

[文章编号] 1000-4718(2019)07-1254-07

miR-10b 通过下调 KLF10 促进高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT*

张黎黎, 吕军, 杨荟, 付莎, 李劲高, 黄蓉, 宛霞, 徐安平[△]
(中山大学孙逸仙纪念医院肾内科, 广东广州 510210)

[摘要] 目的: 探讨微小 RNA-10b(miR-10b)在高糖诱导的肾小管上皮细胞上皮-间充质转化(EMT)中的作用及相关机制。方法: 通过 RT-qPCR 法分析 2 型糖尿病合并肾纤维化患者肾组织中 miR-10b 的表达量;利用高糖刺激人肾小管上皮细胞 HK-2 建立 EMT 模型,RT-qPCR 法检测 miR-10b 在 EMT 不同阶段的表达水平。在 HK2 细胞中分别转染 miR-10b 模拟物(mimic)和抑制物(inhibitor) 24 h 后,再给予高糖刺激,相差显微镜观察细胞形态学改变,Western blot 法检测纤连蛋白(fibronectin)和 N-钙黏蛋白(N-cadherin)等 EMT 标志蛋白的表达。通过在线数据库 miRBase 对 miR-10b 的作用靶点进行预测,并利用双萤光素酶报告基因实验进行验证。结果: 与癌旁正常肾组织相比,2 型糖尿病合并肾纤维化患者肾组织中 miR-10b 的表达明显增加($P < 0.01$)。在高糖刺激诱导的 HK-2 细胞 EMT 中,miR-10b 的表达呈现时间依赖性上调($P < 0.01$)。转染 miR-10b inhibitor 可抑制高糖诱导的 HK-2 细胞形态学改变以及 EMT 标志蛋白 fibronectin、SLUG、N-cadherin 和 SNAI1 表达的上调。在线数据库预测 KLF10 的 3'-UTR 可以与 miR-10b 结合,该结果被双萤光素酶报告基因实验证实。同时,KLF10 过表达可以逆转高糖诱导的肾小管上皮细胞的形态学改变以及 fibronectin 和 N-cadherin 等 EMT 标志蛋白。进一步研究显示,miR-10b 是通过抑制 KLF10 表达,从而激活 TGF- β /Smad3 通路发挥作用。结论: miR-10b 可通过下调 KLF10 表达促进高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT。

[关键词] 微小 RNA-10b; 上皮-间充质转化; KLF10; 肾小管上皮细胞; TGF- β /Smad3 信号通路

[中图分类号] R363.2; R587.2 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.07.017

miR-10b promotes high glucose-stimulated epithelial-mesenchymal transition of renal tubular epithelial cells by repressing KLF10 expression

ZHANG Li-li, LÜ Jun, YANG Hui, FU Sha, LI Jin-gao, HUANG Rong, WAN Xia, XU An-ping

(Department of Nephrology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510210, China. E-mail: anpxu@163.com)

[ABSTRACT] AIM: To explore the effect and the underlying mechanisms of microRNA-10b (miR-10b) on high glucose-stimulated epithelial-mesenchymal transition (EMT) of renal tubular epithelial cells. METHODS: The expression level of miR-10b was examined by RT-qPCR in the kidney tissues of the type 2 diabetes patients with kidney fibrosis. The EMT model of HK-2 cells was induced by high glucose stimulation and the miR-10b expression in the process was detected by RT-qPCR. The morphological changes of the HK-2 cells were observed using a microscope. EMT markers, such as fibronectin and N-cadherin, were examined by Western blot. The online database predicted that the 3'-UTR of KLF10 bound to miR-10b and their direct interaction was confirmed by dual luciferase report assay. RESULTS: Compared with the para-carcinoma normal tissues, the expression level of miR-10b was up-regulated in the tissues of type 2 diabetes patients with kidney fibrosis ($P < 0.01$). In high glucose-stimulated HK-2 cells, the expression level of miR-10b was increased in a time-dependent manner ($P < 0.01$). miR-10b inhibitor reversed the morphological changes and the increases expression of the EMT markers including fibronectin, SLUG, N-cadherin and SNAI1 induced by high glucose stimulation. Online database showed miR-10b was able to bind with the 3'-UTR in the promoter region of KLF10, thus negatively regulating its expression. Meanwhile, over-expression of KLF10 inhibited the EMT induced by high glucose. Inhibition of TGF- β /Smad3 activation was observed during the process of KLF10-repressed EMT. CONCLUSION: miR-10b promotes high

[收稿日期] 2018-10-08 [修回日期] 2018-12-20

* [基金项目] 广东省公益研究与能力建设专项资助项目 (No. 2014A020212062)

[△] 通讯作者 Tel: 020-81332585; E-mail: anpxu@163.com

glucose-stimulated epithelial-mesenchymal transition of renal tubular epithelial cells may through repressing KLF10 expression.

[KEY WORDS] MicroRNA-10b; Epithelial-mesenchymal transition; KLF10; Renal tubular epithelial cells; TGF- β /Smad3 signaling pathway

一直以来,肾纤维化被认为是多种慢性肾疾病进展至终末期肾病的病理损伤过程,它与肾功能障碍和最终器官衰竭密切相关,但是目前仍然没有有效干预手段以阻止肾纤维化的发生和发展^[1-2]。尽管投入了大量的研究工作,肾纤维化是如何产生的仍颇具争议性^[2-3],而其中肾小管上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是导致肾纤维化发生的机制之一^[4]。在 EMT 过程中,上皮细胞会失去自身的特性而获得基质细胞的特点,如细胞形态改变;波形蛋白(vimentin)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)等表达增加,细胞迁移能力增强;E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达减少,细胞间连接下降;细胞外基质蛋白,如纤连蛋白(fibronectin, FN)等表达增加^[5]。几乎每一种肾损伤都会不同程度地诱导肾小管上皮细胞经历 EMT 的不同阶段从而导致纤维化,但是 EMT 是如何参与肾纤维化的进程及其具体分子机制尚知之甚少,这意味着对 EMT 的充分了解将会使我们为肾纤维化更好地提出有效的干预策略。

最近有研究表明一些特异的微小 RNA (micro-RNA, miRNA, miR) 在组织的纤维化进程中扮演着至关重要的角色^[6-7]。miRNA 是一类由长约 20 ~ 25 nt 的单链非编码 RNA,它主要通过抑制靶基因的翻译在转录后水平调控靶基因的表达^[8]。miR-10 前体家族成员编码了一系列短非编码 RNA,它们广泛参与到基因的调控过程中^[9],其中,miR-10b 是维甲酸诱导的细胞分化事件中的关键调控子^[10]。除此之外,miR-10b 也被证实可以通过促进细胞的增殖、侵袭以及迁移等过程参与肿瘤生成,包括低级别胶质瘤和乳腺癌等^[11-13],这些事件与 EMT 有很多共同的调控分子,比如生长分化因子 15 (growth differentiation factor 15, GDF15) 可以同时促进转移和 EMT^[14]; Ski 可以参与细胞的侵袭和 EMT^[15],基于以上研究,我们推测 miR-10b 很可能在 EMT 进程中发挥着重要的作用,且其潜在的机制也有待深入研究。

在本研究中,我们检测了 2 型糖尿病合并肾纤维化患者肾组织样本中的 miR-10b 表达水平,并在体外实验中研究了 miR-10b 是否参与了高糖诱导的肾小管上皮细胞的 EMT,并对其相关机制进行了探索,以期对糖尿病肾病肾纤维化的有效治疗提供潜在的候选靶点。

材 料 和 方 法

1 实验试剂

胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 和 DMEM-F12 培养基购自 Gibco; SuperReal PreMix 试剂盒购自北京天根公司; RNAiso Plus 试剂盒、TRIzol 试剂盒和 M-PER 试剂盒购自 Life Technologies; Lipofectamine 2000 转染试剂和 Lipofectamine RNAiMAX 试剂盒购自 Thermo Fisher Scientific; BCA 法蛋白定量试剂盒购自江苏碧云天公司; miR-10b 模拟物 (mimic) 和抑制物 (inhibitor) 购自广东瑞博生物公司; 抗 FN、SLUG、KLF10 和 β -actin 抗体购自 Abcam; 抗 N-cadherin、p-Smad3 和转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 抗体购自 CST; 抗 SNAI1 抗体购自 Proteintech; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自 Promega。

2 临床样本

10 例癌旁肾组织来自病理科留存的肾癌切除术后癌旁正常肾组织 (经病理科检验为正常肾组织); 10 例肾病患者肾组织来自于经肾穿刺检测的 2 型糖尿病合并肾纤维化患者肾组织, 该项实验经过患者知情同意。实验经过中山大学孙逸仙纪念医院伦理委员会批准。

3 方法

3.1 细胞培养与高糖诱导肾小管上皮细胞 EMT 模型的建立 人永生化肾小管上皮细胞 HK-2 购自 ATCC。细胞在含 10% 胎牛血清的 DMEM-F12 培养体系中进行培养, 培养环境为 5% CO₂、95% 相对湿度, Thermo 3111 型 37 °C 恒温密闭式细胞培养箱中。采用 30 mmol/L D-葡萄糖分别作用于 HK-2 细胞 0、12、24 和 48 h, 建立高糖诱导肾小管上皮细胞 EMT 模型。

3.2 瞬时转染实验 HK-2 细胞接种于 35 mm 培养皿中, 静置贴壁后以 Lipofectamine RNAiMAX 转染 KLF10 过表达质粒、miR-10b mimic 和 inhibitor, 乱序 RNA 片段作为对照, 12 h 后更换含 10% FBS 的 DMEM-F12 培养基并给予高糖刺激相应时间。具体步骤如下: 先向 250 μ L Opti-MEM 培养基中加入相应浓度片段, 再向 250 μ L Opti-MEM 培养基中加入 Lipofectamine RNAiMAX 5 μ L, 然后将上述稀释好的 Lipofectamine RNAiMAX 和 miR-10b mimic 或 inhibi-

tor 片段混合,室温静置 5 min;将混合物滴加到所需转染培养皿中(培养基体积为 2.5 mL),最终培养体系为 3 mL。

3.3 RT-qPCR 实验 对于组织:取适量样本组织加入 1 mL RNAiso Plus 至匀浆器进行匀浆,液体澄清后转移至 1.5 mL 离心管中,室温静置 5 min 后,按照说明书提取组织总 RNA。对于细胞:当细胞生长至对数期时,以每孔 2×10^5 密度接种于 6 孔板中,贴壁后给予相应处理。处理结束后除去上清,按照说明书每孔中加入 1 mL TRIzol 试剂提取细胞 RNA。总 RNA 经 Qubit 2.0 荧光计测定浓度后,以 1 μ g 总 RNA 进行逆转录反应,PCR 参数为 42 $^{\circ}$ C 60 min,70 $^{\circ}$ C 10 min 以终止逆转录反应。cDNA 按照 SuperReal PreMix 试剂盒说明书操作,与引物一起进行实时定量 PCR 实验。miRNA-10b 的上游引物序列为 5'-ACATCATAACCCTGTAGAACCGAA-3',下游引物序列为 5'-GATTGGATGTTCTCCACAGTCTC-3';U6 的上游引物序列为 5'-GCTTCGGCACATATACTAAAT-3',下游引物序列为 5'-CGCTTCACGAATTTGCCGTGCAT-3'。设置 PCR 参数为:95 $^{\circ}$ C 10 min;95 $^{\circ}$ C 10 s,62 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s 进行 40 个循环,缓慢升温至 95 $^{\circ}$ C。反应结束后,按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-10b 的相对表达量。

3.4 Western blot 法检测蛋白表达 HK-2 细胞接种于 35 mm 培养皿中,经过各组处理至相应时间后去除上清,预冷 PBS 轻柔洗涤 3 次。每孔加入 200 μ L 细胞裂解液,按照 M-PER 试剂盒说明书提取细胞总蛋白,之后利用 BCA 法试剂盒测定蛋白浓度。蛋白定量至相同浓度后,取蛋白样品 20 μ g,加入 5 \times SDS 蛋白上样缓冲液并在沸水中煮 5 min 使蛋白彻底变性。之后行 SDS-PAGE 分离;湿转法转移到 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h 后加入稀释后的 I 抗(抗体稀释液为 5% BSA),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;次日用 TBST 洗涤 3 次,每次 5 min,加入相应 II 抗室温孵育 1 h,TBST 洗涤 3 次后利用化学发光法显色拍照。

3.5 双萤光素酶报告基因实验 将 *KLF10* 基因 3'-UTR 克隆至 pGL3 质粒以构建 pGL3-KLF10 野生型载体和突变型载体。HK-2 细胞接种于 12 孔板中,静置贴壁后以 Lipofectamine 2000 按照实验设计共转染 pGL3-KLF4 野生型载体或突变型载体以及 miR-10b 模拟物。24 h 后,根据双萤光素酶报告基因实验试剂盒说明书利用 Synergy H1 型多功能酶标仪检测萤火虫萤光素酶活性,以海肾萤光素酶活性作为内参照。

4 统计学处理

使用 GraphPad Prism 6 软件进行实验数据统计

分析。所有实验均进行 3 次或者 3 次以上,数据采用均数 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示。两组或多组定量资料在满足正态分布和方差齐的条件下,分别采用双侧 *t* 检验和单因素方差分析 (one-way ANOVA) 方法。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1 miR-10b 在肾纤维化组织中高表达

癌旁正常肾组织和 2 型糖尿病合并肾纤维化患者肾组织中 miR-10b 表达的分析结果显示,在 2 型糖尿病合并肾纤维化患者肾组织样本中,miR-10b 的表达水平较正常对照组显著增加 ($P < 0.01$),见图 1。

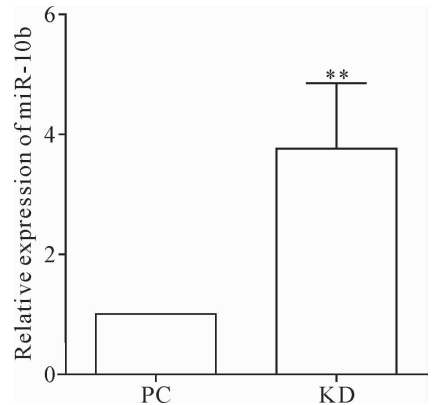


Figure 1. The expression level miR-10b was up-regulated in the tissues from type 2 diabetes patients with kidney fibrosis. The relative expression level of miR-10b in paracarcinoma normal tissues (PC) and type 2 diabetes patients with kidney fibrosis (KD) tissues were detected by RT-qPCR. Mean \pm SD. $n = 10$. ** $P < 0.01$ vs PC group.

图 1 在 2 型糖尿病合并肾纤维化患者肾组织中 miR-10b 的表达增加

2 miR-10b 在高糖刺激的 HK-2 细胞中高表达

30 mmol/L D-葡萄糖分别作用于 HK-2 细胞 0、12、24 和 48 h 后,可时间依赖性地促进 miR-10b 的表达,其中刺激 24 h 和 48 h 后,miR-10b 的表达较正常对照组显著上调 ($P < 0.01$),见图 2A。进一步利用 30 mmol/L 甘露醇作用于 HK-2 细胞 48 h,miR-10b 的表达并没有改变,见图 2B。结果说明,本研究排除了渗透压改变,miR-10b 表达上调是高糖引起的。

3 下调 miR-10b 抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT

HK-2 细胞转染 miR-10b inhibitor 24 h 后,给予 30 mmol/L D-葡萄糖刺激 48 h,观察细胞形态变化和 EMT 标志蛋白表达改变。结果显示,正常对照 (nor-

mal control, NC) 组 HK-2 细胞呈现鹅卵石形状, 高糖 (high glucose, HG) 组细胞表现为成纤维细胞样的长条形, 而 miR-10b inhibitor 预处理可以抑制由高糖刺激诱导的细胞形态学改变, 见图 3A。同时, 与 NC 组

相比, 高糖刺激可诱导 EMT 的分子标志蛋白 fibronectin、SLUG、N-cadherin 和 SNAI1 上调 ($P < 0.01$); 与高糖组相比, miR-10b inhibitor 预处理可抑制高糖诱导的 EMT 分子指标表达 ($P < 0.01$), 见图 3B。

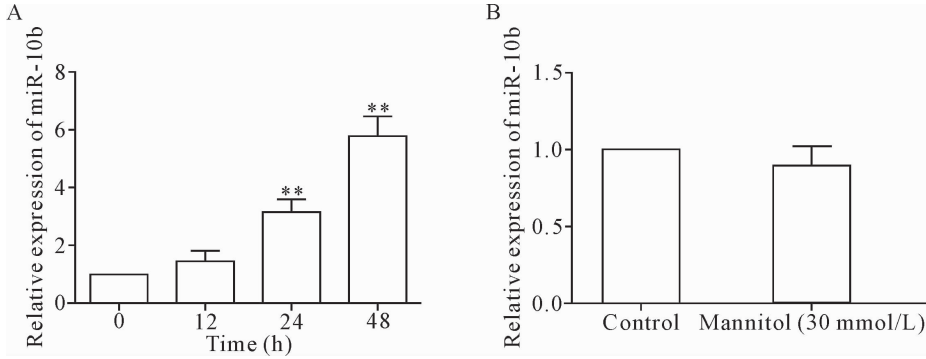


Figure 2. The expression level of miR-10b was up-regulated in high glucose-stimulated HK-2 cells in a time-dependent manner (A), however, 30 mmol/L mannitol had none affect on miR-10b expression (B). The relative expression of miR-10b in each treatment group was detected by RT-qPCR. Mean \pm SD. $n = 3$. ** $P < 0.01$ vs 0 h group.

图 2 高糖刺激以时间依赖的方式诱导 HK-2 细胞中 miR-10b 表达上调

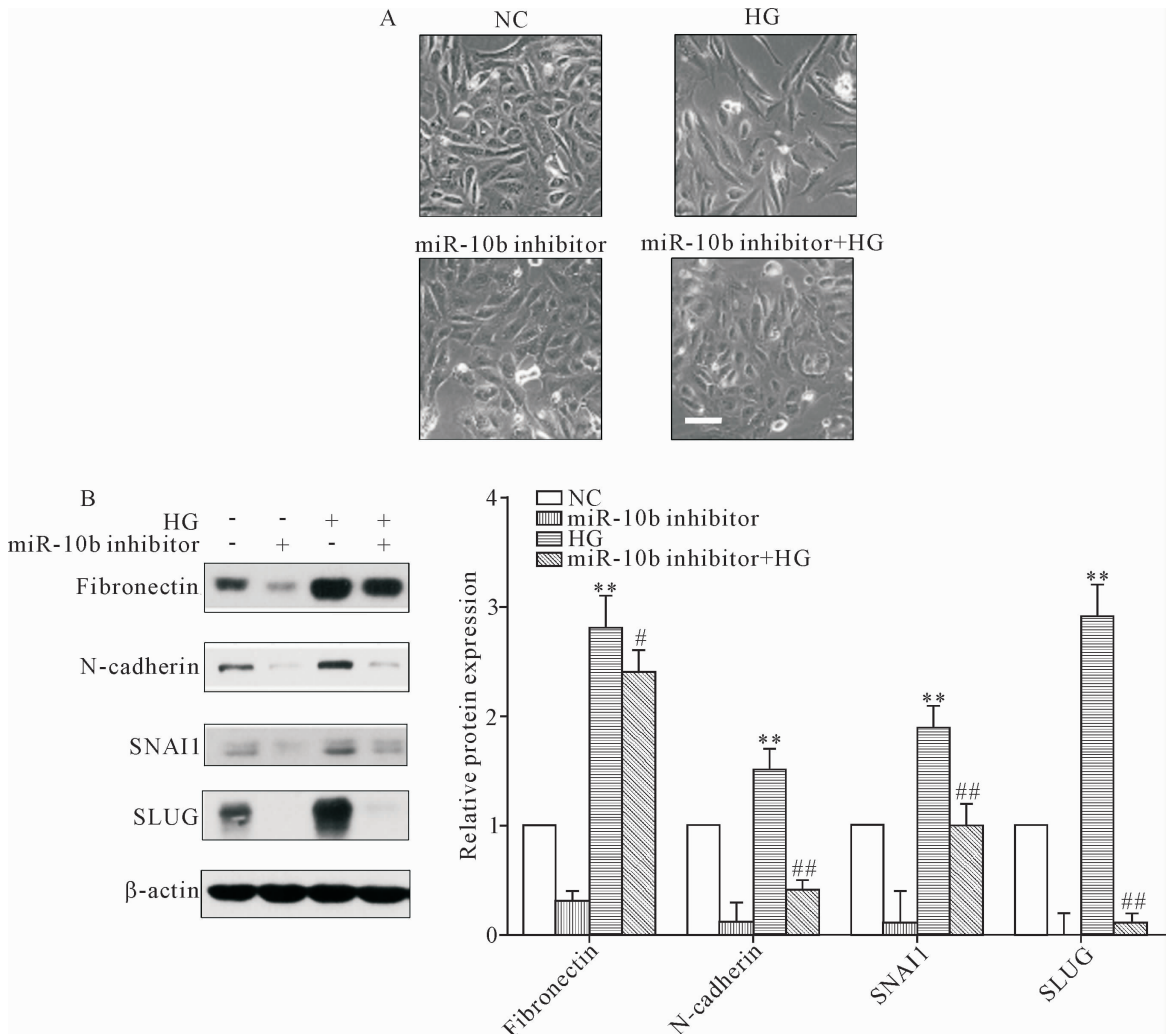


Figure 3. Downregulation of miR-10b inhibited high glucose-induced EMT in renal tubular epithelial cells. A: the morphological changes of HK-2 cells were observed by microscope (scale bar = 20 μ m); B: the expression levels of indicated EMT markers were detected by Western blot. Mean \pm SD. $n = 4$. ** $P < 0.01$ vs NC group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs HG group.

图 3 下调 miR-10b 抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT

4 miR-10b 可直接作用于 KLF10 并抑制其表达

通过在线数据库 miRBase 对 miR-10b 的靶点进行预测,结果显示 KLF10 (Krüppel-like transcription factor 10)是 miR-10b 的一个结合靶点,见图 4A。进一步在 HK-2 细胞转染 miR-10b mimic 或 inhibitor,检测 KLF10 表达水平,结果显示在转染 miR-10b mimic 之后,KLF10 的表达显著下降($P < 0.01$);而在转染 miR-10b inhibitor 后,KLF10 的表达明显增加($P < 0.01$),见图 4B、C。为了进一步验证 KLF10 是否为 miR-10b 的直接作用靶点,在 pGL3 载体中克隆入

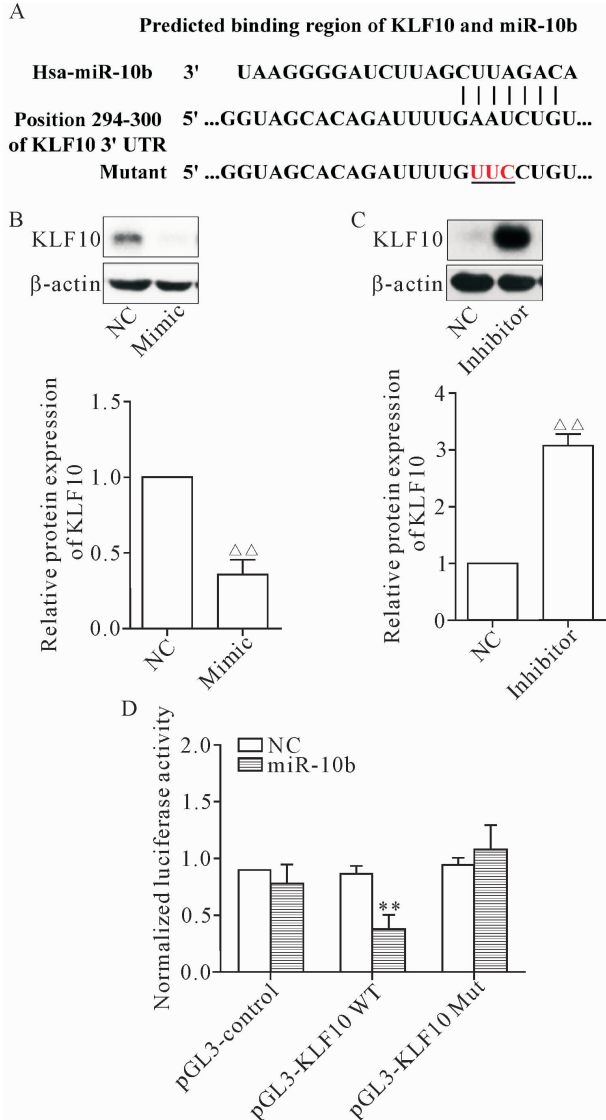


Figure 4. miR-10b directly targeted KLF10 mRNA and negatively regulated its expression. A: schematic representation of KLF 3'-UTR showing putative miR-10b binding site; B and C: miR-10b mimic inhibited KLF10 expression, whereas inhibitor augmented KLF10 expression; D: relative luciferase activity of KLF10-WT and KLF10-mutant. Mean \pm SD. $n = 3$. $\Delta\Delta P < 0.01$ vs NC group.

图 4 miR-10b 直接作用于 KLF10 并抑制其表达

KLF10 3'-UTR 的野生型和突变型,结果显示,在共转染 pGL3-KLF10 野生型质粒与 miR-10b 前体质粒时,荧光强度被明显抑制($P < 0.01$);而与 miR-10b 结合区域被突变后,荧光强度与正常水平类似,见图 4D。这些结果提示 miR-10b 可直接作用于 KLF10 并抑制其表达。

5 KLF10 过表达抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT

为研究 KLF10 对肾小管上皮细胞 EMT 的直接作用,用 KLF10 过表达质粒转染 HK-2 细胞,24 h 后再用高糖刺激 48 h,分析 KLF10 对 EMT 的影响,结果显示,KLF10 过表达可以逆转由高糖诱导的 HK-2 细胞的形态学改变,见图 5A,并显著抑制 fibronectin、SLUG、N-cadherin 和 SNAI1 的表达($P < 0.01$),见图 5B。这些结果提示 KLF10 过表达抑制肾小管上皮细胞的 EMT。

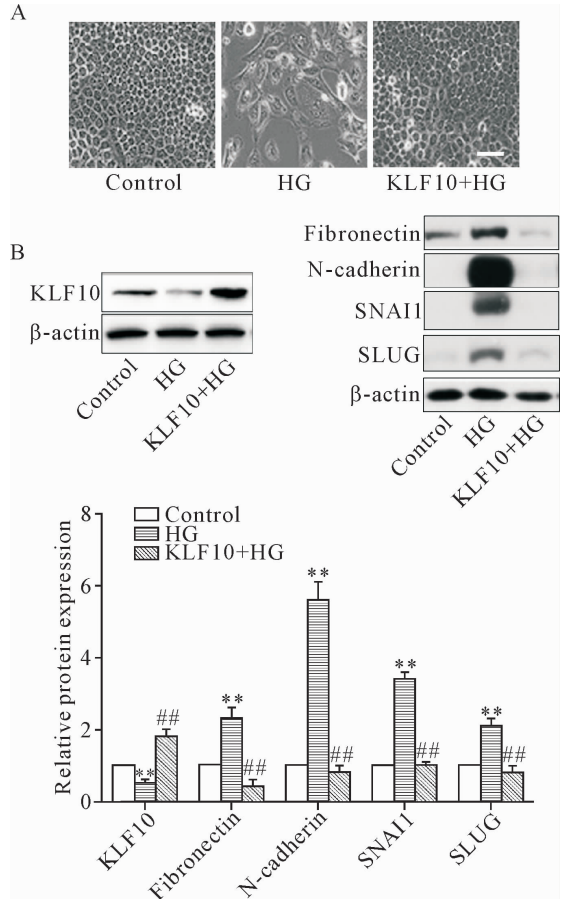


Figure 5. KLF10 over-expression reversed high glucose-induced EMT in HK-2 cells. A: the morphological changes of HK-2 cells were examined by microscope (scale bar = 20 μ m); B: the expression levels of EMT markers were detected by Western blot. Mean \pm SD. $n = 3$. ** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs HG group.

图 5 过表达 KLF10 可以逆转高糖刺激诱导的 HK2 细胞 EMT

6 KLF10 过表达抑制 TGF- β /Smad3 激活

Western blot 结果显示,高糖可诱导 TGF- β /Smad3 通路激活,而 KLF10 过表达抑制高糖诱导的 TGF- β /Smad3 通路激活($P < 0.01$),见图 6A,该结果与图 5 结果共同说明 KLF10 通过抑制 TGF- β /Smad3 信号通路,抑制肾小管上皮细胞 EMT。接下来,进一步研究 miR-10b 对 EMT 的促进作用是否由 KLF10/

TGF- β /Smad3 通路所介导,直接在 HK-2 细胞中转染 miR-10b mimic 可显著增强 TGF- β /Smad3 通路活性,而 KLF10 过表达可逆转 miR-10b 的作用($P < 0.01$),见图 6B。以上结果共同说明 miR-10b 促进高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT 的作用是通过 KLF10/TGF- β /Smad3 信号通路介导的。

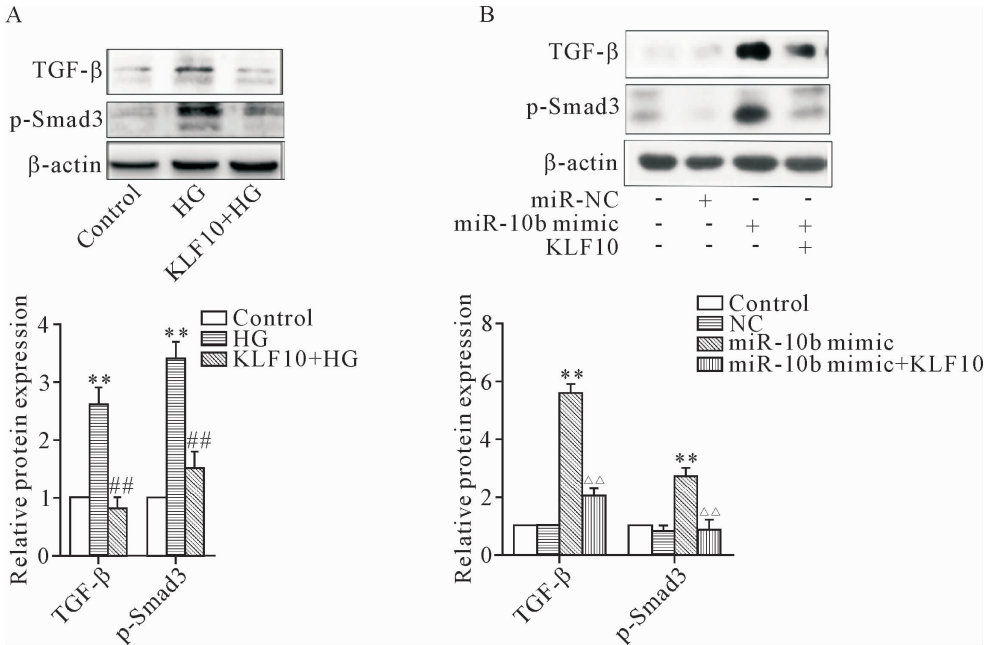


Figure 6. KLF10 over-expression inhibited EMT by suppression of TGF- β /Smad3 signaling pathway. A: KLF10 over-expression reversed high glucose-stimulated TGF- β /Smad3 activation; B: KLF10 over-expression inhibited miR-10b mimic-induced TGF- β /Smad3 activation. Mean \pm SD. $n = 3$. ** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs NC group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs miR-10b mimic group.

图 6 KLF10 过表达通过抑制 TGF- β /Smad3 信号通路逆转 EMT

讨 论

研究表明肾小管上皮细胞 EMT 在肾纤维化过程中扮演着重要的角色^[16],除此之外,众多研究者在多种模型中也发现抑制 EMT 可以有效减轻肾纤维化的发生^[17-19]。这些研究背景从不同层面表明了 EMT 在肾纤维化过程中的重要性。在这些研究中,miRNAs 在 EMT 事件中所扮演的角色一直受到人们的关注。本研究发现在高糖诱导的 HK-2 细胞纤维化过程中 miR-10b 表达上调,且抑制 miR-10b 能部分抑制高糖诱导的 HK-2 细胞纤维化。进一步研究发现 KLF10 是 miR-10 参与高糖诱导的 HK-2 细胞纤维化过程中的直接靶点,miR-10b 是通过下调 KLF10 来完成促进高糖诱导的 HK2 细胞纤维化的。KLF10 是一个含有锌指蛋白结构域的转录因子,TGF- β 是它一个早期应答基因^[20]。大量研究表明 TGF- β /Smad3 在肾纤维化的 EMT 中扮演着重要的角

色^[20-22]。因此本研究探讨 KLF10 是否通过 TGF- β /Smad3 通路影响肾小管上皮细胞 EMT。我们发现 miR-10b 可以通过抑制 KLF10 的表达从而促进 EMT 进程;同时,miR-10b 表达也促进 TGF- β /Smad3 的激活。同样在肺癌细胞 A549 的研究中表明 KLF10 可以通过占据促 EMT 转录因子 SLUG 启动子中的 GC 高含量区域,从而抑制 HDAC1 的招募导致 SLUG 的下调表达,这些事件协同作用阻碍了 EMT 的进程^[23]。与此结果一致,在本研究中,我们发现 KLF10 的上调表达可以抑制包括 SLUG 在内的一些促 EMT 转录因子的表达,同时也可抑制 EMT 的发生。除此之外,KLF10 的高表达也可以抑制促 EMT 转录因子 SNAI1 的表达。但是 KLF10 是通过何种作用机制使得它们的表达受到影响还需要我们进一步证明。总而言之,我们的结果证明了 KLF10 是 miR-10b 介导的 EMT 事件中不可缺少的一环。

综上所述,我们的研究表明 miR-10b 可通过直

接抑制 KLF10 的表达从而促进高糖刺激的肾小管上皮 EMT。miR-10b 在糖尿病肾病肾纤维化的诊断与治疗中有望成为一个有潜力的候选靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Hu J, Wang W, Zhang F, et al. Hypoxia inducible factor-1 α mediates the profibrotic effect of albumin in renal tubular cells[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):15878.
- [2] Rastaldi MP. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for the development of renal tubulointerstitial fibrosis[J]. *2006*, 19(4):407-412.
- [3] Grande MT, Sánchez-Laorden B, López-Blau C, et al. Snail1-induced partial epithelial-to-mesenchymal transition drives renal fibrosis in mice and can be targeted to reverse established disease[J]. *Nat Med*, 2015, 21(9):989-997.
- [4] Cruz-Solbes AS, Youker K. Epithelial to mesenchymal transition (EMT) and endothelial to mesenchymal transition (EndMT): Role and implications in kidney fibrosis[J]. *Results Probl Cell Differ*, 2017, 60:345-372.
- [5] Wang Y, Le Y, Xue JY, et al. Let-7d miRNA prevents TGF- β 1-induced EMT and renal fibrogenesis through regulation of HMGA2 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 479(4):676-682.
- [6] Cheng G. Circulating miRNAs: roles in cancer diagnosis, prognosis and therapy[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 81:75-93.
- [7] Tang O, Chen XM, Shen S, et al. MiRNA-200b represses transforming growth factor- β 1-induced EMT and fibronectin expression in kidney proximal tubular cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 304(10):F1266-F1273.
- [8] Ma J, Zhang L, Hao J, et al. Up-regulation of microRNA-93 inhibits TGF- β 1-induced EMT and renal fibrogenesis by down-regulation of Orail[J]. *J Pharmacol Sci*, 2018, 136(4):218-227.
- [9] Tehler D, Høyland-Kroghsbo NM, Lund AH. The miR-10 micro-RNA precursor family[J]. *RNA Biol*, 2011, 8(5):728-734.
- [10] Meseguer S, Mudduluru G, Escamilla JM, et al. MicroRNAs-10a and -10b contribute to retinoic acid-induced differentiation of neuroblastoma cells and target the alternative splicing regulatory factor SFRS1 (SF2/ASF)[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(6):4150-4164.
- [11] Ciafrè SA, Galardi S, Mangiola A, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334(4):1351-1358.
- [12] Pal R, Greene S. microRNA-10b is overexpressed and critical for cell survival and proliferation in medulloblastoma[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9):e0137845.
- [13] Eissa S, Matboli M, Shehata HH, et al. MicroRNA-10b and minichromosome maintenance complex component 5 gene as prognostic biomarkers in breast cancer[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(6):4487-4494.
- [14] Li C, Wang J, Kong J, et al. GDF15 promotes EMT and metastasis in colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(1):860-872.
- [15] Yang H, Zhan L, Yang T, et al. Ski prevents TGF- β -induced EMT and cell invasion by repressing SMAD-dependent signaling in non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(1):87-94.
- [16] Kanlaya R, Khamchun S, Kapincharanon C, et al. Protective effect of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) via Nrf2 pathway against oxalate-induced epithelial mesenchymal transition (EMT) of renal tubular cells[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:30233.
- [17] Sun Z, Ma Y, Chen F, et al. miR-133b and miR-199b knockdown attenuate TGF- β 1-induced epithelial to mesenchymal transition and renal fibrosis by targeting SIRT1 in diabetic nephropathy[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 837:96-104.
- [18] Loeffler I, Wolf G. Epithelial-to-mesenchymal transition in diabetic nephropathy: fact or fiction[J]. *Cells*, 2015, 4(4):631-652.
- [19] Zhao Y, Yin Z, Li H, et al. MiR-30c protects diabetic nephropathy by suppressing epithelial-to-mesenchymal transition in db/db mice[J]. *Aging Cell*, 2017, 16(2):387-400.
- [20] Zoni E, van der Pluijm G, Gray PC, et al. Epithelial plasticity in cancer: unmasking a microRNA network for TGF- β -, Notch-, and Wnt-mediated EMT[J]. *J Oncol*, 2015, 2015:198967.
- [21] Katsuno Y, Lamouille S, Derynck R. TGF- β signaling and epithelial-mesenchymal transition in cancer progression[J]. *Curr Opin Oncol*, 2013, 25(1):76-84.
- [22] Elmansuri AZ, Tanino MA, Mahabir R, et al. Novel signaling collaboration between TGF- β and adaptor protein Crk facilitates EMT in human lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19):27094-27107.
- [23] Mishra VK, Subramaniam M, Kari V, et al. Krüppel-like transcription factor KLF10 suppresses TGF β -induced epithelial-to-mesenchymal transition via a negative feedback mechanism[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(9):2387-2400.

(责任编辑:陈妙玲,宋廷君)