carlsen AL, Schetter AJ, Nielsen CT, et al. Circulating microRNA expression profiles associated with systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(5): 1324-1334.
- [24] Xiao H, Wei N, Su1 M, et al. Down-regulation of serum miR-151a-3p is associated with renal tissue activity in class IV lupus nephritis[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2018, 37(1): 67-72.
- [25] Wang W, Mou S, Wang L, et al. Up-regulation of serum miR-130b-3p level is associated with renal damage in early lupus nephritis[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(1): 12644.
- [26] 孙芳,李文双,滕舰,等. 狼疮肾炎患者循环 miRNA 表达谱研究及循环 miR-130b-3p 的临床意义[J]. *中华肾病研究电子杂志*, 2016, 30(1): 1-3.
- [27] Solé C, Cortés-Hernández J, Felip ML, et al. MiR-29c in urinary exosomes as predictor of early renal fibrosis in lupus nephritis [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2015, 30(9): 1488-1496.
- [28] Li Y, Xu X, Tang X, et al. MicroRNA expression profile of urinary exosomes in type IV lupus nephritis complicated by cellular crescent [J]. *J Biol Res (Thessalon)*, 2018, 25(1): 1-13.
- [29] 苏美玲,肖红波,葛雅婷,等. 血清 miR-4762-5p 在鉴别 IV 型和 IV + V 型狼疮性肾炎中的临床意义[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2017, 46(2): 205-209.
- [30] 李丹,冯爱桥,包佩玲,等. 微小 RNA-29c 在红斑狼疮性肾炎早期肾纤维化中的临床意义[J]. *临床内科杂志*, 2017, 34(5): 332-334.