· 实验技术及其应用 ·

miR－150－5p 经 TLR7/NF－κB 轴抑制氧化应激与免疫浸润改善糖尿病肾病

冉娇娇，刘婧，张晶，赵晨旭，王楚盈，李玉梅
长春中医药大学 药学院，吉林 长春 130117

摘要：目的　糖尿病肾病（DN）的发生发展与慢性炎症密切相关，且慢性炎症在氧化应激（OS）和免疫代谢改变间存在复杂的相互作用，共同推动疾病进展。因此，本研究旨在确定 DN 中 OS 和免疫相关生物标志物及其潜在治疗靶点。**方法**　下载 GSE142153，评估其中样本的免疫细胞浸润情况，同时对该数据集进行差异分析，将所得差异基因（DEGs）与 OS 相关基因（OSRGs）相交以鉴定 DN 过程中的 OS 相关差异表达基因（DE－OSRGs）。通过功能富集分析明确 DE－OSRGs 的生物学作用，构建蛋白互作网络（PPI），结合 cytoHubba 插件中 MCC 算法筛选出核心 DE－OSRGs，并通过 ROC 诊断曲线验证其可靠性后，将 DE－OSRGs 的靶 miRNA 与 DN 相关 microRNA 进行交叉分析后筛选出 miR－150－5p。最后通过大鼠 DN 模型验证核心 DE－OSRGs 的表达及靶 miRNA 的作用机制。**结果**　生物信息学分析筛选出 Toll 样受体 7（TLR7）为核心 DE－OSRGs，并结合靶 miRNA 预测确定 miR－150－5p 为研究重点。动物实验表明，miR－150－5p agomir 显著下调 TLR7 和 NF－κB p65 的表达（$P<0.05$），减少氧化应激标志物丙二醛（MDA）的生成（$P<0.05$），并提高超氧化物歧化酶（SOD）和谷胱甘肽过氧化物酶（GSH－Px）的活性（$P<0.05$）。此外，miR－150－5p 还抑制了肿瘤坏死因子 α（TNF－α）、白介素－6（IL－6）和白介素－1β（IL－1β）的分泌（$P<0.05$），减轻免疫细胞浸润，改善肾脏病理损伤。**结论**　miR－150－5p 通过下调 TLR7 表达，调控 NF－κB 信号通路，有效减轻 DN 中的 OS 损伤和炎症反应，改善肾脏功能。

关键词：糖尿病肾病；氧化应激；TLR7；NF－κB；miR－150－5p
中图分类号：R587.2　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1003－8507（2026）02－339－11
DOI：10.20043/j.cnki.MPM.202508064

miR－150－5p inhibits oxidative stress and immunological infiltration via the TLR7/NF－κB axis to improve diabetic nephropathy

RAN Jiao－jiao, LIU Jing, ZHANG Jing, ZHAO Chen－xu, WANG Chu－ying, LI Yu－mei
School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun, Jilin 130117, *China*

Abstract: Objective　To identify oxidative stress (OS)－ and immune－related biomarkers and their therapeutic targets in diabetic nephropathy (DN). The development of DN is closely associated with chronic inflammation, which exhibits complex interactions between OS and immune－metabolic alterations, collectively driving disease progression. **Methods**　Download the GSE142153 dataset and evaluate immune cell infiltration in its samples. Simultaneously perform differential analysis on this dataset, intersecting the resulting differentially expressed genes (DEGs) with overall survival－related genes (OSRGs) to identify OS－related differentially expressed genes (DE－OSRGs) in the DN process. Functional enrichment analysis clarified the biological roles of DE－OSRGs. A protein－protein interaction (PPI) network was constructed, and core DE－OSRGs were selected using the MCC algorithm in the cytoHubba plugin. After validating their reliability via ROC diagnostic curves, target miRNAs of DE－OSRGs were cross－analyzed with DN－related microRNAs to identify miR－150－5p, with binding sites subsequently validated. Finally, the expression of core DE－OSRGs and the mechanism of action of their target miRNAs were validated using a rat DN model. **Results**　Bioinformatics analysis identified TLR7 as the core DE－OSRG, and combined with target miRNA prediction, miR－150－5p was determined as the primary focus of this study. Animal experiments demonstrated that miR－150－5p agomir significantly downregulated TLR7 and NF－κB p65 expression ($P<0.05$), reduced the production of malondialdehyde (MDA), a marker of oxidative stress ($P<0.05$), and increased the activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH－Px) ($P<0.05$). Furthermore, miR－150－5p suppressed secretion of

基金项目：吉林省自然科学基金（YDZJ202401005ZYTS）
作者简介：冉娇娇（1999—），女，硕士在读，研究方向：中药药性理论及中药作用机制研究
通信作者：王楚盈和李玉梅为共同通信作者。王楚盈，E－mail：wangcy@ccucm.edu.cn；李玉梅，E－mail：liym01@ccucm.edu.cn

tumor necrosis factor – α (TNF – α), interleukin – 6 (IL – 6), and interleukin – 1β (IL – 1β) ($P < 0.05$), mitigated immune cell infiltration, and improved renal pathological damage. **Conclusion** By down – regulating TLR7 and modulating the NF – κB pathway, miR – 150 – 5p attenuates OS injury and inflammation in DN, thereby improving renal function and offering a promising therapeutic target.

Keywords: Diabetic nephropathy; Oxidative stress; TLR7; NF – kB; miR – 150 – 5p

糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy,DN)是糖尿病引起的肾脏微血管并发症,以持续性蛋白尿和/或肾小球滤过率逐渐降低为主要临床表现主[1]。氧化应激(Oxidative Stress,OS)被认为是 DN 发病的关键因素,高血糖增加了自由基的产生,氧化剂和抗氧化剂水平之间的失衡,从而导致 OS[2-3]。OS 可刺激信号分子如核因子 – κB(Nuclear Factor – κB,NF – κB)或激活蛋白 – 1(Activator Protein – 1,AP – 1)[4],诱导肾细胞炎症、凋亡及纤维化;随之释放的趋化因子引起肾脏部位免疫细胞浸润,即外周免疫细胞迁移至肾脏并活化,是 DN 炎症损伤的关键环节,可致单核 – 巨噬细胞过度激活,机体免疫稳态失衡[5-6]。尽管目前针对 OS 和免疫浸润的治疗策略(如抗氧化剂和抗炎药物)在实验研究中取得了一定进展,但其临床转化仍面临诸多挑战。因此,探索新的治疗靶点和策略以更有效地减轻 OS 和免疫浸润是 DN 研究的重要方向。基于生物信息学的研究发现,与 OS 相关的基因在慢性肾病患者的预后方面具有临床价值[7],但目前仍然缺乏对 DN 和 OS 的全面和深入的研究。MicroRNA(miRNA)在人体内的变化与病理状况有关,在许多人类疾病中发挥关键作用,是医学研究中的重要介质[8-9]。miRNA 参与各种生物过程的调节,包括先天免疫反应[10]、适应性免疫反应[11]和炎症[12]的调节,并且在 DN 中与 OS 存在密切关联,但具体机制尚未完全阐明。本研究运用生物信息学系统解析 DN 中 miRNA 与 OS 相关信号通路的相互作用,并通过动物实验对其关键节点进行功能验证。

1 材料与方法

1.1 *基因的表达数据来源* 从美国国家生物技术信息中心(national center of biotechnology information, NCBI)数据库[13](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo)中获取 DN 相关基因表达微阵列,数据来自 GPL571 平台的 GSE142153(DN = 23, CON = 10)[14]。GSE142153 基于肾穿刺组织,能直接反映肾脏局部分子改变。利用 GENEcards 数据库[15](https://www.genecards.org/)搜索 OS 相关基因用于后续分析。

1.2 *基因表达数据处理和差异基因表达分析* 使用 GEO2R 在线工具(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r)进行差异表达分析,筛选出满足 $P < 0.05$ 且 $|\log_2 FC| > 1$ 的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),与 OS 相关基因(oxidative stress – related genes, OSRGs)进行交叉分析得到与 OS 相关的差异表达基因(differentially expressed oxidative stress – related genes, DE – OSRGs)。使用 DAVID 在线工具(http://www.david.ncifcrf.gov)进行基因本体论[16](gene ontology, GO)功能注释和京都基因与基因组百科全书[7](Kyotoencyclopedia of genes and genome, KEGG)进行通路分析,以 $P < 0.05$ 为选取标准。

1.3 *免疫浸润分析* 基于 CIBERSORT(CIBERSORT.R 脚本分析)核心算法[18],利用 CIBERSORTx 网站(https://cibersortx.stanford.edu)提供的 22 种免疫细胞的 markers 来分析 GSE142153 中各样本的免疫细胞浸润情况。

1.4 *核心 DE – OSRGs 筛选及 ROC 曲线的绘制* 使用 STRING 数据库[19](http://www.string – db.org)构建蛋白质 – 蛋白质相互作用(protein – protein interaction, PPI)网络,通过 Cytoscape 软件(version 3.9.1)进行可视化分析,并利用其内置 cytoHubba 插件的 MCC 算法鉴定重要的基因簇,获得枢纽基因。基于 R 软件(4.0.2 版本)pROC 和 ggplot2 包,绘制受试者特征曲线(Receiver Operating Characteristic Curve, ROC),以评估获取的核心 DE – OSRGs 在 DN 诊断中的敏感性与特异性。计算曲线下面积(Area Under the Curve, AUC)以判定其真实性和可靠性。

1.5 *核心 DE – OSRGs 的 microRNA 靶点预测* 利用 RNADisease(http://www.rnadisease.org)数据库[20]输入关键词“diabetic nephropathy”筛选出符合“Homo sapiens, Score > 0.9”的 DN 相关 miRNA,与利用 TatgetScan(https://www.targetscan.org)数据库[21]筛选出 DE – OSRGs 的靶 miRNA 进行交叉分析,并查询它们与目标基因的结合位点。

1.6 *糖尿病肾病大鼠模型的建立与干预* 动物来源于长春市亿斯实验动物技术有限责任公司,经长春中医药大学动物伦理委员会批准(伦理批号:2021161,动物使用许可证号:SCXK(吉)2020 – 0002)。选用 4 ~ 5 周龄 SPF/VAF 级雄性 SD 大鼠(初始体重 80 ~ 100 g),所有大鼠均饲养于 12 h 光照/12 h 黑暗循环、温度 23℃ ±2℃、相对湿度 55% ±5% 环境中,自由进食饮水。适应性喂养 1 周后,将大鼠分为对照组

(Control 组,n = 6)与待造模组(n = 18):Control 组全程维持普通饲料喂养,同期注射生理盐水;待造模组先给予 35% 脂肪比高脂饲料喂养 6 周,再禁食 12 h 后腹腔注射链脲佐菌素(STZ,50 mg/kg)建立糖尿病模型[22],72 h 后空腹血糖≥16.7 mmol/L 判定成模,继续高脂饲料喂养 8 周诱导 DN 模型;高脂饲料和 STZ 均购自北京博爱港。DN 模型成功后,将 DN 模型大鼠随机分为 DN 组、miR - 150 - 5p 激动剂(miR - 150 - 5p agomir)组、阴性对照(agomir NC)组,每组 n = 6。后两组分别尾静脉注射 miR - 150 - 5p agomir、MicroRNA Agomir Negative Control,剂量均为 50 nmol/kg,每周 2 次,持续 4 周[23];试剂均购自广东锐博。DN 组与 Control 组同期尾静脉注射等量生理盐水。干预期间各组保持原饲料不变,于 agomir 干预 0 周(DN 成模即刻、尚未给药)及 agomir 干预 5 周(末次给药后 1 周、处死前)通过代谢笼收集 24 h 尿液;随后处死所有大鼠,腹主动脉采集血液,并剥离双侧肾脏组织。

1.7 *生化检测* 收集大鼠 24 h 尿液,采用南京建成和 Abcam 的试剂盒分别检测尿蛋白排泄率(urinary protein excretion rate, UP)及尿白蛋白/肌酐比值(albumin/creatinine ratio, ACR)。大鼠经麻醉后通过腹主动脉采集血液,采用 Crystal Chem 的试剂盒检测血清糖化血红蛋白(glycated hemoglobin A1c, HbA1c)水平。同时,检测血清肌酐(serum creatinine, Scr)和尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)水平,所用试剂盒均购自南京建成。通过 ELISA 法进一步检测血清中炎症因子与氧化应激标志物水平:炎症因子包括大鼠肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor - alpha, TNF - α)、白介素 - 6(interleukin - 6, IL - 6)和白介素 - 1β(interleukin - 1β, IL - 1β),所用试剂盒均购自 MeiMian;氧化应激标志物包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH - Px)的活性,其中 SOD 检测试剂盒购自 MeiMian, MDA 与 GSH - Px 检测试剂盒均购自 mlbio。

1.8 *病理染色和免疫组化* 肾脏组织经 4% 多聚甲醛固定、石蜡包埋,制备 4 μm 厚切片。取每组 1 只动物的肾脏切片,经苏木精 - 伊红(Hematoxylin - Eosin staining, H&E)染色评估组织结构与质量,Masson 三色染色检测胶原纤维沉积。H&E 染色切片采用盲法由 2 名病理医师独立进行半定量分析,肾小球硬化按无硬化、部分硬化、完全硬化分别计 0、1、2 分,并计算每视野平均得分;肾小管间质纤维化按面积 < 10%、10% ~ 30%、30% ~ 50%、> 50% 分别计 0、1、2、3 分[24]。通过免疫组化染色检测肾脏组织中单核/巨噬细胞标志物 CD68(cluster of differentiation 68)、核因子 κB p65 亚基(nuclear factor kappa B p65 subunit, NF - κB p65)和磷酸化核因子 κB 抑制蛋白 α(phosphorylated inhibitor of nuclear factor kappa B alpha, p - IKBα)的表达。切片经脱蜡、水化后,在柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液(pH 6.0)中进行抗原修复,并封闭内源性过氧化物酶;一抗孵育过夜后,再使用二抗孵育,最后进行染色。所用抗体均购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.9 *蛋白印迹法和实时荧光定量 PCR* 组织裂解后,使用 Beyotime 的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定提取的组织蛋白浓度。将等量的蛋白分离后转移到 Servicebio 的聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,在快速封闭液中封闭 15 min。洗涤后一抗孵育过夜,再与辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase, HRP)偶联的二抗孵育 1 h,检测后定量免疫印迹密度。甘油醛 - 3 - 磷酸脱氢酶(Glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase, GAPDH)用作对照,检测肾脏组织中 Toll 样受体 7(Toll - like receptor 7, TLR7)、NF - κB p65、TNF - α、IL - 6 和 IL - 1β 表达水平,所用抗体均购自武汉三鹰生物技术有限公司。

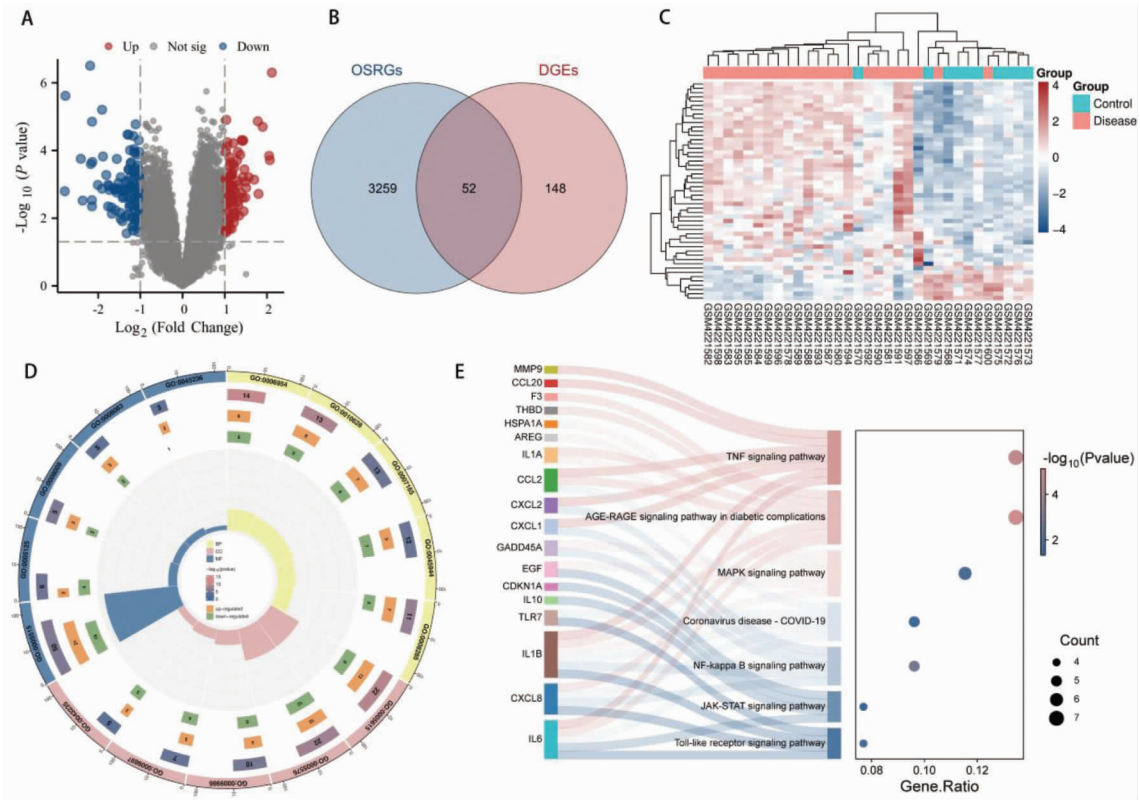
使用 YEASEND 的 MolPure® Cell/Tissue miRNA Kit 试剂盒从组织中分离总 RNA,通过 Thermo 超微量分光光度计定量后,采用 YEASEND 的 Hifair® Ⅲ 1st Strand cDNA Synthesis Kit (gDNA digester plus)试剂盒在 Eppendorf PCR 仪中逆转录等量的 RNA 样品,最后在 Bio - Rad CFX Manager 系统上进行 qPCR 检测,并使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析 mRNA 和 miRNA 的相对表达。qPCR 检测过程中分别以 U6 小核 RNA(U6 small nuclear RNA, U6)和 GAPDH 作为上样对照,检测组织或细胞中 miR - 150 - 5p 和 TLR7 mRNA 的表达水平。所使用的引物均由生工生物工程有限公司设计和生产。

1.10 *实验数据分析方法* 使用 SPSS 23.0 软件进行数据处理与分析。符合正态分布的用均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,方差齐时,多组间比较使用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD 进行分析;方差不齐则采用 Welch ANOVA,2 组比较采用 Dunnett *T*3 进行分析。以检验水准 $\alpha = 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 *DEGs 的识别及 DEOSGs 富集函数分析* 如图 1A - C 所示,GSE142153 进行差异基因分析后获得 200 个 DEG(86 个上调,114 个下调),并通过 GENEcards 数据库筛选 Relevance score > 3 的蛋白编

码 OSRGs 331 1 个,两者相交得到 52 个 DE – OSRG。GO 和 KEGG 分析如图 1D – E 所示,结果显示 GSE142153 主要参与细胞因子介导的信号通路,如 NF – κB 信号通路。其中,Toll 样受体(Toll – Like Receptor,TLR)信号通路是 NF – κB 信号通路的上游。



注:A 为差异基因火山图;B 为 OSRGs 与 DGEs 的 Venn 图;C 为差异基因表达热图;D 为差异基因的 GO 富集环形图;E 为 KEGG 通路 – 基因 sankey 气泡图。

图 1　DE – OSRGs 的差异分析和功能富集

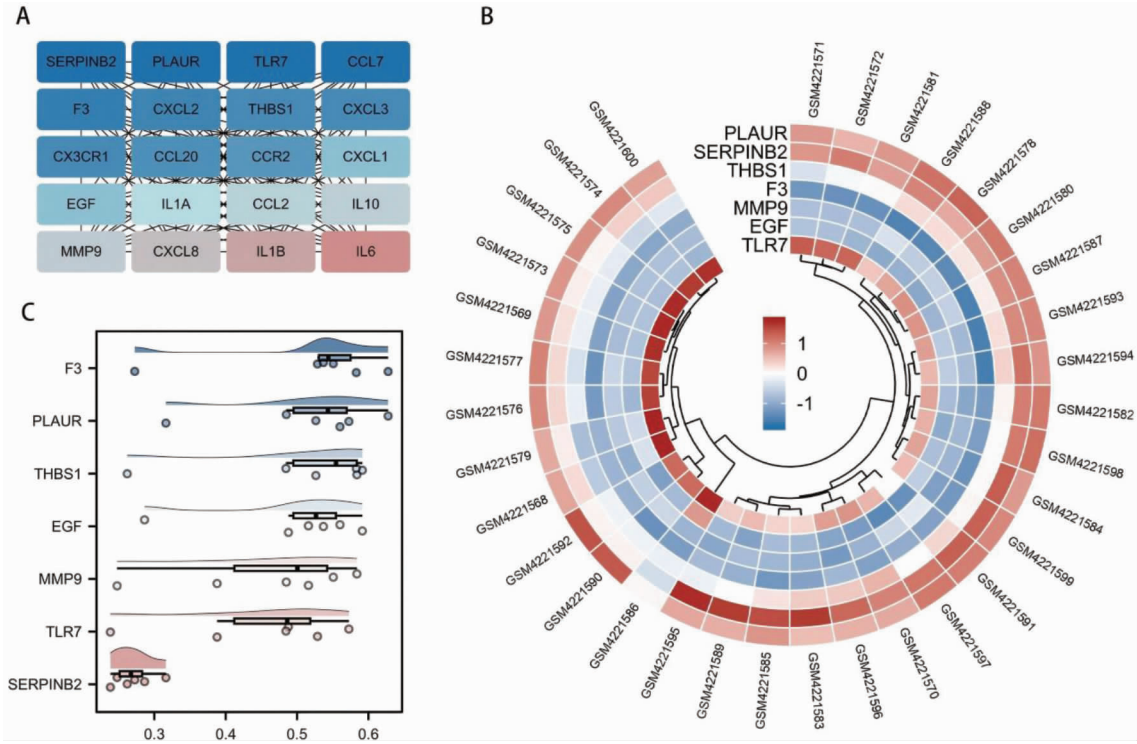
Fig. 1　Differential analysis and functional enrichment of DE – OSRGs

2.2　核心 DE – OSRGs 的鉴定和 ROC 诊断　PPI 网络(minimum required interaction score 为 0.700)如图 2A 所示,获得前 20 个关键基因,包含 TLR7 等 7 种功能性蛋白,其余 13 个基因为炎症因子或趋化因子。考察 7 种功能性蛋白在 DN 中的表达情况(图 2B),并探究它们之间的功能相关性(图 2C)。最后通过 ROC 曲线,如图 3A – G 可知每个基因的 AUC 值均在 0.7 以上,说明特征基因对 DN 具有较强的预测能力。

2.3　免疫细胞浸润分析　基于 GSE142153,通过 CIBERSORT 算法量化 22 种免疫细胞在 DN 与正常肾脏组织中的比例(图 4A)。有 4 种免疫细胞存在显著差异($P<0.05$),其中,γδT 细胞(gamma delta T cells,γδT cells)和单核细胞(Monocytes)在两组间存在显著差异,且在 DN 肾脏组织中,树突状细胞(Dendritic cells)及自然杀伤细胞(natural killer cells,NK cells)被激活(图 4B)。在此基础上,进一步考察了 7 种核心 DE – OSRG 在差异免疫细胞中的相关性(图 4C)。

2.4　DE – OSRGs 的 microRNA 靶点预测　将 81 个 DN 相关 miRNA 与 556 个 TLR7 靶 miRNA 进行交叉分析,筛选出 21 种 miRNA(图 5A),并验证 TLR7 与 miR – 150 – 5p 的结合位点(图 5B)。

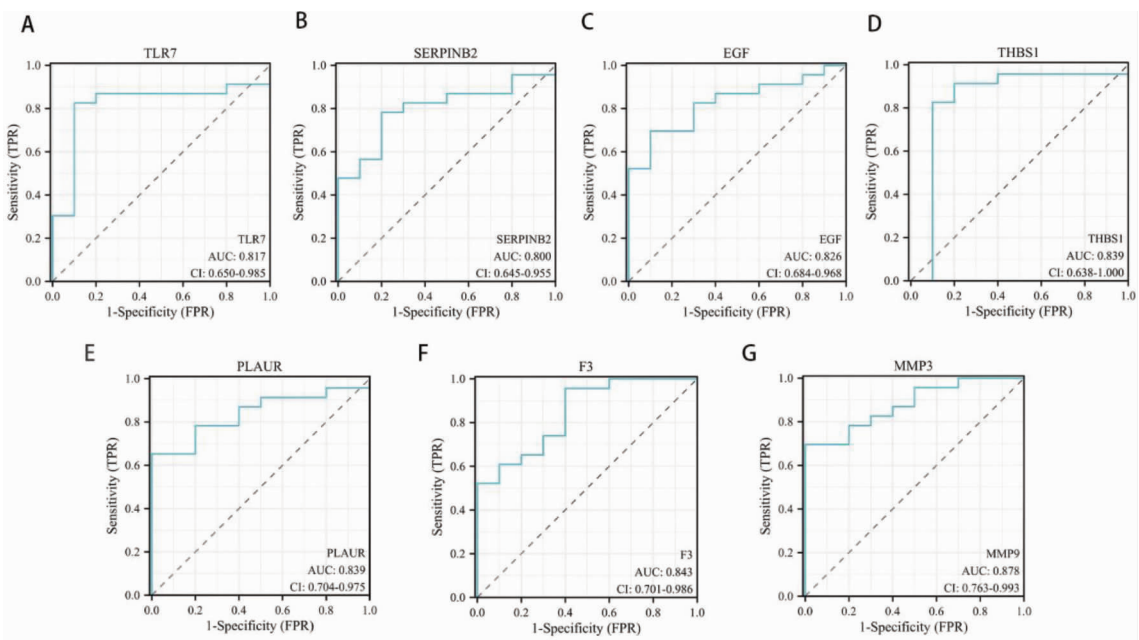
2.5　DN 大鼠尿液和血液中氧化应激标志物的变化　图 6 ~ 7 所示:DN 大鼠基础 ACR、UP、BUN、Scr 及血清 MDA、TNF – α、IL – 6、IL – 1β 均显著高于 Control 组,GSH – Px、SOD 活性明显降低($P<0.05$);miR – 150 – 5p agomir 干预后,上述肾功能与氧化应激指标均恢复至接近 Control 水平($P<0.05$),而阴性对照组与 DN 组差异无统计学意义($P>0.05$)。值得注意的是,DN 组与 miR – 150 – 5p agomir 组之间 HbA1c 水平无显著差异(图 6C),提示 miR – 150 – 5p agomir 对血糖控制无直接影响,其肾保护作用主要通过减轻 OS 和抑制炎症反应实现。



注：A 为关键基因的 PPI 网络矩阵图；B 为核心基因在样本中的表达热图；C 为 PLAUR、THBS1、F3、EGF、MMP9、TLR7、SERPINB2 基因的功能相关性云雨图。

图 2　PPI 网络分析和枢纽基因鉴定

Fig. 2　PPI network analysis and hub gene identification



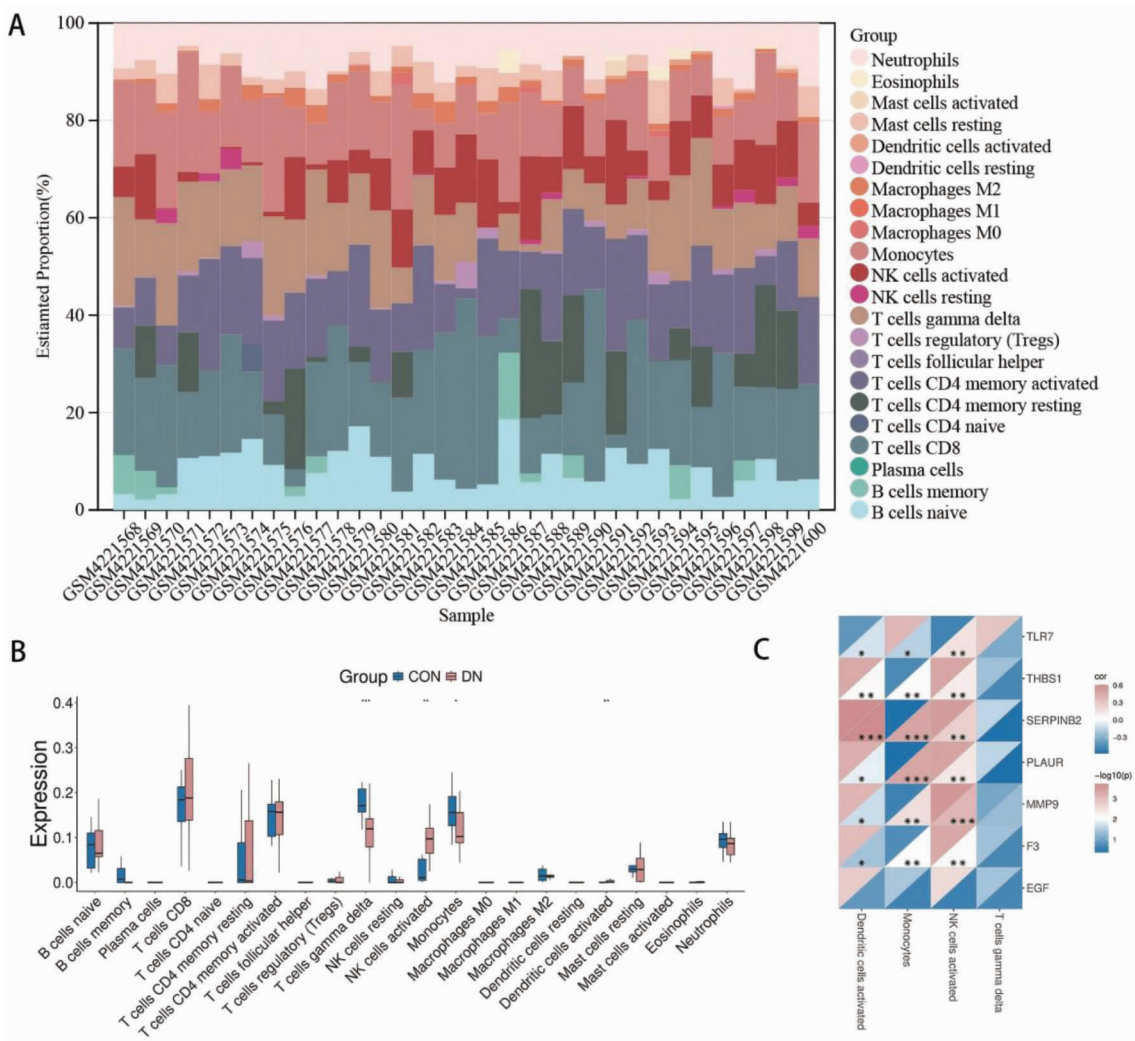
注：A－G 分别为 TLR7、SERPINB2、EGF、THBS1、PLAUR、F3 和 MMP3 的 ROC 曲线分析。

图 3　核心 DE－OSRGs 表达诊断评估

Fig. 3　Core DE－OSRGs expression diagnostic evaluation

2.6　DN 大鼠肾组织中 TLR7/NF－κB 通路相关蛋白的表达和 miR－150－5p 的干预　H&E 染色结果显示（图 8B），与 DN 组大鼠相比，miR－150－5p agomir 组大鼠表现出较少的小管扩张，miR－150－5p 干预显著改善了肾小球硬化和肾小管间质纤维化（$P < 0.05$）。Masson 染色结果显示（图 8C），miR－150－

5p agomir 组肾脏的纤维化区域比 DN 组肾脏少，而转染 miR－NC 后，水平与 DN 组相比无显著差异。如图 9A－E 所示，炎症导致免疫浸润相关蛋白 CD68 在 DN 大鼠肾脏中的表达显著高于 miR－150－5p agomir 组大鼠，过表达 miR－150－5p 显著降低了 DN 大鼠肾脏中 TLR7 和 NF－κB 通路相关蛋白 NF－κB p65 和 p－IκBα 的阳性面积（$P<0.05$）。



注：A 为 GSE142153 数据集中样本的免疫细胞浸润比例堆叠图；B 为免疫细胞表达的箱线图；C 为差异基因与免疫细胞的相关性热图。＊$P<0.05$，＊＊$P<0.01$，＊＊＊$P<0.001$，ns 代表差异无统计学意义。

图 4　DN 中免疫细胞浸润模式分析

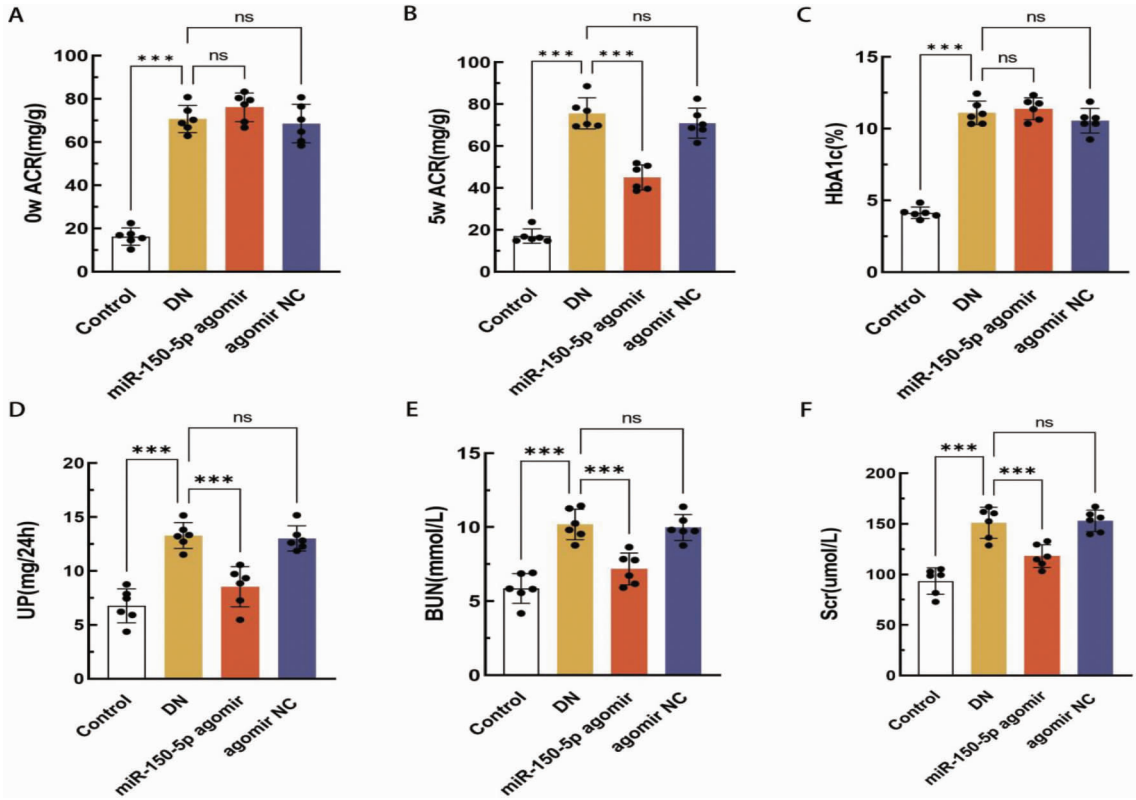
Fig. 4　Analysis of immune cell infiltration patterns in DN



注：A 为 TLR7 靶 miRNA 与 DN 相关 miRNA 的 Venn 图；B 为 TLR7 与 miR－150－5p 的结合位点。

图 5　TLR7 靶 miRNA 预测

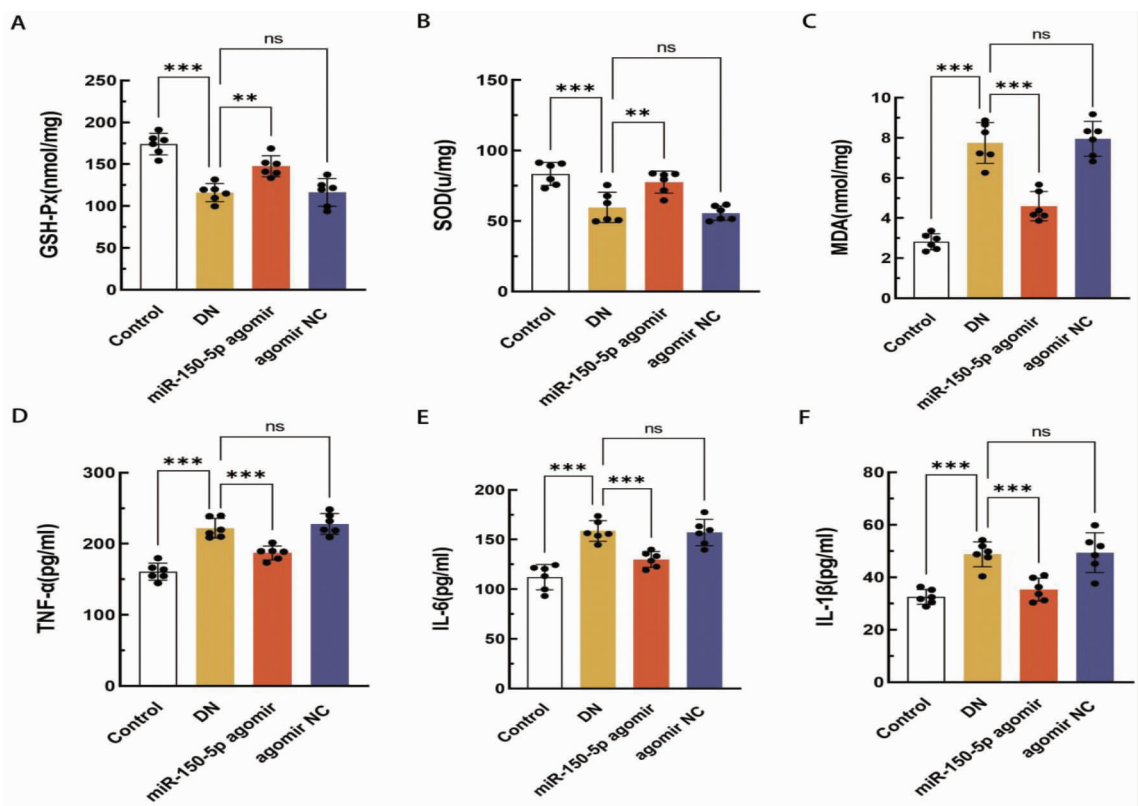
Fig. 5　TLR7 target miRNA prediction



注：A 为 agomir 干预 0 周时 ACR 水平，B 为 agomir 干预 5 周时 ACR 水平；C－F 分别为 HbA1c、UP、BUN 和 Scr 水平。同图 4，*P* 值标注含义一致。

图 6　大鼠血糖及肾功能的变化

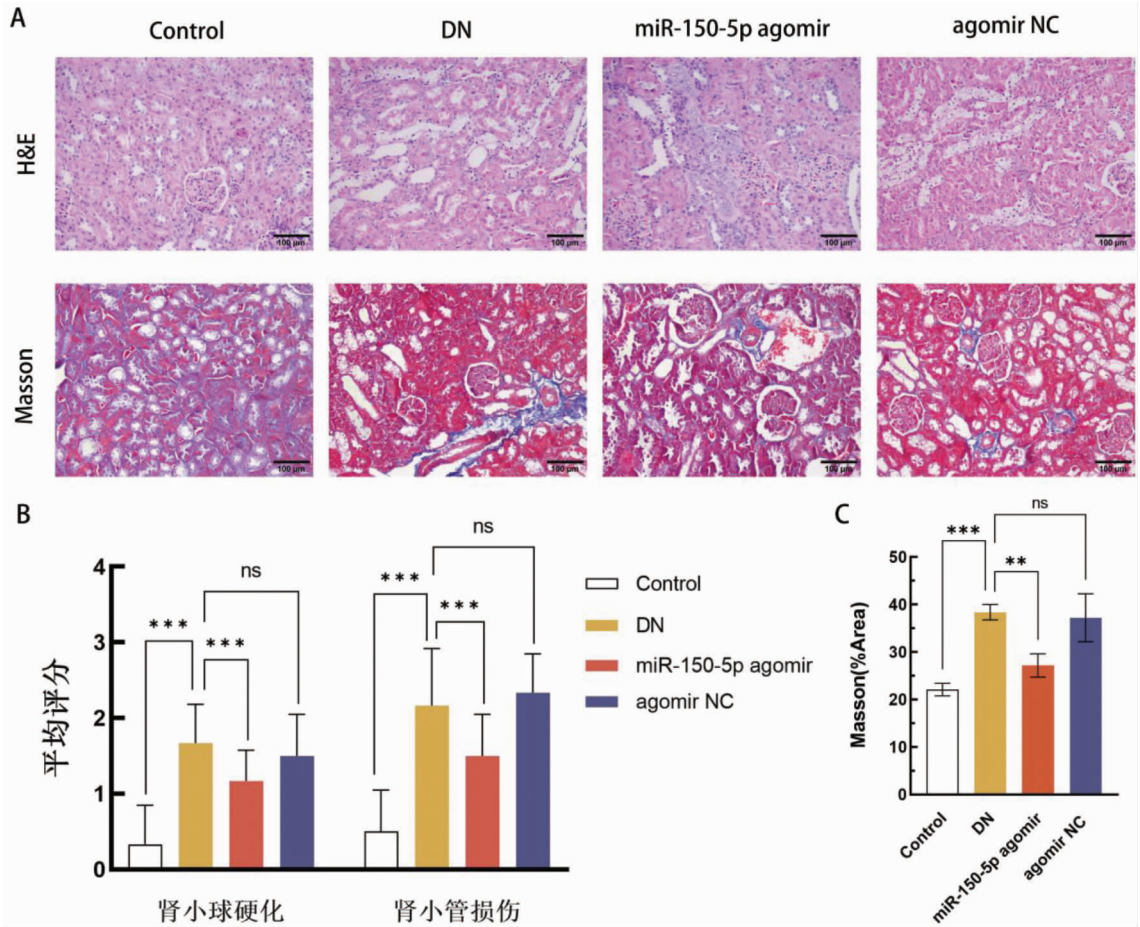
Fig. 6　Changes in blood glucose and renal function in rats



注：A－C 为各组样本氧化应激因子水平检测结果；D－F 为各组样本炎症因子水平检测结果。同图 4，*P* 值标注含义一致。

图 7　大鼠血液中氧化应激标志物的检测

Fig. 7　Detection of oxidative stress markers in rat blood



注：A 为 H&E 和 Masson 染色代表图像（×200，标尺 = 100 μm）；B 为 H&E 染色肾小球硬化及肾小管损伤评分；C 为 Masson 染色胶原纤维沉积面积统计分析。同图 4，*P* 值标注含义一致。

图 8　大鼠肾脏组织的病理切片

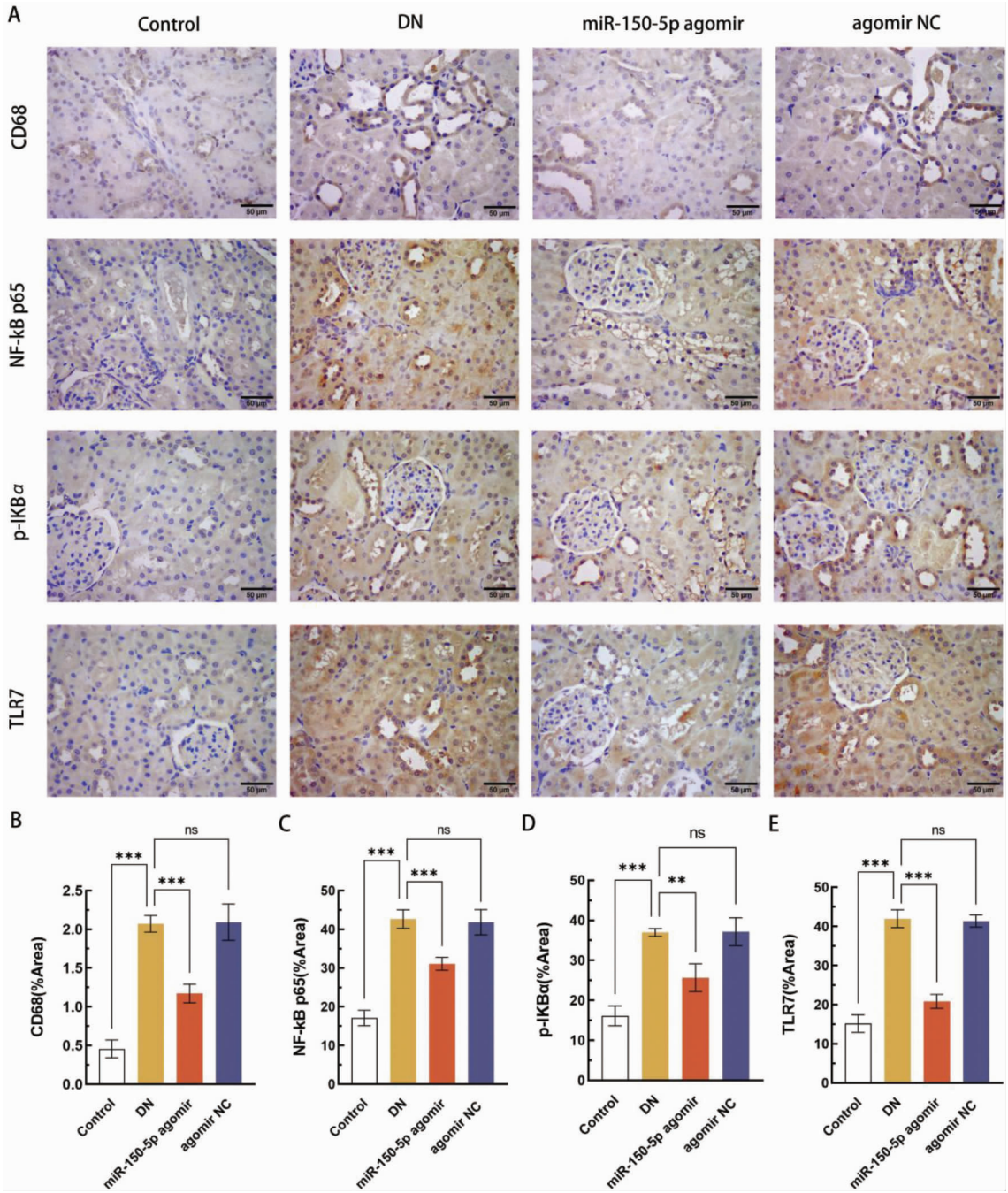
Fig. 8　Histopathological sections of rat kidney tissue

2.7　miR－150－5p 改善 TLR7/NF－κB 通路激活所导致的 DN 大鼠肾脏炎症因子过表达　如图 10A 所示，在 DN 组大鼠肾脏组织中，炎症因子和 TLR7/NF－κB p65 通路蛋白表达跟 Control 组相比均有所增加（$P<0.05$）；跟 DN 组相比，miR－50－5p agomir 组 NF－κB p65 蛋白表达减少，炎症相关蛋白 TNF－α、IL－6 和 IL－1β 的表达也降低，炎症有所改善（$P<0.05$），而 agomir NC 组水平均与 DN 组相比无显著差异（$P>0.05$）。实时荧光定量 PCR 结果显示，miR－150－5p agomir 组 TLR7 mRNA 表达较 DN 组的低（$P<0.05$），表明 miR－150－5p 可能通过直接靶向 TLR7 的 3’非翻译区（3’UTR）抑制其表达（图 10C）。

3　讨　论

在 DN 中，OS 可激活炎症信号通路导致肾损伤，炎症因子进而促进免疫反应，形成正负反馈进加剧肾损伤。但目前鲜有研究关注 DN 与正常组织中，与免疫浸润及 OS 相关的异常表达基因标志物。本研究基于 Cibersort 算法分析 GSE142153 中 22 种免疫细胞浸润情况，结果表明炎症反应的增强，可能通过分泌促炎或抗炎细胞因子影响炎症反应的强度和持续时间。GO/KEGG 分析发现，DE－OSRGs 主要富集于 TLR 及 NF－κB 信号通路，提示炎症相关通路在 DN 的病理进展中起关键作用。进一步分析通路层级关系可见，TLR 信号通路处于上游，其核心基因 TLR7 介导的炎症反应中，NF－κB 信号通路扮演核心角色——其持续激活可诱导促炎细胞因子大量生成，形成“炎症－损伤”正反馈环路，加剧 DN 肾脏病理损伤。因此，本研究将 TLR7 与 NF－κB 信号通路间的调控关联作为核心，并开展后续研究。

TLR 信号通路在识别和响应损伤信号方面发挥着重要作用，TLR7 是先天免疫系统中的重要模式识别受体[25]，主要识别单链 RNA（single－stranded ribonucleic acid，ssRNA）并介导炎症反应。在 DN 中，OS 诱导的损伤相关分子模式（damage associated molecular patterns，DAMPs）和病原体相关分子模式（Pathogen－associated molecular patterns，PAMPs）可激活 TLR7，DAMPs 和 PAMPs 与 TLR7 结合后，通过髓



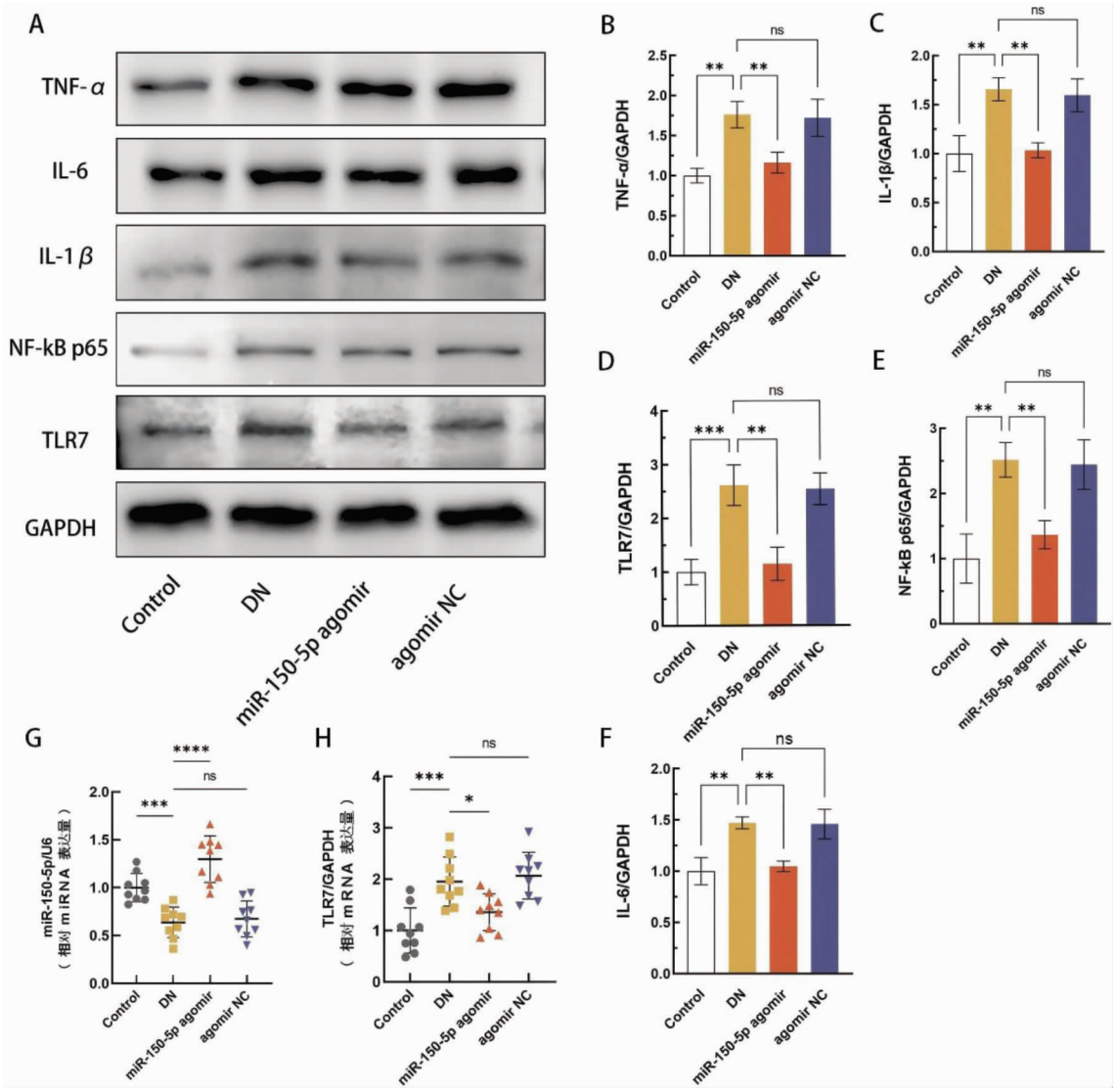
注：A 为各组免疫组织化学染色代表性图像（×400，标尺 =50 μm）；B－E 为各指标阳性面积统计分析。同图 4，*P* 值标注含义一致。

图 9　大鼠肾脏组织的免疫组化检测

Fig. 9　Immunohistochemical analysis of rat kidney tissue

样分化因子 88（myeloid differentiation factor 88，MyD88）和肿瘤坏死因子受体相关因子 6（tumor necrosis factor receptor－associated factor 6，TRAF6）等分子传递信号[26－27]，导致核因子 κB 抑制蛋白 α（inhibitor of nuclear factor kappa B alpha，IκBα）的磷酸化和降解，从而释放 NF－κB（p65/p50），使其能够转移到细胞核结合 DNA 的特定序列，调控基因转录[28]。NF－κB 在细胞核中结合到多种促炎基因的启动子区域，促进 IL－6、TNF－α、IL－1β 等促炎细胞因子的表达，同时激活其他炎症相关分子，如环氧化酶－2（cyclooxygenase－2，COX－2）、诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS），加剧 OS 和炎症反应，进一步加重糖尿病肾病的病理损伤[29－30]。因此，TLR7/NF－κB 信号通路在糖尿病肾病的 OS 和免疫浸润中扮演了关键角色。

有研究表明[31－32]，miR－150－5p 在脓毒症诱导的急性肾损伤中发挥保护作用，上调 miR－150－5p 可减轻了肾脏炎症反应和 OS。在慢性肾病中，miR－



注：A 为蛋白印迹代表图；B－F 为蛋白印迹图的统计学分析；G－H 为 TLR7 mRNA 和 miR－150－5p 的相对表达统计学分析。同图 4，*P* 值标注含义一致。

图 10　大鼠肾脏组织中炎症相关蛋白和 TLR7/NF－κB 通路相关蛋白的检测

Fig. 10　Detection of inflammation－related proteins and TLR7/NF－κB pathway－related proteins in rat kidney tissue

150－5p 减轻 OS 缓解肾损伤的作用日益得到关注，但 TLR7 与 miR－150－5p 之间的关系目前尚不明确。因此，本文聚焦 TLR7/miR－150－5p 轴，并进行动物实验验证。结果表明，过表达 miR－150－5p 显著下调 TLR7 和 NF－κB p65 的表达，减少 OS 标志物（如 MDA）的生成，并提高抗氧化酶（如 SOD、GSH－Px）的活性。此外，miR－150－5p 还抑制了炎症因子（如 TNF－α、IL－6）的分泌，减轻了免疫细胞浸润，改善了肾脏病理损伤。这表明 miR－150－5p 可通过下调 TLR7 的表达调控 NF－κB 信号通路从而有效减轻了 DN 中的 OS 损伤和炎症反应，改善了肾脏功能。

本研究首次通过生物信息学分析与实验验证，揭示 miR－150－5p 可直接靶向 TLR7 的 3’UTR 抑制其表达，阻断 NF－κB 信号通路激活，减轻 DN 中 OS 与免疫浸润，为 DN 治疗提供新潜在靶点，具临床应用前景。研究仍有局限：仅用雄性大鼠，未探索性别差异影响；未验证人类 DN 肾组织中 miR－150－5p/TLR7 的表达模式，结论临床适用性需进一步验证。

利益冲突声明　本研究不存在任何利益冲突

参考文献

[1] Gaddy A, Elrggal M, Madariaga H, et al. Diabetic kidney disease [J]. Disease－a－Month, 2025, 71(4): 101848.

[2] Darenskaya M, Kolesnikov S, Semenova N, et al. Diabetic nephropathy: significance of determining oxidative stress and opportunities for antioxidant therapies[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(15): 12378.

[3] Jin Q, Liu TT, Qiao Y, et al. Oxidative stress and inflammation in diabetic nephropathy: role of polyphenols [J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1185317.

（下转第 369 页）

Chinese)
[21] Zhou JY, Peng Y, Peng XY, et al. Human bocavirus and human metapneumovirus in hospitalized children with lower respiratory tract illness in Changsha, China[J]. Influenza and Other Respiratory Viruses, 2018, 12(2): 279 - 286.
[22] Liu WK, Chen DH, Liu Q, et al. Detection of human bocavirus from children and adults with acute respiratory tract illness in Guangzhou, southern China[J]. BMC Infectious Diseases, 2011, 11: 345.
[23] Mohammadi M, Armin S, Yazdanpour Z. Human bocavirus infections and co - infections with respiratory syncytial virus and Rotavirus in children with acute respiratory or gastrointestinal disease[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2020, 51(1): 45 - 51.
[24] Wang WJ, Guan RZ, Liu ZR, et al. Epidemiologic and clinical characteristics of human bocavirus infection in children hospitalized for acute respiratory tract infection in Qingdao, China[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 935688.
[25] Trapani S, Caporizzi A, Ricci S, et al. Human bocavirus in childhood: a true respiratory pathogen or a "passenger" virus? A comprehensive review[J]. Microorganisms, 2023, 11(5): 1243.

收稿日期:2025-09-16

(上接第 348 页)

[4] Chandra P, Sachan N, Saraswat N, et al. A detailed review of molecular pathways and mechanisms responsible for the development and aggravation of neuropathy and nephropathy in diabetes[J]. Current Molecular Pharmacology, 2024, 17(1): e280323215026.
[5] Kishi S, Nagasu HJE, Kidokoro K, et al. Oxidative stress and the role of redox signalling in chronic kidney disease[J]. Nature Reviews Nephrology, 2024, 20(2): 101 - 119.
[6] Chanda D, Ha H, Lee IK. Editorial: the role of oxidative stress and systemic inflammation in diabetes and chronic kidney disease[J]. Frontiers in Endocrinology, 2023, 14: 1272525.
[7] Bai F, Wang CJ, Fan X, et al. Novel biomarkers related to oxidative stress and immunity in chronic kidney disease[J]. Heliyon, 2024, 10(6): e27754.
[8] Wang H, Chen YH. microRNA biomarkers in clinical study[J]. Biomolecules, 2021, 11(12): 1810.
[9] Diener C, Keller A, Meese E. Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic[J]. Trends in Genetics, 2022, 38(6): 613 - 626.
[10] Guillemin A, Kumar A, Wencker M, et al. Shaping the innate immune response through Post - Transcriptional regulation of gene expression mediated by RNA - Binding proteins[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 796012.
[11] Wigton EJ, Ansel KM. Noncoding RNAs in B cell responses[J]. RNA Biology, 2021, 18(5): 633 - 639.
[12] Das K, Rao LVM. The role of microRNAs in inflammation[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(24): 15479.
[13] Clough E, Barrett T, Wilhite SE, et al. NCBI GEO: archive for gene expression and epigenomics data sets: 23 - year update[J]. Nucleic Acids Research, 2024, 52(D1): D138 - D144.
[14] Sur S, Nguyen M, Boada P, et al. FcER1: A novel molecule implicated in the progression of human diabetic kidney disease[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 769972.
[15] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses[J]. Current Protocols in Bioinformatics, 2016, 54: 30 - 33.
[16] Aleksander SA, Balhoff J, Carbon S, et al. The gene ontology knowledgebase in 2023[J]. Genetics, 2023, 224(1): iyad031.
[17] Kanehisa M, Furumichi M, Sato Y, et al. KEGG for taxonomy - based analysis of pathways and genomes[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D587 - D592.
[18] Deng YY, Zhang S, Luo Z, et al. VCAM1: an effective diagnostic marker related to immune cell infiltration in diabetic nephropathy[J]. Frontiers in Endocrinology, 2024, 15: 1426913.
[19] Chen H, Su AA, Li Y, et al. Identification of metabolic reprogramming - related genes as potential diagnostic biomarkers for diabetic nephropathy based on bioinformatics[J]. Diabetology & Metabolic Syndrome, 2024, 16(1): 287.
[20] Chen J, Lin JH, Hu YF, et al. RNA Disease v4.0: an updated resource of RNA - associated diseases, providing RNA - disease analysis, enrichment and prediction[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D1397 - D1404.
[21] Li XY, Xu R, Liu XY, et al. Urinary miR - 3137 and miR - 4270 as potential biomarkers for diabetic kidney disease[J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2020, 34(12): e23549.
[22] Furman BL. Streptozotocin - Induced diabetic models in mice and rats[J]. Curr Protoc, 2021, 1(4): e78.
[23] Yang BF, Lin HX, Xiao JN, et al. The muscle - specific microRNA miR - 1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2[J]. Nature Medicine, 2007, 13(4): 486 - 491.
[24] Kipgen D, Crosby J, Dey V, et al. The relationship between histopathological features, immunosuppression and outcome in patients undergoing native kidney biopsies[J]. Histopathology, 2024, 84(4): 671 - 682.
[25] Huang J, Peng J, Pearson JA, et al. Toll - like receptor 7 deficiency suppresses type 1 diabetes development by modulating B - cell differentiation and function[J]. Cellular & Molecular Immunology, 2021, 18(2): 328 - 338.
[26] Zhou ZF, Jiang L, Zhao Q, et al. Roles of pattern recognition receptors in diabetic nephropathy[J]. Journal of Zhejiang University - Science B, 2020, 21(3): 192 - 203.
[27] Liu PH, Luo XY, Wan DY, et al. Emerging trends and focus of Toll - like receptors in kidney diseases: a 20 - year bibliometric analysis[J]. Front Med (Lausanne), 2025, 12: 1599196.
[28] Espada CE, St Gelais C, Bonifati SRA, et al. TRAF6 and TAK1 contribute to SAMHD1 - Mediated negative regulation of NF - κB signaling[J]. Journal of Virology, 2021, 95(3): e01970 - 20.
[29] Li HT, Wang RS, Chen Y, et al. Integrated network pharmacology and pharmacological investigations to discover the active compounds of Toona sinensis pericarps against diabetic nephropathy[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 333: 118441.
[30] Meng XL, Ma JN, Kang SY, et al. Jowiseungki decoction affects diabetic nephropathy in mice through renal injury inhibition as evidenced by network pharmacology and gut microbiota analyses[J]. Chin Med, 2020, 15: 24.
[31] Ho PTB, Clark IM, Le LTT. MicroRNA - Based diagnosis and therapy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(13): 7167.
[32] Shi L, Zhang YF, Xia Y, et al. MiR - 150 - 5p protects against septic acute kidney injury via repressing the MEKK3/JNK pathway[J]. Cellular Signalling, 2021, 86: 110101.

收稿日期:2025-08-05