

[文章编号] 1007-0893(2024)10-0007-04

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2024.10.002

LncRNA TPTEP1/miR-137/KLF15 轴在肥胖相关性肾病中的作用机制研究

薛正彪 钟恒泉 吴超瑜 郭宗文 谢江波

(赣南医科大学第一附属医院, 江西 赣州 341000)

[摘要] 目的: 探讨长链非编码核糖核酸(LncRNA)人肌力蛋白磷酸酶同源假基因1(TPTEP1)/微小核糖核酸-137(miR-137)/Kruppel样因子15(KLF15)轴在肥胖相关性肾病(ORKD)中的作用机制。方法: 选择赣南医科大学第一附属医院2022年2月至2024年1月20例ORKD住院者为ORKD组, 同期住院的非ORKD患者20例为对照组, 采集血液进行生化检验, 通过免疫组化及电镜检查肾活检标本病理变化, 利用生物信息学工具对比分析ORKD组织与正常肾组织中KLF15信使核糖核酸(mRNA)的表达水平, 酶联免疫吸附试验分析血清脂联素、瘦素水平。结果: ORKD组患者的血肌酐(Scr)、尿酸(UA)、24h尿蛋白定量(24h-UTP)水平高于对照组, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$); ORKD组肾组织KLF15表达水平、血清脂联素水平相比于对照组明显降低, 瘦素水平明显增加, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$); 高通量测序筛查LncRNA发现, ORKD组ENSG00000100181.15表达差异大, miR-137可能是LncRNA TPTEP1的靶基因, LncRNA TPTEP1在机体多种组织中均有表达, 其中包括肾脏及脂肪组织。结论: ORKD的肾组织中KLF15和脂联素的异常可能与疾病的发展有关, LncRNA TPTEP1/miR-137/KLF15轴在ORKD发展过程中发挥着重要的作用。

[关键词] 肥胖相关性肾病; 人肌力蛋白磷酸酶同源假基因1; 微小核糖核酸-137; Kruppel样因子15; 长链非编码核糖核酸

[中图分类号] R 692.9 [文献标识码] B

The Mechanism of Action of LncRNA TPTEP1/ miR-137/ KLF15 Axis in Obesity Associated Nephropathy

XUE Zhengbiao, ZHONG Hengquan, WU Chaoyu, GUO Zongwen, XIE Jiangbo
(First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Jiangxi Ganzhou 341000)

[Abstract] Objective To investigate the mechanism of long non-coding ribonucleic acid (LncRNA) human myodynamin phosphatase homologous pseudogene 1 (TPTEP1)/microrna-137 (miR-137)/Kruppel-like factor 15 (KLF15) axis in obesity-related nephropathy (ORKD). Methods A total of 20 patients with ORKD hospitalized from the First Affiliated Hospital of Gannan Medical University from February 2022 to January 2024 were selected as the ORKD group, and 20 patients with non-ORKD hospitalized during the same period were selected as the control group. Blood samples were collected for biochemical examination, and pathological changes of renal biopsy specimens were examined by immunohistochemistry and electron microscopy. The bioinformatics tools were used to compare and analyze the expression levels of KLF15 messenger ribonucleic acid (mRNA) in ORKD tissues and normal renal tissues, and enzyme-linked immunosorbent assay was used to analyze serum adiponectin and leptin levels. Results The levels of serum creatinine (Scr), uric acid (UA) and 24h urinary protein (24H-UTP) in ORKD group were higher than those in the control group, with statistical significances ($P < 0.05$). Compared with the control group, the expressions of KLF15 in renal tissue and serum adiponectin level in the ORKD group were significantly reduced compared to the control group, while the level of leptin was significantly increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). After LncRNA screening by high-throughput sequencing, it was found that the expression of ENSG00000100181.15 in ORKD group was significantly different, and miR-137 may be the target gene of LncRNA TPTEP1, which was expressed in various tissues of the body, including kidney and adipose tissue. Conclusion The abnormal function of KLF15 in ORKD renal tissue and adiponectin may be related to the development of the disease, and the LncRNA TPTEP1/ miR-137 /KLF15 axis plays an important role in the development of ORKD.

[收稿日期] 2024 - 03 - 05

[基金项目] 赣州市科技计划项目(GZ2023ZSF100)

[作者简介] 薛正彪, 男, 主治医师, 主要研究方向是 ARDS、急性肾损伤、心力衰竭, 呼吸衰竭的诊治。

[Keywords] Obesity-related kidney disease; Human muscle protein phosphatase homologous pseudogene 1; Micro ribonucleic acid-137; Kruppel-like factor 15; Long non-coding ribonucleic acid

肥胖是一种常见的代谢性疾病, 不仅与心血管疾病、糖尿病等多种疾病的发生相关, 还与肥胖相关性肾病 (obesity-related kidney disease, ORKD) 的发生密切相关^[1]。ORKD 是指肥胖导致的肾脏病变, 其发生率逐年增加, 且对患者的生活质量和预后造成了较大的影响。因此, 研究 ORKD 的发病机制对于防治该疾病具有重要的临床意义^[2]。目前, 已经有研究表明长链非编码核糖核酸 (long non-coding ribonucleic acid, LncRNA) 在肥胖相关性疾病的发生中发挥着重要的调控作用。过多的脂肪在肾周蓄积会促进 LncRNA 人肌力蛋白磷酸酶同源假基因 1 (human muscle protein phosphatase homologous pseudogene 1, TPTEP1) 在肾小囊脏层上皮细胞中的表达上调^[3]。相关研究发现^[4], TPTEP1 与微小核糖核酸-137 (micro ribonucleic acid-137, miR-137) 结合, 抑制了靶基因 Kruppel 样因子 15 (Kruppel-like factor 15, KLF15) 的表达, 从而导致 KLF15 的下调, 进而促使 ORKD 的发生, 这一发现揭示出 TPTEP1/miR-137/KLF15 轴在 ORKD 发生中的重要作用。TPTEP1 通过与 miR-137 结合形成复合体, 在肾小囊脏层上皮细胞中发挥调控作用, 抑制了 KLF15 的表达。而 KLF15 作为一个转录因子, 在调节能量代谢和维持肾脏功能方面具有重要作用^[5]。因此, TPTEP1 的上调会抑制 KLF15 的表达, 从而破坏了正常的代谢平衡和肾脏功能, 诱导了 ORKD 的发生。本研究旨在验证 LncRNA TPTEP1/miR-137/KLF15 信号轴调控 ORKD 的病理进程, 以为通过靶向 LncRNA 来治疗 ORKD 的作用机理提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择赣南医科大学第一附属医院 2022 年 2 月至 2024 年 1 月确诊的 ORKD 住院患者 20 例为 ORKD 组, 同时收集医院住院的非 ORKD 患者 20 例为对照组。ORKD 组男 13 例, 女 7 例; 年龄 27~64 岁, 平均 (42.15±3.41) 岁。对照组男 12 例, 女 8 例; 年龄 25~65 岁, 平均 (41.89±2.39) 岁。两组研究对象的性别、年龄等一般资料比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。本研究经赣南医科大学第一附属医院医学伦理委员会批准同意 (批准号: LLSC-2023 第 271 号)。

1.2 纳入与排除标准

1.2.1 纳入标准 (1) 均是首次进行接受肾活检穿刺者; (2) 成年人; (3) ORKD 组均是经活检组织确定; (4) 研究的开展征得研究对象本人的知情同意。

1.2.2 排除标准 (1) 合并过敏性紫癜、乙型肝炎肝硬化、肿瘤疾病患者; (2) 合并类风湿性关节炎、强直

性脊柱炎、血液系统疾病的患者; (3) 存在激素、环磷酰胺、他克莫司等药物使用史者; (4) 活检取材不完全者。

1.3 方法

1.3.1 常规生化检验 采集所有研究对象的外周静脉血和 24 h 尿液, 通过生化检验分析仪检测以下指标:

(1) 血常规指标。白细胞计数 (white blood cell count, WBC)、中性粒细胞计数 (neutrophil count, Neu)、淋巴细胞计数 (lymphocyte count, Lym)、血小板计数 (platelet count, PLT)。(2) 血清生化指标: 尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、血肌酐 (serum creatinine, Scr)、总蛋白 (total protein, TP)、白蛋白 (albumin, ALB)、总胆固醇 (total cholesterol, TCHO)、三酰甘油 (triacylglycerol, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)。(3) 尿液检测指标: 24 h 尿蛋白定量 (24 h urinary protein quantification, 24h-UTP)。

1.3.2 肾脏病理学改变 所有肾活检标本送检病理检查, 标本均是经常规苏木精-伊红染色法 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色和 Masson 染色。HE 染色: 组织切片经过二甲苯脱蜡, 100%、95%、70% 乙醇进行水化。苏木精染液染色 5~10 min, 分化液去除多余的苏木精, 用伊红染液染色, 染色时间为 1~5 min。Masson 染色: 与 HE 染色步骤相同, 纤维素用苯胺蓝染液进行染色, 染色时间为 15~30 min, 苯胺蓝染液主要染胶原纤维。光学显微镜下观察肾小球、肾小管间质和肾血管病变的性质和程度。

1.3.3 肾组织 KLF15 mRNA 表达 利用生物信息学工具 Cancer RNA-seq Nexus (<http://syslab4.nchu.edu.tw/>) 和 UALCAN (<http://ualcan.Path.Uab.edu/index.html>) 分析 TCGA 数据库中样本的 RNA 序列数据 (20 例 ORKD 组织、20 例正常肾组织), 对比分析 ORKD 组织与正常肾组织中 KLF15 信使核糖核酸 (messenger RNA, mRNA) 的表达水平。

1.3.4 脂联素及瘦素水平 采集患者静脉血液, 血液经离心机以 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度、离心半径 5 cm, 持续离心 15 min 分离血清, 采取酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测脂联素、瘦素水平。

1.3.5 高通量测序 提取总 RNA, 根据 RNA 种类分别进行文库构建, 使用 HiSeq 2500 进行高通量测序, 使用 FastQC 对原始序列进行检测, 保留高质量的整洁序列 (clean reads)。使用 Cufflinks 2.0 对所有转录组结果进行汇总整合, 并使用 Ensemble 转录本数据库对获得结果进行注释。获取组间差异表达 LncRNA TPTEP1、

miR-137、KLF15 后，根据基因间调控关系，构建基因调控网络。为提高所构建基因间调控关系的可靠性，使用 Pearson 相关分析和 starBase v2.0 靶基因数据库交叉印证，筛选组合成基因调控网络，并使用 cytoscape 3.3 进行可视化。

1.4 观察指标

(1) 比较两组研究对象常规生化检验指标的结果；(2) 观察肾组织病理学改变；(3) 脂联素、瘦素水平情况；(4) 分析 LncRNA TPTEP1、miR-137 及 KLF15 表达水平与 ORKD 的关系。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 *t* 检验，计数资料用百分比表示，采用 χ^2 检验， $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者常规生化检验指标比较

ORKD 组患者的 Scr、UA、24h-UTP 检测水平高于对照组，差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)，其他的生化指标的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)，见表 1。

表 1 两组患者常规生化检验指标比较

($n = 20, \bar{x} \pm s$)

组别	WBC/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	Neu/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	Lym/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	PLT/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	BUN/mmol $\cdot L^{-1}$	Scr/ $\mu mol \cdot L^{-1}$	UA/ $\mu mol \cdot L^{-1}$
对照组	7.21 \pm 1.02	5.31 \pm 0.78	1.91 \pm 0.35	232.86 \pm 30.14	4.65 \pm 0.72	70.21 \pm 8.14	351.12 \pm 40.36
ORKD 组	12.25 \pm 1.42	7.25 \pm 1.12	1.86 \pm 0.36	234.41 \pm 30.25	4.85 \pm 0.71	134.41 \pm 18.25 ^a	661.15 \pm 62.25 ^a

组别	TP/g $\cdot L^{-1}$	ALB/g $\cdot L^{-1}$	TCHO/mmol $\cdot L^{-1}$	TG/mmol $\cdot L^{-1}$	LDL-C/mmol $\cdot L^{-1}$	HDL-C/mmol $\cdot L^{-1}$	24h-UTP/mg
对照组	68.89 \pm 4.69	44.63 \pm 2.15	4.13 \pm 0.62	1.14 \pm 0.21	1.82 \pm 0.25	1.68 \pm 0.42	130.25 \pm 14.86
ORKD 组	54.45 \pm 5.62	40.25 \pm 1.52	4.72 \pm 0.75	1.95 \pm 0.26	2.51 \pm 0.46	1.04 \pm 0.35	226.65 \pm 23.35 ^a

注：ORKD 一肥胖相关性肾病；WBC 一白细胞计数；Neu 一中性粒细胞计数；Lym 一淋巴细胞计数；PLT 一血小板计数；BUN 一尿素氮；Scr 一血肌酐；UA 一尿酸；TP 一总蛋白；ALB 一白蛋白；TCHO 一总胆固醇；TG 一三酰甘油；LDL-C 一低密度脂蛋白胆固醇；HDL-C 一高密度脂蛋白胆固醇；24h-UTP 一 24 h 尿蛋白定量。
与对照组比较，^a $P < 0.05$ 。

2.2 肾脏病理学观察

经 HE 染色光镜下对照组肾小球、肾小管及间质结构正常，ORKD 组 HE 染色见肾小球系膜基质轻度增生，间质内可见炎症细胞浸润，肾小管管腔扩张，小管上皮细胞坏死脱落。对照组系膜基质清晰，无细胞浸润，肾小管管腔闭合，见插图 2 图 1。Masson 染色 ORKD 组可见增宽的间质区内胶原纤维增生，间质纤维化呈灶状分布，对照组各间质界限清晰，分隔明晰，见插图 2 图 2。

2.3 肾组织 KLF15 mRNA 表达水平与血清脂联素、瘦素水平比较

ORKD 组肾组织 KLF15 mRNA 相对表达量 0.56 ± 0.07 低于正常肾组织的 8.84 ± 1.26 ，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)；血清脂联素的水平相比于对照组明显减少，瘦素表达明显增加，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)，见表 2。

表 2 两组患者血清脂联素、瘦素比较 ($n = 20, \bar{x} \pm s$)

组别	脂联素/mg $\cdot L^{-1}$	瘦素/mg $\cdot L^{-1}$
对照组	11.41 \pm 1.05	6.72 \pm 1.09
ORKD 组	6.48 \pm 1.07 ^b	10.66 \pm 1.35 ^b

注：与对照组比较，^b $P < 0.05$ 。

2.4 LncRNA TPTEP1/miR-137/KLF15 促进 ORKD 形成的分子机制

高通量测序筛查 LncRNA 后发现，ORKD 组 ENSG00000100181.15 表达差异性较大，见封三图 3；运用 miRcode 软件查找 ENSG00000100181.15 后发现，

ENSG00000100181.15 即是 LncRNA TPTEP1。获得相对的每组表达量后与高通量测序相对结果进行比较，miR-137 关键节点表达水平与高通量测序结果一致，显示 miR-137 为 LncRNA TPTEP1 的靶基因。

3 讨论

ORKD 是肥胖患者常见的肾脏并发症之一，其可导致肾脏功能异常^[6]。Scr、UA 和 24h-UTP 等指标在 ORKD 患者中呈现升高，反映了肾功能受损的情况。

本研究发现，LncRNA TPTEP1、miR-137 和 KLF15 在 ORKD 的发生和发展中扮演关键角色，Bian 等^[7]的研究指出，LncRNA TPTEP1 的表达变化与 ORKD 的发展密切相关，另外，miR-137 作为 miRNA 分子，在 ORKD 中也发挥着重要作用。通过对 miR-137 的表达变化和其对靶基因的调控作用进行研究，可以深入了解其在 ORKD 发展中的作用机制。与此同时，KLF15 作为转录因子，在 ORKD 中也具有关键功能^[8-9]。进一步研究 KLF15 在 ORKD 中的表达调控和其下游靶基因的调节作用，有助于揭示其在 ORKD 发展中的机制和生物学功能。

本研究还发现 miR-137 可能是 LncRNA TPTEP1 的靶基因，二者之间存在调控关系。LncRNA TPTEP1 可通过与 miR-137 结合来影响 miR-137 对其他靶基因的调控，进而影响 ORKD 的发展。此外，KLF15 的表达水平在 ORKD 患者中明显降低，而瘦素的表达则增加^[10]。通过调控 miR-137 的表达，LncRNA TPTEP1 间接影响了 KLF15 的表达水平。KLF15 的减少与 ORKD 的发生和发

展密切相关。

综上所述, LncRNA TPTEP1、miR-137 和 KLF15 的异常表达可能导致 ORKD 患者肾脏功能的损伤。然而, 对这些分子在 ORKD 发展过程中具体调控机制的进一步研究仍然尚需深入研究, 以为 ORKD 的治疗提供更准确的靶点和策略。

[参考文献]

- [1] 殷颖杰, 黄钦, 周红瑜, 等. lncRNA NEAT1/miR-181a-5p/bcl-2 轴在脓毒症致急性肺损伤中的作用机制研究 [J]. 现代实用医学, 2022, 34 (10): 1272-1274, F0003, F0002.
- [2] 彭书旺, 陈露阳. lncRNA MIR31HG 对甲状腺乳头状癌细胞增殖, 迁移, 侵袭的影响及作用机制研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30 (12): 13-21.
- [3] 陈生晓, 甘艳, 邝才花, 等. lncRNA TUG1 靶向调节 miR-21/PTEN 轴抑制糖尿病肾病大鼠肾纤维化的作用机制研究 [J]. 东南大学学报: 医学版, 2023, 42 (2): 218-227.
- [4] 兰伟途, 王万宏, 武峰, 等. lncRNA XIST 靶向 miR-543 对胶质瘤细胞增殖凋亡的作用机制研究 [J]. 临床神经外科杂志, 2023, 20 (2): 158-162.

- [5] 李杨, 徐曼, 潘妙霞, 等. 长链非编码 RNA 生长停滞特异性转录本 5 在糖尿病肾病进展中作用机制研究 [J]. 临床军医杂志, 2023, 51 (7): 716-721.
- [6] 滕玉环, 徐晨辉, 陈季南, 等. 血清长链非编码 RNA 小核仁 RNA 宿主基因 1, 微 RNA-329-3p 表达水平与急性脑梗死发生风险的关系 [J]. 安徽医药, 2023, 27 (11): 2171-2175.
- [7] BIAN X, LIU J, YANG E, et al. Regulation of lncRNA TPTEP1/miR-137/KLF15 axis involved in the development of obesity-related kidney disease [J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019, 120 (9): 15098-15106.
- [8] 卢宏全, 黄国定, 林影, 等. lncRNA SNHG6 通过 microRNA-26b-5p 对三阴性乳腺癌细胞增殖, 迁移, 侵袭的作用机制研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32 (16): 30-36.
- [9] 陈淑娟, 周丽明, 李明政, 等. lncRNA ANRIL/miR-122-5p 轴在高糖诱导肾小囊脏层上皮细胞炎症及氧化应激中的作用及机制 [J]. 国际免疫学杂志, 2022, 45 (5): 464-469.
- [10] 程汉波, 夏涛, 刘加元, 等. lncRNA TPTEP1 通过抑制 miR-129-5p 影响膀胱癌 T24 细胞的增殖和侵袭 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2021, 28 (3): 283-287.

[文章编号] 1007-0893(2024)10-0010-05

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2024.10.003

行为心理医学对 2 型糖尿病患者规范化诊治的有效性研究

葛龙菲 宋丹 刘爽

(郑州市第一人民医院, 河南 郑州 450000)

[摘要] 目的: 探讨行为心理医学对 2 型糖尿病患者规范化诊治的作用, 以期提高患者血糖控制效果及生活质量。方法: 选取 60 例 2021 年 6 月至 2022 年 6 月郑州市第一人民医院航东社区卫生服务中心的 2 型糖尿病患者作为研究对象, 采用数字随机表法分为观察组与对照组, 各 30 例。对照组患者给予降糖药物治疗, 观察组患者在对照组治疗基础上进行行为心理医学干预, 比较两组患者的治疗依从性、治疗前、治疗 1 年后代谢指标 [空腹血糖 (FPG)、餐后 2 h 血糖 (2h PG)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)]、生活质量及不良事件发生率 (低血糖、因急诊就诊、并发症住院、严重低血糖住院)。结果: 观察组患者治疗依从性为 86.67%, 高于对照组的 56.67%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组患者治疗后 FPG、2h PG、HbA1c、TG、TC、LDL-C 水平较对照组低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组患者治疗后各项生活质量 (躯体功能、社会功能、心理健康、活力、情感角色、整体健康) 评分较对照组高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组患者不良反应发生率为 16.67%, 低于对照组的 40.00%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 行为心理医学可促进 2 型糖尿病患者治疗依从性、机体代谢指标改善, 有利于减少不良事件发生, 提高生活质量, 改善预后。

[关键词] 2 型糖尿病; 行为心理干预; 治疗依从性; 生活质量

[中图分类号] R 587.1 **[文献标识码]** B

[收稿日期] 2024-03-26

[基金项目] 河南省医学科技攻关计划 (联合共建) 项目 (LHGJ20210713)

[作者简介] 葛龙菲, 女, 主治医师, 主要研究方向是糖尿病。