

刘新磊,王珊珊,颜月香,等. 下调 miR-192 对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化的干预作用及机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(3): 48-53.

Liu XL, Wang SS, Yan YX, et al. Intervention of downregulating miR-192 in renal interstitial fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction and the mechanism involved [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(3): 48-53.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.03.008

下调 miR-192 对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化的干预作用及机制

刘新磊,王珊珊,颜月香,陈福莲*

(潍坊市益都中心医院,山东 潍坊 262500)

【摘要】 目的 探讨下调 miR-192 对单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)大鼠肾损伤后肾间质纤维化的干预作用及机制。方法 将 45 只雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、antagomir-192 组。除假手术组外,其他两组大鼠均通过左侧输尿管结扎建立肾间质纤维化大鼠模型。术后第 1、7、14 天 antagomir-192 组大鼠给予 antagomir-192 尾静脉注射,而假手术组和模型组大鼠给予等量生理盐水尾静脉注射。第 21 天后处死大鼠,实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测梗阻侧肾组织 miR-192 的表达变化,心脏取血测定大鼠血清中尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)含量,HE 染色观察梗阻侧肾组织形态学病理改变,Masson 染色计算梗阻侧肾间质胶原纤维沉积率,Western blotting 检测梗阻侧肾组织上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)相关标志物钙黏蛋白(E-cadherin)、 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、波形蛋白(vimentin)及 I 型胶原蛋白(collagen I)的表达变化。结果 与假手术组比较,模型组大鼠肾组织 miR-192 表达水平、血清中 BUN、Cr 含量、肾间质损伤评分、肾间质胶原纤维沉积率均显著升高($P < 0.01$),肾组织 E-cadherin 蛋白表达明显降低($P < 0.01$), α -SMA、vimentin 及 collagen I 蛋白的表达均明显升高($P < 0.01$)。与模型组比较,antagomir-192 组大鼠肾组织 miR-192 的表达水平、血清中 BUN、Cr 含量、肾间质损伤评分、肾间质胶原纤维沉积率均显著降低($P < 0.01$),肾组织 E-cadherin 蛋白表达明显增高($P < 0.01$), α -SMA、vimentin 及 collagen I 蛋白表达均明显降低($P < 0.01$)。结论 miR-192 在肾间质纤维化大鼠肾组织中表达升高,下调 miR-192 能够抑制 UUO 大鼠肾间质纤维化从而起到保护作用。

【关键词】 大鼠;输尿管梗阻;肾间质纤维化;miR-192

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 03-0048-06

Intervention of downregulating miR-192 in renal interstitial fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction and the mechanism involved

LIU Xinlei, WANG Shanshan, YAN Yuexiang, CHEN Fulian*

(Weifang Yi Du Central Hospital, Weifang 262500, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the effect of intervention of downregulating miR-192 on post-injury renal interstitial fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction (UUO), and the mechanism involved. **Methods** Forty-five healthy male SD rats were randomly divided into a sham group, model group, and antagomir-192 group. The rat model of renal interstitial fibrosis was constructed in all rats (except the sham group) through left ureter ligation. Rats in the

【基金项目】 山东省医药卫生科技发展计划面上项目(2017WSA07016)。

【作者简介】 刘新磊(1982—),女,本科,研究方向:肾脏疾病的预防及治疗。E-mail: liuxinleiwf@yeah.net

【通信作者】 陈福莲(1984—),女,医学博士,研究方向:糖尿病肾病。E-mail: chenfulian2000@yeah.net

antagomir-192 group were given tail vein injection of antagomir-192 on days 1, 7, and 14 after surgery, while rats in the sham group and model group were given tail vein injection of an equivalent amount of normal saline. All rats were sacrificed on day 21 after surgery. Changes in miR-192 expression in the obstruction-side renal tissues were detected through real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). Blood was collected from the heart to determine the serum levels of blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Cr) in rats, and the pathological changes in the obstruction-side renal tissues were observed using HE staining. Moreover, the obstruction-side renal interstitial collagen fiber deposition rate was calculated using Masson staining, and western blotting was performed to detect the changes in expression of epithelial-mesenchymal transition (EMT)-related markers, E-cadherin, α -smooth muscle actin (α -SMA), vimentin, and collagen I, in the obstruction-side renal tissues. **Results** Compared with the sham group, the miR-192 expression level in renal tissues, serum BUN and Cr levels, renal interstitial injury score, and renal interstitial collagen fiber deposition rate in the model group were markedly upregulated ($P < 0.01$); E-cadherin protein expression in renal tissues was notably downregulated ($P < 0.01$); while α -SMA, vimentin, and collagen I protein expression was dramatically elevated ($P < 0.01$). Compared with those in the model group, the miR-192 expression level in renal tissues, serum BUN and Cr levels, renal interstitial injury score, and renal interstitial collagen fiber deposition rate in the antagomir-192 group were remarkably reduced ($P < 0.01$); E-cadherin protein expression in renal tissues was evidently increased ($P < 0.01$); while α -SMA, vimentin, and collagen I protein expression was dramatically decreased ($P < 0.01$). **Conclusions** miR-192 expression is elevated in renal tissues of rats with renal interstitial fibrosis, and downregulating miR-192 can suppress renal interstitial fibrosis in UUO rats, thus exerting a protective effect.

【Keywords】 rat; ureteral obstruction; renal interstitial fibrosis; miR-192

肾间质纤维化是各种慢性肾脏疾病 (chronic kidney disease, CKD) 进展为终末期肾病的共同途径, 主要表现为细胞外基质成分在间质内过度沉积和肾间质成纤维细胞增生, 从而引起肾结构破坏、功能丧失^[1-2]。肾间质纤维化是决定 CKD 发生发展及预后的重要因素, 早期治疗甚至逆转肾间质纤维化对阻止 CKD 进展具有重要意义。微小 RNA (microRNAs, miRNAs) 是一类内源性非编码小分子 RNA, 具有高度的保守性, 在细胞增殖、分化、凋亡、功能调节方面起着重要的作用。研究表明 miRNAs 在肾脏细胞组织发育、肾功能及内环境稳定方面起着极其重要的作用^[3]。在伴有肾纤维化的 CKD 动物模型或者患者肾组织中存在大量异常表达的 miRNAs, 可能参与了肾纤维化的发生进展^[4]。miR-192 是肾特异性表达的 miRNAs 之一, 在多种急慢性肾脏疾病的发生发展过程中异常表达^[5-6]。研究显示 miR-192 与多种慢性疾病造成的器官纤维化密切相关, 在肝^[7]、皮肤瘢痕^[8]、心脏^[9]、腹膜^[10]等器官纤维化组织中表达明显异常, 可能参与了器官纤维化的进程。目前有关 miR-192 与肾间质纤维化关系的研究较少, 并且具体作用机制尚不明确。本研究中我们通过建立经典的肾间质纤维化动物模型-单侧输尿管梗阻 (unilateral ureteral obstruction, UUO) 大鼠模型, 探讨 miR-192 在肾间质纤维化大鼠肾组织中的表达变化及其下调 miR-192 对大鼠肾间质纤

维化的影响和可能的机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

雄性 SPF 级 SD 大鼠 45 只, 鼠龄 6 周, 体重 190 ~ 240 g, 购自山东大学动物实验中心 [SCXK (鲁) 2017-0009]。常规饲养, 适应环境 [SYXK (鲁) 2014-0008] 1 周。本研究整个实验过程中严格按照实验动物使用的 3R 原则给予人道主义关怀 [IACUC NO.2016-23]。

1.2 主要试剂与仪器

尿素氮 (BUN) 和肌酐 (Cr) 测定试剂盒购自瑞士罗氏公司; TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司; 逆转录试剂盒和实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 试剂盒购自大连宝生物工程公司; miR-192 抑制剂 antagomir-192 及全部 PCR 引物均购自广州锐博生物公司; Masson 染色试剂盒购自福州迈新生物公司; 一抗兔抗鼠钙黏蛋白 (E-cadherin)、 α 平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、波形蛋白 (vimentin) 及 I 型胶原蛋白 (collagen I)、GAPDH 抗体均购自美国 Santa Cruz 公司; HRP 标记的羊抗兔二抗购自武汉博士德生物公司。LightCycle 96 荧光定量 PCR 仪购自瑞士 Roche 公司; 电泳仪、凝胶成像系统购自美国 Bio-Rad 公司; 7100 型日立全自动生化分析仪购自日本日立公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物分组及模型建立

SD 大鼠常规饲养,适应环境 1 周后,所有 SD 大鼠按随机分为手术组、模型组、antagomir-192 组,每组 15 只。模型组和 antagomir-192 组参考文献的方法^[11-12]建立肾间质纤维化动物模型-UUO 大鼠模型,方法简述如下:大鼠麻醉成功后于左侧肋缘下脊柱旁开 1.5 cm 处切开腹腔分离暴露左肾,游离左侧近肾盂端输尿管,于靠近肾门处和输尿管上 1/3 水平分别以 4-0 号丝线结扎输尿管后离断输尿管,缝合腹腔。假手术组麻醉成功后仅切开腹腔暴露左肾,游离左侧近肾盂端输尿管,但不结扎和离断输尿管。术后第 1、7、14 天 antagomir-192 组大鼠给予 antagomir-192 (30 mg/kg) 尾静脉注射,而假手术组和模型组大鼠给予等量生理盐水尾静脉注射,术后第 21 天麻醉处死所有 SD 大鼠,取大鼠左侧肾组织,留取一部分肾组织置于 4% 多甲醛溶液中固定,用于病理切片染色;剩余左肾组织经液氮中速冻后转移至 -80℃ 冰箱保存,用于提取 mRNA 及蛋白。

1.3.2 qRT-PCR 检测各组大鼠肾组织 miR-192 的表达

取冻存肾组织,TRIzol 法提取肾组织中总 RNA,紫外分光光度计测定总 RNA 浓度。取总 RNA,按照逆转录试剂盒说明书操作逆转录合成 cDNA。以 cDNA 为模板,用 miR-192 引物参照 qRT-PCR 试剂盒说明书配置 PCR 体系后进行 PCR 反应,引物序列:miR-192 上游引物:5'-GGGGCTGACCTATGAATTGA-3',下游引物:5'-CAGTGCAGGGTCCGAGGT-3'。内参 U6 上游引物:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物:5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。PCR 反应条件:95℃,10 min;95℃,15 s,60℃,60 s,45 个循环后结束。以 U6 作为 miR-192 的内参基因,miR-192 的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.3.3 各组大鼠血清 BUN 和 Cr 水平的检测

麻醉处死大鼠后心脏取血 2 mL,以 3000 r/min,离心半径 15 cm 离心 15 min 取上清液,应用全自动生化分析仪检测各组大鼠血清 BUN 和 Cr 的水平。

1.3.4 各组大鼠肾组织 HE 染色和 Masson 染色

取多聚甲醛固定的肾组织,酒精脱水、二甲苯透明,石蜡浸润包埋后,切片机制作 4 μm 厚石蜡切片,45℃ 恒温箱烘干,再将切片经过二甲苯脱蜡、浸

泡等常规处理后进行 HE 或 Masson 染色,光镜下观察肾组织的病理学改变。HE 染色:苏木精染色 5 min,1% 盐酸酒精和 1% 氨水酒精分色,蒸馏水冲洗后,1% 伊红染色 3 min,酒精脱水、二甲苯透明,中性树胶封片。参考文献进行肾小管间质损伤评分^[12],评分标准如下:0 分,肾小球无病变;1 分,肾小球病变范围 < 25%;2 分,肾小球病变范围 25% ~ 50%;3 分,肾小球病变范围 51% ~ 75%;4 分,肾小球病变范围 > 75%。Masson 染色:Masson 染液染色 5 min,以醋酸洗液冲洗 3 遍,再以磷钨酸染色 7 min,醋酸洗液冲洗 3 遍,甲苯胺蓝染色 2 min,以醋酸洗液冲洗 3 遍后,酒精脱水、二甲苯透明,中性树胶封片。参考文献的方法^[13]计算肾间质胶原纤维沉积率:每张切片随机选取 10 个肾小管间质不相重叠的视野,蓝色为 Masson 阳性染色区(纤维化区),应用 Image Pro plus 图像分析软件进行图像面积分析,肾间质胶原纤维沉积率 = 阳性染色区面积 / 肾间质总面积 × 100%。

1.3.5 Western blotting 检测各组大鼠肾组织 E-cadherin、α-SMA、vimentin 及 collagen I 蛋白的表达

RIPA 裂解液提取各组大鼠肾组织总蛋白,二喹啉甲酸 (BCA) 法测定蛋白浓度。蛋白上样进行 SDS-Page 电泳,将蛋白电转移至 PVDF 膜后,用 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h。加入一抗 (E-cadherin、α-SMA、vimentin、collagen I 及 GAPDH 抗体),摇床 4℃ 孵育过夜,TBST 洗膜 3 次,再加入 HRP 标记的二抗,室温下孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次后, ECL 显像曝光。采集图像用 Quality One 进行条带灰度值测定,以目的条带灰度值与内参条带灰度值的比值表示蛋白的表达水平。

1.4 统计学方法

数据采用 SPSS 19.0 进行统计分析,计量资料以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,比较采用 *t* 检验或单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肾组织中 miR-192 的表达

qRT-PCR 结果如图 1 所示:假手术组、模型组、antagomir-192 组大鼠肾组织中 miR-192 的相对表达水平分别为 (1.04 ± 0.04)、(7.41 ± 0.39)、(1.45 ± 0.17)。与假手术组比较,模型组大鼠肾组织 miR-192 的表达水平明显升高 ($P < 0.05$)。与模型组比

较, antagomir-192 组大鼠肾组织 miR-192 的表达明显降低 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠肾功能检测

各组大鼠血清 BUN 和 Cr 检测结果如表 1 所示: 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 BUN、Cr 水平

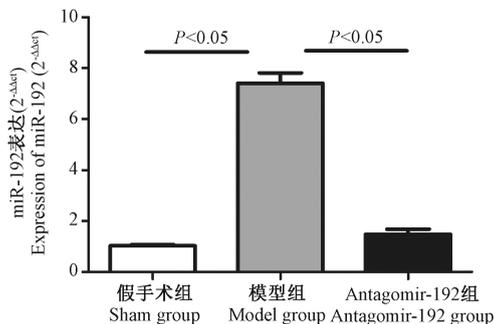


图 1 qRT-PCR 检测各组大鼠肾组织 miR-192 的表达

Figure 1 qRT-PCR detection of the expression of miR-192 in renal tissues of rats in each group

明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, antagomir-192 组大鼠血清 BUN 和 Cr 明显下降 ($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠肾间质损伤评分及肾间质胶原纤维沉积率

HE 染色结果如图 2 所示, 假手术组大鼠肾间质未见明显损伤表现; 模型组大鼠肾可见肾小管管腔明显闭塞或扩张, 间质增宽, 肾间质大量炎症反应细胞浸润; antagomir-192 组大鼠病理性改变较模型组明显减轻。各组大鼠肾间质损伤评分如表 2 所示: 模型组大鼠肾间质损伤评分明显高于假手术组 ($P < 0.05$), 而 antagomir-192 组大鼠肾间质损伤评分明显低于模型组 ($P < 0.05$)。

Masson 染色结果如图 3 所示, 肾间质胶原纤维沉积率结果如表 2 显示: 模型组大鼠肾间质胶原纤维沉积率明显高于假手术组 ($P < 0.05$), 而 antagomir-192 组大鼠肾间质胶原纤维沉积率明显低于模型组 ($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠肾功能比较 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 1 Comparison of renal function in each group of rats

组别 Groups	Cr ($\mu\text{mol/L}$)	BUN (mmol/L)
假手术组 Sham group	44.6 ± 11.4	5.4 ± 0.9
模型组 Model group	67.9 ± 13.1 [#]	7.4 ± 1.3 [#]
Antagomir-192 组 Antagomir-192 group	53.9 ± 10.9 ^{#*}	6.3 ± 0.7 ^{#*}

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

Note. Compared with the sham group, [#] $P < 0.05$. Compared with the model group, * $P < 0.05$.

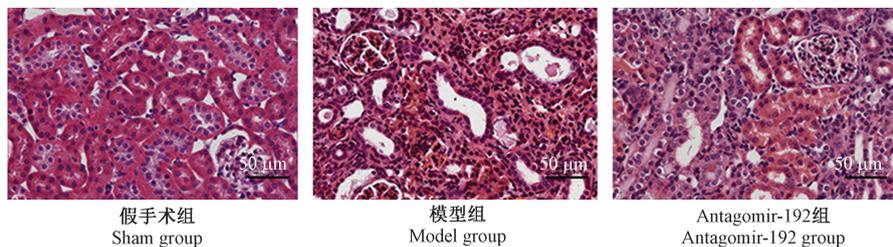


图 2 大鼠肾组织的病理学改变 (HE 染色, $\times 200$)

Figure 2 Pathological changes in the rat renal tissues. HE staining

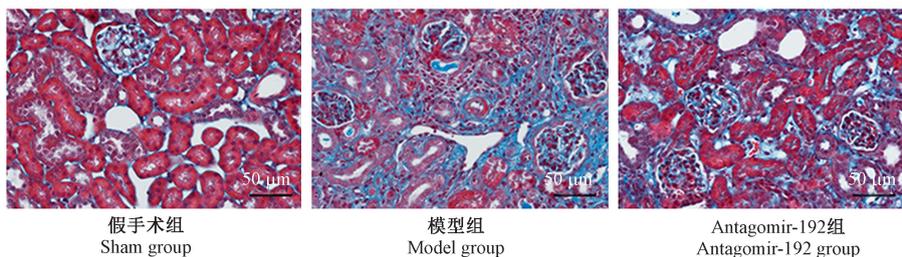


图 3 大鼠肾组织的病理学改变 (Masson 染色, $\times 200$)

Figure 3 Pathological changes of the rat renal tissues. Masson staining

表 2 各组大鼠肾间质损伤评分及肾间质胶原纤维沉积率比较 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

Table 2 Comparison of renal interstitial injury scores and collagen fibril deposition rate in each group of the rats

组别 Groups	肾间质损伤评分(分) Renal interstitial injury scores(score)	肾间质胶原纤维沉积率(%) Renal interstitial collagen deposition rate
假手术组 Sham group	0.11±0.09	6.2±0.7
模型组 Model group	3.12±0.26 [#]	45.9±5.2 [#]
Antagomir-192 组 Antagomir-192 group	2.36±0.19 ^{#*}	32.1±3.7 ^{#*}

注:与假手术组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$ 。

Note. Compared with the sham group,[#] $P<0.05$. Compared with the model group,^{*} $P<0.05$.

2.4 各组大鼠肾组织中 E-Cadherin、 α -SMA、Vimentin 及 Collagen I 蛋白的表达

Western blotting 结果显示:模型组大鼠肾组织中 E-cadherin 蛋白表达较假手术组明显降低 ($P<0.05$), α -SMA、vimentin 及 collagen I 蛋白的表达较假手术组明显升高 ($P<0.05$); 而 antagomir-192 组大鼠肾组织中 E-cadherin 蛋白表达较模型组明显升高 ($P<0.05$), α -SMA、vimentin 及 collagen I 蛋白的表达较模型组明显降低 ($P<0.05$)。(见图 4)。

中发挥着重要的作用,并且在肾间质纤维化的发生进展中发挥着一定的作用^[15-17]。

miR-192 是肾特异性表达的 miRNAs 之一,近期其与急慢性肾脏疾病及器官纤维化的关系受到人们的广泛关注^[5-10]。UUO 动物模型是目前研究肾纤维化发病机制、肾细胞分化以及评价肾纤维化治疗方法的理想的动物模型^[18]。为了研究 miR-192 与肾间质纤维化的关系。本研究中我们通过 UUO 建立肾纤维化大鼠模型。研究结果显示模型组大鼠血清 BUN、Cr 水平较假手术组明显升高,肾组织 HE 染色结果显示模型组大鼠肾可见肾小管管腔明显闭塞或扩张,间质增宽,肾间质大量炎性反应细胞浸润,而假手术组大鼠肾间质未见明显损伤表现,模型组大鼠肾间质损伤评分及肾间质胶原纤维沉积率明显高于假手术组,以上提示本研究中 UUO 大鼠模型造模成功。进一步我们通过 qRT-PCR 检测大鼠肾组织中 miR-192 表达发现,模型组大鼠肾组织中 miR-192 表达水平较假手术组明显升高,提示 miR-192 在肾间质纤维化中可能发挥着重要的作用。为了进一步验证 miR-192 在肾间质纤维化中的作用,我们通过尾静脉给予 UUO 大鼠注射 miR-192 抑制剂 antagomir-192,成功下调了 UUO 大鼠肾组织中 miR-192 的表达水平,结果显示 antagomir-192 组大鼠血清 BUN 和 Cr 水平明显降低,病理性改变较模型组明显减轻,并且肾间质损伤评分和肾间质胶原纤维沉积率也明显降低,提示下调 miR-192 能够抑制 UUO 大鼠肾间质纤维化。

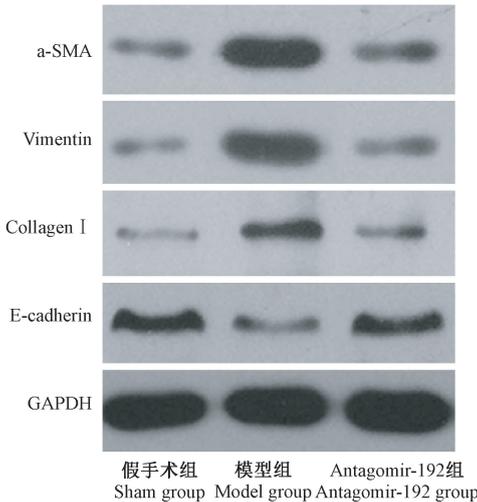


图 4 Western blotting 检测 E-cadherin、 α -SMA、vimentin 及 collagen I 蛋白的表达

Figure 4 Western blotting results of the expression of E-cadherin, α -SMA, vimentin, and collagen I proteins

3 讨论

肾间质纤维化是 CKD 进展至终末期肾病的最终结局,是多种细胞因子和信号通路参与的复杂的过程,迄今为止,其具体发生进展机制尚未完全清楚,并且临床上仍缺乏能够有效阻滞或者延缓肾间质纤维化的有效治疗方法^[14]。近年来研究显示 miRNAs 在细胞增殖、分化、凋亡、疾病的发生进展

近年来随着对器官纤维化的研究深入发现上皮-间充质转分化(epithelial mesenchymal transition, EMT)在包括肾在内的众多器官纤维化过程中发挥着重要的作用^[19]。在 EMT 的过程中,上皮表型特征标志物如 E-cadherin 等表达下调,上皮细胞极性消失及黏附性降低,间充质表型特征标志物 vimentin 及 α -SMA 等上调,并伴有 collagen I 蛋白等

基质组分表达增加^[20]。Iwano 等^[21]在对 UUO 大鼠模型的研究中发现,在肾间质纤维化中,新形成的成纤维细胞大部分来源于 EMT。本研究中我们也发现模型组大鼠肾组织中 E-cadherin 蛋白表达较假手术组明显降低, α -SMA、vimentin 及 collagen I 蛋白的表达较假手术组明显升高,提示 EMT 在 UUO 大鼠肾间质纤维化中也起着重要的作用。近年来研究显示 miR-192 在 EMT 的调控中发挥着重要的作用^[22-23]。但 miR-192 在肾间质纤维化中的作用是否也是通过调控 EMT 来实现的尚不清楚。本研究中我们发现 antagomir-192 组大鼠肾组织中 E-cadherin 蛋白表达较模型组明显升高, α -SMA、vimentin 及 collagen I 蛋白的表达较模型组明显降低,提示下调 miR-192 对 UUO 大鼠肾间质纤维化的保护作用可以通过调控 EMT 来实现。

综上所述,miR-192 在肾间质纤维化大鼠肾组织中表达升高,下调 miR-192 可能能够通过调控 EMT 抑制 UUO 大鼠肾间质纤维化从而起到保护作用,从而为肾纤维化的治疗提供新的研究方向。

参考文献:

[1] 肖程程,张杰.肾纤维化的细胞和分子基础[J].中国医药导报,2017,14(7):45-48.

[2] 程茜,王玉.抑制 Src 激酶可减轻单侧输尿管梗阻小鼠肾间质纤维化[J].中华肾脏病杂志,2017,33(8):609-615.

[3] Ichii O, Horino T. MicroRNAs associated with the development of kidney diseases in humans and animals[J]. J Toxicol Pathol, 2018, 31(1):23-34.

[4] Petrillo F, Iervolino A, Zacchia M, et al. MicroRNAs in renal diseases: A potential novel therapeutic target[J]. Kidney Dis (Basel), 2017, 3(3):111-119.

[5] Kito N, Endo K, Ikese M, et al. miRNA profiles of tubular cells: Diagnosis of kidney injury[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015:465479.

[6] 樊启晨,张路路,严玉澄,等.微小 RNA-192 在肾脏疾病中的研究进展[J].中国中西医结合肾病杂志,2016,17(9):836-838.

[7] Kim JH, Lee CH, Lee SW. Hepatitis C virus infection stimulates transforming growth factor- β 1 expression through up-regulating miR-192[J]. J Microbiol, 2016, 54(7):520-526.

[8] Li Y, Zhang J, Zhang W, et al. MicroRNA-192 regulates hypertrophic scar fibrosis by targeting SIP1[J]. J Mol Histol, 2017, 48(5-6):357-366.

[9] Fang L, Ellims AH, Moore XL, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for diffuse myocardial fibrosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy[J]. J Transl Med, 2015, 13:314.

[10] Lin F, Wu X, Zhang H, et al. A microRNA screen to identify regulators of peritoneal fibrosis in a rat model of peritoneal dialysis[J]. BMC Nephrol, 2015, 16:48.

[11] 陈雁,牛潼,白海涛,等.eNOS/NO 途径在单侧输尿管梗阻小鼠肾间质微血管病变中的作用与机制[J].中国实验动物学报,2015,23(5):484-489.

[12] Chen J, Li D. Telbivudine attenuates UUO-induced renal fibrosis via TGF- β /Smad and NF- κ B signaling [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 55:1-8.

[13] Saito T, Sumithran E, Glasgow EF, et al. The enhancement of aminonucleoside nephrosis by the co-administration of protamine [J]. Kidney Int, 1987, 32(5):691-699.

[14] Duffield JS. Cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis [J]. J Clin Invest, 2014, 124(6):2299-2306.

[15] Sun W, Min B, Du D, et al. miR-181c protects CsA-induced renal damage and fibrosis through inhibiting EMT [J]. FEBS Lett, 2017, 591(21):3588-3599.

[16] Bijkerk R, de Bruin RG, van Solingen C, et al. Silencing of microRNA-132 reduces renal fibrosis by selectively inhibiting myofibroblast proliferation[J]. Kidney Int, 2016, 89(6):1268-1280.

[17] Fang Y, Xie T, Xue N, et al. miR-382 contributes to renal tubulointerstitial fibrosis by downregulating HSPD1 [J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017:4708516.

[18] Klahr S, Morrissey J. Obstructive nephropathy and renal fibrosis [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2002, 283(5):F861-F875.

[19] Carew RM1, Wang B, Kantharidis P. The role of EMT in renal fibrosis[J]. Cell Tissue Res, 2012, 347(1):103-116.

[20] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(3):178-196.

[21] Iwano M, Plieth D, Danoff TM, et al. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis[J]. J Clin Invest, 2002, 110(3):341-350.

[22] Zhang X, Peng Y, Huang Y, et al. SMG-1 inhibition by miR-192/-215 causes epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinogenesis via activation of Wnt signaling[J]. Cancer Med, 2018, 7(1):146-156.

[23] Du X, Qi F, Lu S, et al. SMG-1 inhibition by miR-192/-215 causes epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinogenesis via activation of Wnt signaling[J]. Cancer Med, 2018, 7(1):146-156.