

他克莫司对慢性肾小球肾炎大鼠的保护作用

Protective effects of tacrolimus on chronic glomerulonephritis in rats

王 玮¹, 王梦婕¹, 华 坚²

(1. 青岛大学附属青岛市海慈医院/青岛市中医医院 药剂科, 山东 青岛 266033; 2. 青岛市市立医院 肾内科, 山东 青岛 266000)

WANG Wei¹, WANG Meng-jie¹,
HUA Jian²

(1. Department of Pharmacy, Qingdao Hiser Hospital Affiliated of Qingdao University/Qingdao Traditional Chinese Medicine Hospital, Qingdao 266033, Shandong Province, China; 2. Department of Nephrology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266000, Shandong Province, China)

作者简介: 王玮(1980-), 男, 主管药师, 主要从事
事医院药品方面工作及相关研究

通信作者: 华坚, 副主任医师

MP: 13698671521

E-mail: 13698671521@163.com

摘要:目的 探究他克莫司通过调控微小RNA-145-5p(miR-145-5p)表达水平介导CXC趋化因子配体16/Ras同系物家族成员A/Rho相关激酶(CXCL16/RhoA/ROCK)通路对慢性肾小球肾炎(CG)大鼠保护作用的机制。

方法 SD大鼠随机分为对照组(等量0.9% NaCl)、模型组(构建CGN模型+等量0.9% NaCl)、实验组(构建CGN模型+3 mg·kg⁻¹·d⁻¹他克莫司)和联合组(在实验组的基础上经尾静脉注射140 nmol·L⁻¹ miR-145-5p antagomir)。用酶联免疫吸附试验法检测24 h尿蛋白(PRO)、血尿素氮(BUN)、血清肌酐(Scr)水平,用实时荧光定量聚合酶链反应法检测大鼠肾组织miR-145-5p的相对表达水平,用蛋白质印迹法检测蛋白相对表达水平。**结果** 对照组、模型组、实验组的24 h PRO水平分别为(7.44±2.16)、(85.29±17.35)和(49.81±9.52) mg, BUN水平分别为(5.82±1.03)、(9.65±1.78)和(6.97±1.14) mmol·L⁻¹, Scr水平分别为(46.31±7.69)、(93.57±16.94)和(58.72±8.36) μmol·L⁻¹; 对照组、模型组、实验组和联合组的miR-145-5p相对表达水平分别为1.00±0.14、0.56±0.07、0.83±0.12和0.68±0.09, TNF-α水平分别为(116.42±14.53)、(237.56±26.18)、(164.79±18.35)和(205.12±21.64) pg·mL⁻¹, IL-1β水平分别为(15.76±1.84)、(52.41±6.27)、(21.35±2.92)和(43.63±4.58) pg·mL⁻¹, IL-6水平分别为(26.28±3.47)、(71.53±8.64)、(38.92±5.06)和(59.78±6.21) pg·mL⁻¹, CXCL16蛋白相对表达水平分别为1.00±0.12、1.62±0.17、1.23±0.14和1.45±0.15, 模型组的上述指标与对照组相比,实验组的上述指标与模型组相比,联合组的上述指标和实验组相比,在统计学上差异均有统计学意义(P<0.05, P<0.01, P<0.001)。**结论** 他克莫司可上调miR-145-5p激活CXCL16/RhoA/ROCK通路,减少炎症因子,改善CGN大鼠肾损伤。

关键词: 他克莫司; 微小分子核糖核酸145-5p; CXC配体16; Rho相关蛋白激酶; 慢性肾小球肾炎

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.06.016

中图分类号: R979.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)06-0834-06

Abstract: Objective To explore the mechanism of tacrolimus mediating the protective effect on chronic glomerulonephritis (CGN) rats through regulating the expression of microRNA-145-5p (miR-145-5p) and modulating the C-X-C motif chemokine ligand 16/Ras homolog family member A/Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase (CXCL16/RhoA/ROCK) pathway. **Methods** SD rats were randomly divided into the control group (administered an equal volume of 0.9% NaCl), model group (CGN model + equal volume of 0.9% NaCl), experimental group (CGN model + 3 mg·kg⁻¹·d⁻¹

tacrolimus) and combined group (experimental group + tail vein injection of $140 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ miR-145-5p antagonist). Enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure 24-hour urinary protein (PRO), blood urea nitrogen (BUN), and serum creatinine (SCr) levels. Real-time quantitative polymerase chain reaction was used to detect the relative expression level of miR-145-5p in rat kidney tissue; Western blotting was used to determine protein expression levels. **Results** The 24-hour PRO levels in the control, model and experimental groups were (7.44 ± 2.16) , (85.29 ± 17.35) and (49.81 ± 9.52) mg, respectively; the BUN levels were (5.82 ± 1.03) , (9.65 ± 1.78) and (6.97 ± 1.14) $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; the SCr levels were (46.31 ± 7.69) , (93.57 ± 16.94) and (58.72 ± 8.36) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. The relative expression levels of miR-145-5p in the control, model, experimental and combined groups were 1.00 ± 0.14 , 0.56 ± 0.07 , 0.83 ± 0.12 and 0.68 ± 0.09 , respectively; the TNF- α levels were (116.42 ± 14.53) , (237.56 ± 26.18) , (164.79 ± 18.35) and (205.12 ± 21.64) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the IL-1 β levels were (15.76 ± 1.84) , (52.41 ± 6.27) , (21.35 ± 2.92) and (43.63 ± 4.58) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the IL-6 levels were (26.28 ± 3.47) , (71.53 ± 8.64) , (38.92 ± 5.06) and (59.78 ± 6.21) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the CXCL16 expression levels were 1.00 ± 0.12 , 1.62 ± 0.17 , 1.23 ± 0.14 and 1.45 ± 0.15 , respectively. Statistical analysis revealed significant differences between the model group and the control group, between the experimental group and the model group, and between the combined group and the experimental group for these indicators ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$).

Conclusion Tacrolimus can upregulate miR-145-5p, activate the CXCL16/RhoA/ROCK pathway, reduce inflammatory factors, and improve kidney damage in CGN rats.

Key words: tacrolimus; microRNA-145-5p; CXC ligand 16; Rho-associated protein kinase; chronic glomerulonephritis

慢性肾小球肾炎 (chronic glomerulonephritis, CGN) 是一种常见的肾疾病, 临床表现为高血压、血尿、蛋白尿、水肿^[1]等, 临床上治疗原则多为控制血压和减少蛋白尿^[2]。新型免疫抑制药他克莫司显示出显著的 CGN 治疗效果^[3]。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类短非编码 RNA, 通过调节 miRNA 的表达, 可对机体产生积极作用^[4]。研究发现, 微小 RNA-145-5p (microRNA-145-5p, miR-145-5p) 对肾缺血损伤大鼠有肾保护作用^[5]。CXC 趋化因子配体 16/Ras 同系物家族成员 A/Rho 相关激酶 (C-X-C motif chemokine ligand 16/Ras homolog family member A/Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase, CXCL16/RhoA/ROCK) 是 CGN 病理过程中关键的信号通路, 参与调控增殖、炎症反应等多种生物学过程, 其异常激活与糖尿病肾病密切相关^[6]。本研究旨在探究他克莫司通过调控 miR-145-5p 对 CGN 大鼠产生保护作用的机制。

材料与方法

1 材料

动物 SPF 级雄性大鼠, 鼠龄 6 周, 体质量 180~200 g, 购自济南朋悦实验动物繁育有限公司。

动物生产许可证号: SCXK(鲁)2022-0006。本研究经青岛市中医医院伦理委员会批准 (伦理批号: 2024HC08LS003)。

药品与试剂 他克莫司胶囊, 规格: 每粒 0.5 mg, 批号: 2305116, 批准文号: 国药准字 H20094027, 杭州中美华东制药有限公司生产。CXCL16 抗体、RhoA 抗体、ROCK1 抗体、ROCK2 抗体、 β -actin 抗体, 均为上海艾博抗贸易有限公司生产; 辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记羊抗兔免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 二抗, 北京普利莱基因技术有限公司生产; 山羊抗地高辛抗体、Alexa Fluor™ 647 偶联兔抗山羊抗体, 均为美国赛默飞公司生产; 尿蛋白 (proteinuria, PRO)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、血清肌酸酐 (serum creatinine, SCr)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒, 均由上海酶联生物科技有限公司生产; 多聚甲醛, 国药集团化学试剂有限公司生产; 苏木精-伊红染色 (hematoxylin-eosin staining, HE) 试剂盒, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司生产; 放射免疫沉淀法裂解缓冲液 (radio immunoprecipitation assay, RIPA), 北京奥秘佳得医药科技有限公司生产; 含

Tween-20 的 Tris 缓冲盐水 (TBS with Tween-20, TBST), 上海尚宝生物科技有限公司生产; 阳离子化牛血清白蛋白 (cationic bovine serum albumin, C-BSA), 北京博蕾德生物科技有限公司生产。引物和探针, 均由上海生工生物有限公司合成。

仪器 PZ-3201 荧光显微镜, 北京品智创思精密仪器有限公司产品; YP-96 酶标仪, 山东优云谱光电科技有限公司产品; HD-NC500Z 凝胶成像系统, 山东环美分析仪器有限公司产品; CFX96 Touch 聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 仪, 美国 Bio-Rad 公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建

参照文献[7]的方法, 通过注射 C-BSA 干粉溶剂, 建立 CGN 大鼠模型, 测定大鼠 24 h PRO 含量, 24 h PRO 含量大于 10 mg 即可认定 CGN 大鼠模型建立成功。

2.2 动物分组与给药方法

将 40 只健康雄性 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、实验组和联合组, 每组 10 只。对照组大鼠正常饲养, 造模期间同时期同部位注射等量 0.9% NaCl, 给药期间灌胃等量 0.9% NaCl, 连续灌胃 2 周; 模型组大鼠按“2.1”中方法造模, 灌胃等量 0.9% NaCl, 连续灌胃 2 周; 实验组大鼠按“2.1”中造模后, 给予大鼠 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 他克莫司, 灌胃给药, 每日 1 次, 连续给药 2 周; 联合组大鼠基于实验组的处置上, 经尾静脉注射 $140 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ miR-145-5p antagomir, 隔日 1 次, 共 2 周。

2.3 ELISA 法检测大鼠尿蛋白及炎症因子水平^[8]

收集对照组、模型组、实验组的大鼠 24 h 尿液, 按照 PRO 定量试剂盒操作方法测定大鼠 24 h PRO 含量。用水合氯醛麻醉大鼠后, 采集大鼠腹主动脉血液样本, 置于离心管中, 在 4°C 下, 以 $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 离心 15 min, 取上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书对血清中 BUN、SCr、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平。

2.4 HE 染色法检测肾组织病理变化^[9]

取对照组、模型组、实验组大鼠肾组织, 将大鼠肾组织冲洗干净, 用 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 将石蜡切片分别置于二甲苯和二甲苯与乙醇的混合溶液 (比例为 1:1) 中浸泡 15 min 脱蜡, 然后在 100%、95%、75% 乙醇中各浸泡 5 min, 用 0.9% NaCl 清洗干净。用苏木精染色 10 min, 1% 盐酸乙醇冲洗, 加入伊红复染 5 min, 随后用自来水冲洗, 梯度乙醇及二甲苯

溶液脱水、透明、中性树胶制片, 于光学显微镜下观察。

2.5 实时荧光定量 PCR (quantitative reverse transcription PCR, qRT-PCR) 检测肾组织 miR-145-5p 的相对表达水平^[10]

取大鼠肾组织细胞, 加入 RIPA 裂解液研磨, 裂解 30 min, 离心, 取上清液, 提取总 RNA, 并进行逆转录; PCR 反应条件为 94°C 预变性 30 s, 94°C 变性 5 s, 60°C 退火 30 s, 共 40 个循环。用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 miR-145-5p 相对表达水平。

2.6 荧光原位杂交技术 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 测定肾组织中 miR-145-5p 的阳性表达水平^[11]

取大鼠肾组织, 用石蜡进行包埋, 切成 $4 \mu\text{m}$ 切片, 用预冷过的丙酮固定 10 min, 在 70% 甲醛- $2 \times \text{SSC}$ 溶液中于 $68 \sim 70^\circ\text{C}$ 下变性 2 min, 依次用 70%、85%、100% 乙醇脱水 3 min, 晾干, 避光滴加探针 $10 \mu\text{L}$, 于 37°C 条件下孵育 6~12 h。清洗干燥后 0.1% Triton-100 封闭 2 min, 磷酸盐缓冲液冲洗。滴加山羊抗地高辛抗体, 温箱孵育 5 min, 磷酸盐缓冲液清洗, 浸入 Alexa Fluor™ 647 偶联兔抗山羊抗体, 温箱孵育 30~60 min。洗涤后, 滴加 ProLong Glass 抗淬灭封片剂 $60 \mu\text{L}$ 。用滤光片盒通过荧光显微镜观察。miR-145-5p 探针序列: $5' - \text{DIG} - \text{AGGGAAC-CUACGAUUCUACC} - \text{DIG} - 3'$ 。

2.7 蛋白质印迹法检测相关蛋白相对表达水平^[12]

取大鼠的肾组织, 经处理后, 加入 RIPA 裂解液, 置于冰上裂解 30 min, 然后离心, 取上清液, 用二喹啉甲酸法检测蛋白浓度。取适量蛋白样品进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电泳结束后分离蛋白并转移到聚偏二氟乙烯膜上, 用浓度为 5% 的脱脂牛奶封闭 2 h 后弃去封闭液, 用 TBST 清洗 3 次, 加入稀释后的 CXCL16 (1:1000)、RhoA (1:600)、ROCK1 (1:800)、ROCK2 (1:800)、 β -actin (1:600) 一抗后置于 4°C 摇床培养箱中过夜, 次日用 TBST 试剂清洗 3 次后, 加入稀释比例为 1:2500 的 HRP 标记过的 IgG 作为二抗试剂, 室温下孵育 2 h, 弃二抗试剂后用 TBST 清洗 3 次, 加入电化学发光溶液, 然后用凝胶成像仪曝光和拍照, 用 Image J 软件分析灰度值。

3 统计学处理

用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用独立样本 t 检验。

结 果

1 他克莫司对大鼠肾功能指标水平的影响

对照组大鼠在造模期间同时期同部位注射等量 0.9% NaCl,灌胃等量 0.9% NaCl;模型组大鼠皮下部位多点注射 C-BSA 乳剂 1 mg,尾静脉注射 C-BSA 乳剂 2.5 mg,灌胃等量 0.9% NaCl;实验组大鼠皮下部位多点注射 C-BSA 乳剂 1 mg,尾静脉注射 C-BSA 乳剂 2.5 mg,灌胃 3 mg·kg⁻¹·d⁻¹他克莫司;联合组大鼠皮下多点注射 C-BSA 乳剂 1 mg,尾静脉注射 C-BSA 乳剂 2.5 mg 和 140 nmol·L⁻¹miR-145-5p antagomir,灌胃 3 mg·kg⁻¹·d⁻¹他克莫司。

对照组、模型组和实验组大鼠的 24 h PRO 分别为(7.44±2.16)、(85.29±17.35)和(49.81±9.52) mg,BUN 分别为(5.82±1.03)、(9.65±1.78)和(6.97±1.14) mmol·L⁻¹,SCr 分别为(46.31±7.69)、(93.57±16.94)和(58.72±8.36)μmol·L⁻¹。模型组与对照组相比,大鼠 24 h PRO、BUN 和 SCr 水平均显著升高(均 *P*<0.05);实验组与模型组相比,大鼠 24 h 尿蛋白、BUN 和 SCr 水平均显著下降(均 *P*<0.001)。

2 他克莫司对大鼠肾组织病理学的影响

HE 染色结果显示:对照组大鼠肾小球形态正常,肾小管之间排列紧凑,肾间质无明显病理变化;模型组与对照组相比,大鼠肾组织中可见明显炎性细胞浸润,肾小球系膜区有明显增生,肾小管的管腔扩张且内有明显的透明管型;实验组与模型组相比,大鼠肾组织炎性浸润情况减轻,肾小球结构基本恢复,透明管型减少。结果见图 1。

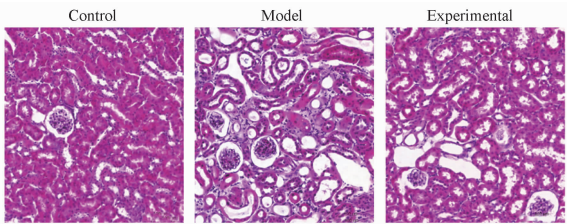


图 1 各组大鼠肾组织苏木精-伊红(HE)染色(×100)
Figure 1 Hematoxylin-eosin (HE) staining of renal tissue in each group of rats (×100)

Control group:The same amount of normal saline was injected in the same place, and the same amount of normal saline was given by gavage; Model group:Subcutaneous multi-point injection of C-BSA emulsion 1 mg,tail vein injection of C-BSA emulsion 2.5 mg,gavage of the same amount of normal saline; Experimental group:Subcutaneous multi-point injection of C-BSA emulsion 1 mg,tail vein injection of C-BSA emulsion 2.5 mg,gavage 3 mg·kg⁻¹·day⁻¹ tacrolimus.

3 他克莫司对 miR-145-5p 在 CGN 大鼠肾组织中表达的影响

对照组、模型组、实验组和联合组的 miR-145-5p 相对表达水平分别为 1.00±0.14、0.56±0.07、0.83±0.12 和 0.68±0.09,模型组与对照组相比,miR-145-5p 相对表达水平显著降低(*P*<0.05);实验组与模型组相比,miR-145-5p 相对表达水平显著升高(*P*<0.05);联合组与实验组相比,miR-145-5p 相对表达水平显著降低(*P*<0.05)。

4 他克莫司通过调控 miR-145-5p 对 CGN 大鼠血清炎症因子的影响

ELISA 检测结果显示:模型组与对照组相比,大鼠血清 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平均显著升高(均 *P*<0.001);实验组与模型组相比,大鼠血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平均显著下降(均 *P*<0.001);联合组与实验组相比较,大鼠血清 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平均显著升高(均 *P*<0.001)。结果见表 1。

5 他克莫司对大鼠肾组织中 miR-145-5p 的阳性表达影响

FISH 检测结果显示:对照组、模型组、实验组和联合组的 miR-145-5p 荧光强度分别为 1.00±0.15、0.17±0.03、0.65±0.09 和 0.41±0.06。模型组与对照组相比,miR-145-5p 荧光强度显著降低(*P*<0.05);实验组与模型组相比,miR-145-5p 的荧光强度显著升高(*P*<0.05);联合组与实验组相比,miR-145-5p 的荧光强度显著降低(*P*<0.05)。

6 他克莫司通过调控 miR-145-5p 介导 CXCL16/RhoA/ROCK 通路

模型组与对照组相比,肾组织中 CXCL16、RhoA、

表 1 各组大鼠血清中炎症因子水平的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Comparison of inflammatory factor levels in serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Group	TNF-α	IL-1β	IL-6
	(pg·mL ⁻¹)	(pg·mL ⁻¹)	(pg·mL ⁻¹)
Control	116.42±14.53	15.76±1.84	26.28±3.47
Model	237.56±26.18***	52.41±6.27***	71.53±8.64***
Experimental	164.79±18.35###	21.35±2.92###	38.92±5.06###
Combined	205.12±21.64 ^{△△△}	43.63±4.58 ^{△△△}	59.78±6.21 ^{△△△}

Combined group:Subcutaneous multi-point injection of C-BSA emulsion 1 mg,tail vein injection of C-BSA emulsion 2.5 mg and 140 nmol·L⁻¹ miR-145-5p antagomir,gavage 3 mg·kg⁻¹·d⁻¹ tacrolimus; TNF-α: Tumor necrosis factor-α;IL-1β:Interleukin-1β;IL-6:Interleukin-6; Compared with the control group,****P*<0.001; Compared with the model group,###*P*<0.001; Compared with the experimental group,△△△*P*<0.001.

表2 各组大鼠肾组织中 CXCL16/Ras 同系物家族成员 A/Rho 相关激酶 (CXCL16/RhoA/ROCK) 信号通路相关蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the relative expression levels of C - X - C motif chemokine ligand 16/Ras homolog family member A/Rho - associated coiled - coil - containing protein kinase (CXCL16/RhoA/ROCK) signaling pathway related proteins in renal tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	CXCL16	RhoA	ROCK1	ROCK2
Control	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.11	1.00 ± 0.10
Model	1.62 ± 0.17***	1.86 ± 0.20***	1.92 ± 0.18***	1.89 ± 0.18***
Experimental	1.23 ± 0.14###	1.41 ± 0.16###	1.54 ± 0.13###	1.60 ± 0.14##
Combined	1.45 ± 0.15 $\Delta\Delta$	1.76 ± 0.19 $\Delta\Delta\Delta$	1.69 ± 0.15 Δ	1.75 ± 0.16 Δ

Dose and *n* refer to tablet 1; Compared with the control group, ****P* < 0.001, Compared with the model group, ##*P* < 0.01, ###*P* < 0.001; Compared with the experimental group, Δ *P* < 0.05, $\Delta\Delta$ *P* < 0.01, $\Delta\Delta\Delta$ *P* < 0.001.

ROCK1、ROCK2 蛋白相对表达水平均显著升高 (均 $P < 0.001$); 实验组与模型组相比, 肾组织中 CXCL16、RhoA、ROCK1、ROCK2 的蛋白相对表达水平均显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.001$); 联合组与实验组相比, 肾组织中 CXCL16、RhoA、ROCK1、ROCK2 的蛋白相对表达水平均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。结果见表 2。

讨 论

慢性肾病近年来的发病率及致死率均在上升, 肾小球肾炎是常见的肾病类型, 其发病较为隐匿, 涉及的机制较为复杂^[13], 在肾小球相关的疾病中, 炎症免疫机制在整个发病过程中都起到重要作用^[14]。他克莫司作为一种免疫抑制药, 主要作用机制是通过干扰 T 细胞的激活, 防止细胞因子发生转录^[15], 目前已被广泛应用于免疫疾病治疗和器官移植, 近年来, 也被逐渐应用于慢性肾疾病治疗^[16]。本研究显示, 经他克莫司治疗后, CGN 大鼠的肾组织病理变化明显得到改善, 炎症症状在给药后出现明显好转, 并且大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平均明显下降, 提示他克莫司具有治疗 CGN 的作用, 这与蒋静^[16]、潘峰^[17]的研究结果是一致的。

研究表明, miRNAs 在临床上的治疗中发挥着关键作用, 能干预细胞的增殖、分化、凋亡等过程^[18], 探索其调控机制, 将为临床治疗带来更多的新思路。研究表明, miR-145-5p 作为一种重要的调节因子, 能靶向抑制去整合素-金属蛋白酶 17, 调控 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 炎症小体通路, 减轻大鼠肾组织炎症和细胞焦亡^[19]。在本研究中, 通过对比模型组和实验组, 可以发现他克莫司能够显著上调 miR-145-5p 的表达水平, 在加入了 miR-145-5p antagomir 后, miR-145-5p 的表达水平出现降低, 说

明他克莫司可以调控 miR-145-5p 表达水平。进一步研究发现, 他克莫司治疗能降低 CGN 大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平, 而添加 miR-145-5p 拮抗药后, CGN 大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均明显升高, 提示他克莫司能够通过调节 miR-145-5p 的表达水平, 降低 CGN 大鼠血清炎症因子水平, 发挥对 CGN 大鼠肾保护作用。CXCL16/RhoA/ROCK 通路与炎症及细胞凋亡等有极为密切的相关性, 研究发现, 丹皮酚可以通过抑制该通路, 抑制肾小球细胞凋亡, 改善系膜增生性肾小球肾炎大鼠肾损伤^[20], 因此推测他克莫司对 CGN 大鼠肾保护作用与 CXCL16/RhoA/ROCK 通路有关。本研究发现, 他克莫司给药后, 大鼠肾组织 CXCL16、RhoA、ROCK1、ROCK2 的表达水平均明显降低, 说明他克莫司能抑制 CXCL16/RhoA/ROCK 通路。进一步研究发现, 在加入 miR-145-5p antagomir 后, 这 4 种通路相关蛋白的表达水平均有所提高, 提示他克莫司通过调控 miR-145-5p, 抑制 CXCL16/RhoA/ROCK 通路的活性, 对 CGN 大鼠起到了保护作用, 同时表明, miR-145-5p 能够通过调节 CXCL16/RhoA/ROCK 通路来影响 CGN 的发展。

本研究提示, 他克莫司可以通过调控 miR-145-5p 介导 CXCL16/RhoA/ROCK 通路, 降低血清炎症因子水平, 发挥对 CGN 大鼠的保护作用。

参考文献:

[1] 卞振华, 张文明, 唐静月, 等. 基于尿液代谢组学和生物网络分析整合策略研究益肾固络合剂治疗慢性肾小球肾炎作用机制[J]. 世界中医药, 2023, 18(20): 2904—2912.

[2] 杨晓南, 赵铁牛. 肾炎康复片联合氯沙坦钾片治疗慢性肾小球肾炎研究进展[J]. 光明中医, 2024, 39(9): 1897—1900.

[3] 刘臻. 他克莫司胶囊对慢性肾小球肾炎患者的治疗效果[J]. 河南医学研究, 2020, 29(27): 5112—5114.

[4] 龚竹韵, 杨晓丹, 程序, 等. 葛根芩连汤调控微 RNA-542-3p

- 对溃疡性结肠炎的保护机制[J]. 世界中医药, 2022, 17(16): 2317—2321.
- [5] 李莎莎, 刘晓茜, 黄静, 等. *miR-145-5p* 对肾缺血/再灌注损伤大鼠的肾脏保护作用及其机制[J]. 山东医药, 2022, 62(35): 29—33.
- [6] SHU A, DU Q, CHEN J, *et al.* Catalpol ameliorates endothelial dysfunction and inflammation in diabetic nephropathy *via* suppression of RAGE/RhoA/ROCK signaling pathway [J/OL]. *Chem Biol Interact*, 2021, 348: e109625. 2021-10-01 [2024-07-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34416245/>.
- [7] 余婷, 谢宇端, 刘晶, 等. 绿原酸通过 cGAS-STING 信号通路改善慢性肾小球肾炎大鼠的 T 淋巴细胞免疫[J]. 免疫学杂志, 2023, 39(9): 737—745.
- [8] 柴希, 储开博, 赖永健, 等. 小青龙汤通过 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路抑制 LPS 诱导慢性肾小球肾炎的机制研究[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(10): 2333—2337.
- [9] 吕月. 铁皮石斛对慢性肾小球肾炎大鼠肾组织中内质网应激相关蛋白的影响[D]. 广西百色: 右江民族医学院, 2023.
- [10] 刘若琪, 杨永裕, 肖旺, 等. 恩替卡韦通过微小 RNA-199a-5p 抑制乙型肝炎病毒复制的机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(24): 2969—2973.
- [11] 袁长深, 李彦宏, 刘晋邑, 等. 化痰祛湿方对 *miR-21* 靶向 Skp2 介导早期膝关节关节炎软骨细胞自噬的影响[J/OL]. 海南医学院学报, 2024; e1—e17. 2024-07-15 [2024-07-23]. <https://doi.org/10.13210/j.cnki.jhmu.20240710.001>.
- [12] 戴雅文, 鄂玲玲, 郑颖, 等. *miR-145-5p* 在正常大鼠与 2 型糖尿病大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化中的表达比较[J]. 解放军医学院学报, 2023, 44(5): 549—557, 575.
- [13] PAUEKSAKON P, NAJAFIAN B, ALPERS C E, *et al.* AJKD atlas of renal pathology: IgA - dominant infection - related glomerulonephritis [J/OL]. *Am J Kidney Dis*, 2024, 83(1): e1—e2. 2024-01-01 [2024-07-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38129071/>.
- [14] ANDERS H J, KITCHING A R, LEUNG N, *et al.* Glomerulonephritis: Immunopathogenesis and immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23(7): 453—471.
- [15] 孙文忠. 他克莫司联合糖皮质激素治疗难治性肾病综合征的临床效果评价[J]. 当代医学, 2019, 25(7): 131—132.
- [16] 蒋静. 他克莫司治疗联合综合康复干预在慢性肾小球肾炎康复治疗中的应用效果[J]. 中国实用医药, 2021, 16(33): 190—192.
- [17] 潘峰. 他克莫司胶囊对慢性肾小球肾炎的治疗效果[J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2020, 7(36): 158, 160.
- [18] ARIF K M T, ELLIOTT E K, HAUPT L M, *et al.* Regulatory mechanisms of epigenetic miRNA relationships in human cancer and potential as therapeutic targets [J/OL]. *Cancers*, 2020, 12(10): e2922. 2020-10-11 [2024-07-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33050637/>.
- [19] 葛尚清. MPO-AAV 外周血分泌 miRNAs 表达及 *miR-145-5p* 在血管内皮损伤中的作用及分子机制研究[D]. 安徽合肥: 安徽医科大学, 2023.
- [20] 迟磊, 任荣, 栗智慧, 等. 丹皮酚通过 CXCL16/ROCK 通路发挥对肾小球肾炎大鼠的保护作用[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2022, 23(6): 513—516, 567. (收稿日期 2024-12-04)

· 科学文摘 ·

Autogene cevumeran 联合或不联合阿替利珠单抗 治疗晚期实体瘤患者的 I 期临床试验

引自: LOPEZ J, *et al.* Autogene cevumeran with or without atezolizumab in advanced solid tumors: A phase 1 trial [J]. *Nat Med*, 2025, 31(1): 152—164.

Autogene cevumeran 是一种基于尿苷信使 RNA 脂质体复合物的个体化新抗原特异性免疫疗法, 通过用每位患者肿瘤组织中的肿瘤特异性体细胞突变数据来设计, 旨在激发针对最多 20 种新抗原的 T 细胞反应。正在进行的 I 期临床试验评估了 Autogene cevumeran 作为单药治疗 ($n=30$) 及与阿替利珠单抗 (atezolizumab) 联合使用 ($n=183$) 在已接受过治疗的晚期实体瘤患者中的疗效。主要目标是评估其安全性和耐受性; 探索性目标则包括药代动力学、药效学、初步抗肿瘤活性及免疫原性的评估。根据非预设的中期分析, Autogene cevumeran 的耐受性良好, 并在 71% 的患者中诱导了多表位的新抗原特异性反应, 且大多数患者在基线时无法检测到此类反应。治疗后的反应持续时间最长可达 23 个月。治疗过程中, 针对多个新抗原的 CD8⁺ T 细胞在循环 CD8⁺ T 细胞中占中位数 7.3%, 部分患者的比例高达 23%。此外, Autogene cevumeran 诱导的 T 细胞在肿瘤浸润性 T 细胞中的比例最高可达 7.2%。在临床上, 也观察到一定的抗肿瘤活性, 包括在单药剂量递增阶段观察到 1 例客观反应, 以及在 2 例不具备免疫治疗反应的患者中, 联合阿替利珠单抗治疗时也有表现。上述结果为 Autogene cevumeran 在更早期治疗阶段的持续开发提供了有力支持。