

miR-34a 调控 Kruppel 样因子 4 参与脂多糖介导的脓毒症相关性肾损伤

姜启栋 伍长学 张琼

646000 四川泸州,西南医科大学附属第一医院 ICU(姜启栋、伍长学);646000 四川泸州,西南医科大学附属第二医院肾病内科(张琼)

通讯作者:张琼,Email:1638437056@qq.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.04.013

【摘要】 目的 探讨微小 RNA-34a (miR-34a)是否通过调控 Kruppel 样因子 4 (KLF4)参与脂多糖 (LPS)介导的脓毒症相关性肾损伤。方法 30 只健康雄性 SD 大鼠,体重 180~200 g,按随机数字表法分为对照组和模型组,每组 15 只。模型组大鼠经尾静脉注射 LPS 7.5 mg/kg 诱导脓毒症相关性肾损伤模型;对照组大鼠则注射等量生理盐水。用多功能生化仪检测两组大鼠血肌酐 (SCr)和尿素氮 (BUN)含量;经苏木素-伊红 (HE)染色后观察肾组织病理学改变;用实时荧光定量反转录-聚合酶链反应 (qRT-PCR)检测血浆和肾组织 miR-34a 及 KLF4 的基因表达;用蛋白质免疫印迹试验 (Western Blot)检测肾组织 KLF4 蛋白表达;用双荧光素酶报告基因分析法验证 KLF4 是否为 miR-34a 靶基因。结果 与对照组比较,模型组肾组织炎性细胞浸润增加,血 SCr 和 BUN 显著升高 [SCr ($\mu\text{mol/L}$): 142.5 ± 10.6 比 46.4 ± 5.6 , BUN (mmol/L): 31.6 ± 6.2 比 8.5 ± 1.2 , 均 $P < 0.01$], 血浆和肾组织 miR-34a 基因表达明显增加 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$: 血浆为 2.26 ± 0.11 比 1.14 ± 0.05 , 肾组织为 4.23 ± 0.12 比 1.12 ± 0.04 , 均 $P < 0.01$), 肾组织 KLF4 基因和蛋白表达明显降低 [基因表达 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.52 ± 0.03 比 1.21 ± 0.06 , 蛋白表达 (A 值): 0.72 ± 0.03 比 1.05 ± 0.04 , 均 $P < 0.01$], 说明大鼠发生了肾损伤。Pearson 相关性分析显示,血浆 miR-34a mRNA 表达与 SCr 和 BUN 均呈正相关 (r 值分别为 0.678、0.721, 均 $P < 0.01$)。双荧光素酶报告基因系统证实, KLF4 是 miR-34a 的靶基因。结论 miR-34a 通过调控 KLF4 参与了 LPS 介导的脓毒症相关性肾损伤。

【关键词】 微小 RNA-34a; Kruppel 样因子 4; 脓毒症相关性肾损伤; 脂多糖

基金项目: 四川省卫生和计划生育委员会课题 (17PJ396)

MicroRNA-34a participates in lipopolysaccharide mediated sepsis related renal function impairment via Kruppel-like factor 4

Jiang Qidong, Wu Changxue, Zhang Qiong

Department of Intensive Care Unit, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China (Jiang QD, Wu CX); Department of Nephrology, the Second Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China (Zhang Q)

Corresponding author: Zhang Qiong, Email: 1638437056@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate whether microRNA-34a (miR-34a) participates in lipopolysaccharide (LPS) mediated sepsis related renal function impairment via Kruppel-like factor 4 (KLF4). **Methods** Thirty healthy male Sprague-Dawley (SD) rats, weighing 180-200 g, were randomly divided into two groups: control group and model group, with 15 rats in each group. The SD rats from model group were injected with LPS 7.5 mg/kg to induce sepsis related renal function impairment model, the SD rats from control group were injected with normal saline. The serum creatinine concentration (SCr) and blood urine nitrogen (BUN) content was detected by multifunction biochemical analyzer; the morphological changes of renal tissue were observed by hematoxylin and eosin stain (HE) staining; the expression of miR-34a and KLF4 gene in plasma and renal tissue were detected by real-time quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR); the protein expression of KLF4 in renal tissue was detected by Western Blot; the target gene of miR-34a was verified by double luciferase reporter gene analysis. **Results** Compared with control group, inflammatory cell infiltration in renal tissue was increased in model group, the SCr and BUN were significantly increased [SCr ($\mu\text{mol/L}$): 142.5 ± 10.6 vs. 46.4 ± 5.6 , BUN (mmol/L): 31.6 ± 6.2 vs. 8.5 ± 1.2 , both $P < 0.01$], the gene expression of miR-34 in plasma and renal tissue were significantly increased ($2^{-\Delta\Delta Ct}$: 2.26 ± 0.11 vs. 1.14 ± 0.05 in plasma, 4.23 ± 0.12 vs. 1.12 ± 0.04 in renal tissue, both $P < 0.01$), the gene and protein expressions of KLF4 were significantly decreased [KLF4 gene ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.52 ± 0.03 vs. 1.21 ± 0.06 , KLF4 protein (A value): 0.72 ± 0.03 vs. 1.05 ± 0.04 , both $P < 0.01$], which indicated that kidney injury occurred in rats. Pearson correlation analysis showed that plasma miR-34a was positively correlated with SCr and BUN (r value were 0.678, 0.721, respectively, both $P < 0.05$). Double luciferase reporter assay confirmed that KLF4 was the target gene of miR-34a. **Conclusion** The miR-34a participates in LPS mediated sepsis related renal function impairment via KLF4.

【Key words】 MicroRNA-34a; Kruppel-like factor 4; Sepsis related renal function impairment; Lipopolysaccharide

Fund program: Sichuan Provincial Health and Family Planning Committee of China (17PJ396)

脓毒症是机体对感染反应失调而导致危及生命的器官功能障碍综合征。由脓毒症引起的急性肾损伤(AKI)是目前重症加强治疗病房(ICU)面临的一个非常棘手的问题,其病死率较高^[1-2]。但到目前为止,由脓毒症导致的AKI治疗效果仍是不佳的^[3-6],主要原因是对其相关病理机制缺乏足够认识。微小RNA(miRNA)是一种非编码小RNA,主要通过作用于下游基因的3'-UTR,从而调控下游基因表达,参与许多非常重要的病理生理过程。相关研究显示,miR-34a可通过抑制转录因子-3表达而减轻由脂多糖(LPS)介导的急性肺损伤(ALI)^[7],但miR-34a在脓毒症引起AKI中的作用及相关机制尚不清楚。本研究旨在探讨miR-34a在LPS介导的脓毒症相关性肾损伤中的作用及相关机制,从而为脓毒症引起的AKI提供新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及模型建立:健康雄性SD大鼠30只,体重180~200g,购于西南医科大学实验动物中心,动物许可证号:SYXK(川)2013-181。按照随机数字表法将SD大鼠分为对照组和模型组,每组15只。所有大鼠饲养于(20±2)℃、相对湿度60%~70%、明暗各12h的动物实验室内。模型组大鼠于制模前禁食水8h,腹腔注射0.75%戊巴比妥麻醉后仰卧位固定,经尾静脉注射LPS(美国Sigma公司)7.5mg/kg制备脓毒症AKI模型;对照组则注射等量生理盐水。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准,按照西南医科大学动物管理办法进行相关实验。

1.2 检测指标及方法

1.2.1 血液及肾组织样本获取:制模后24h取股动脉血,放血并处死大鼠分离肾组织,一侧肾组织于4%多聚甲醛溶液中固定,另一侧肾组织置于去RNA酶小离心管(EP管)中迅速冻于-70℃冰箱。

1.2.2 血肌酐(SCr)和尿素氮(BUN)测定:应用多功能生化仪检测SCr和BUN水平。

1.2.3 组织病理学观察:取4%多聚甲醛溶液固定的肾组织,经石蜡包埋、5μm厚连续切片、苏木素-伊红(HE)染色后,光镜下观察肾组织形态学改变。

1.2.4 miR-34a及Kruppel样因子4(KLF4)基因表达测定:提取血浆及肾组织总RNA,反转录cDNA。取反转录产物,行实时荧光定量反转录-聚合酶链反应(qRT-PCR)。反应条件:95℃10min,95℃15s,40个循环;60℃1min,40个循环。KLF4引物

序列:上游5'-CATCAGTGTAGCAAAGGAAGC-3',下游5'-GTGGCATGAGCTCTTGATAATG-3'。采用2^{-ΔΔCt}法计算基因表达量。

1.2.5 KLF4蛋白表达测定:采用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测。提取肾组织总蛋白,取200μL蛋白样本行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转至硝酸纤维素膜,4℃下封闭4h,TBS缓冲液漂洗,加入KLF4一抗,4℃孵育过夜,TBS缓冲液漂洗,加入相应二抗,用发光试剂盒放射自显影,Image J软件分析吸光度(A)值。

1.2.6 miR-34a靶基因验证:分别构建含有野生型KLF4基因3'-UTR序列的荧光素酶报告基因质粒和含有突变型KLF4基因3'-UTR序列的荧光素酶报告基因质粒。分别将野生型KLF4质粒、突变型KLF4质粒及miR-34a激活剂共转染至HEK-293细胞,置于37℃和5%CO₂培养箱中培养48h,采用双荧光素酶报告基因系统检测HEK-293细胞相对荧光素酶活性。

1.3 统计学方法:使用SPSS 20.0软件统计处理数据。各组数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本t检验;血浆miR-34a与SCr、BUN的相关性采用Pearson相关分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肾组织病理学改变(图1):对照组肾组织未见明显组织病理学改变;模型组发生肾组织损伤,可见大量炎性细胞浸润。

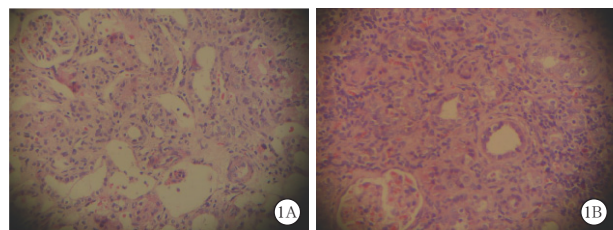


图1 光镜下观察两组大鼠肾组织病理学改变 对照组(A)肾组织结构正常;脂多糖致脓毒症相关性肾损伤模型组(B)可见明显的基底层增厚及炎性细胞浸润 HE染色 中倍放大

2.2 SCr和BUN水平(表1):与对照组相比,模型组SCr和BUN水平显著增加(均 $P < 0.01$)。

表1 脂多糖致大鼠脓毒症相关性肾损伤后血肌酐(SCr)和尿素氮(BUN)水平改变($\bar{x} \pm s$)

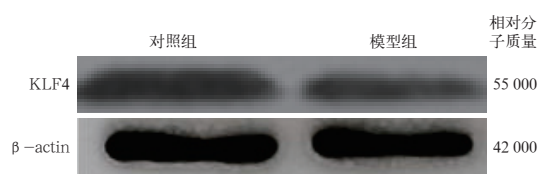
| 组别 | 动物数(只) | SCr(μmol/L) | BUN(mmol/L) |
|-----|--------|-------------|-------------|
| 对照组 | 15 | 46.4±5.6 | 8.5±1.2 |
| 模型组 | 15 | 142.5±10.6 | 31.6±6.2 |
| t值 | | 31.050 | 14.170 |
| P值 | | <0.001 | <0.001 |

2.3 血液及肾组织 miR-34a mRNA 表达(表 2):与对照组相比,模型组血液及肾组织 miR-34a mRNA 表达均明显升高(均 $P < 0.01$)。

| 组别 | 动物数(只) | mRNA 表达($2^{-\Delta\Delta Ct}$) | | | 肾 KLF4 蛋白表达(A 值) |
|-----|--------|-----------------------------------|-------------|-------------|------------------|
| | | 血 miR-34a | 肾 miR-34a | 肾 KLF4 | |
| 对照组 | 15 | 1.14 ± 0.05 | 1.12 ± 0.04 | 1.21 ± 0.06 | 1.05 ± 0.04 |
| 模型组 | 15 | 2.26 ± 0.11 | 4.23 ± 0.12 | 0.52 ± 0.03 | 0.72 ± 0.03 |
| t 值 | | 35.900 | 95.220 | 39.860 | 11.470 |
| P 值 | | < 0.001 | < 0.001 | < 0.001 | < 0.001 |

注:miR-34a 为微小 RNA-34a, KLF4 为 Kruppel 样因子 4

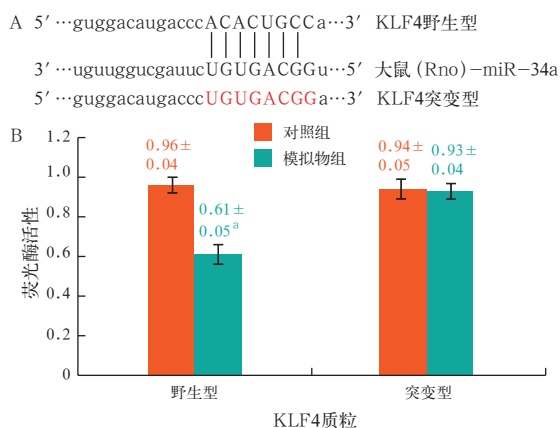
2.4 肾组织 KLF4 mRNA 及蛋白表达(表 2;图 2):与对照组相比,模型组肾组织 KLF4 mRNA 及蛋白表达均明显降低(均 $P < 0.01$)。



KLF4 为 Kruppel 样因子 4, β -actin 为 β -肌动蛋白
图 2 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测脂多糖致大鼠脓毒症相关性肾损伤后肾组织 KLF4 蛋白表达

2.5 相关性分析:血液 miR-34 mRNA 表达与 SCr($r=0.678, P=0.001$)和 BUN($r=0.721, P=0.002$)均呈正相关。

2.6 双荧光素酶报告基因系统证实 miR-34a 靶基因(图 3):根据 miRanda、TargetScan 及 PicTar 数据库分析, KLF4 与 miR-34a 存在一个假定的结合位点, miR-34a 模拟物可明显抑制野生型 KLF4 质粒的荧光素酶活性($P < 0.05$),对突变型 KLF4 质粒的荧光素酶活性无明显抑制作用。



注:A 为 Kruppel 样因子 4(KLF4)与微小 RNA-34a(miR-34a)存在一个 7 个碱基互补配对的假定结合区域;B 为定量测定 miR-34a 模拟物对野生型 KLF4 质粒的荧光素酶活性和突变型 KLF4 质粒的荧光素酶活性的影响;与对照组比较, $^aP < 0.05$

图 3 双荧光素酶报告基因系统验证 KLF4 是 miR-34a 靶基因

3 讨论

脓毒症相关性肾损伤是一种由脓毒症引起的器官损伤,病死率较高,目前对其发生发展分子机制尚不够了解。因此,对脓毒症相关性肾损伤发生发展分子机制进行探讨,寻找新的治疗靶点,对于该疾病的治疗是非常重要及有意义的。

miRNAs 属于高度保守的非编码小分子单链 RNA,其广泛存在于真核生物中。在正常生理状态下,机体内的 miRNAs 表达遵守严格的组织、时序特异性;但在病理状态下,不同的 miRNAs 则表现出不同的生物学功能,其参与了多种疾病的发生发展过程^[8-10]。国外相关研究表明,血清 miR-150 水平降低与危重症患者不良预后相关,并且是脓毒症的危险因素,能作为危重症和脓毒症诊断及预后的标志物^[11]。此外,miR-204/miR-211 能导致 H6 同源框 1(HMX1)表达上调,miR-204/miR-211-HMX1 信号通路参与了脓毒症引起的肾功能不全临床免疫抑制^[12]。再者,在血管内皮细胞中,miR-107 表达上调能通过双特异性磷酸酶 7(DUSP7)诱导并增加肿瘤坏死因子- α (TNF- α)分泌,其可能为脓毒症直接导致肾小管上皮细胞损伤的机制^[13]。有研究显示,多个异常表达的 miRNAs 在脓毒症相关性肾损伤患者中被发现,其下游相关性信号通路参与肾脏发育,与氮化合物代谢和细胞代谢过程的调控、细胞氧化应激反应、线粒体外膜通透性等有关^[14]。因此我们认为,在脓毒症相关性肾损伤过程中也存在不同 miRNAs 差异表达,这些差异表达的 miRNAs 参与了脓毒症相关性肾损伤的发生发展过程,并在此过程中扮演着重要的角色。本研究结果显示,LPS 诱导脓毒症相关性肾损伤时血液及肾脏组织中 miR-34a mRNA 表达明显增加,且血液 miR-34a mRNA 表达与血中 SCr 和 BUN 水平均呈正相关,因此我们认为,miR-34a 表达上调参与了脓毒症相关性肾损伤,其表达水平可以反映脓毒症相关性肾损伤的程度。

虽然已证实 miR-34a 在脓毒症相关性肾损伤中发挥着重要作用,但 miR-34a 调控的下游基因仍不清楚。本研究中我们通过生物学信息技术验证了 KLF4 可能是 miR-34a 发挥作用的靶基因,通过双荧光素酶报告基因系统证实 KLF4 是 miR-34a 发挥作用的靶点;另外也在脓毒症相关性肾损伤组织中发现 KLF4 表达是降低的。KLF4 是一种锌指转录因子,可通过激活或抑制多种基因的转录活性参与细胞的各种功能,如细胞分化、细胞增殖及相关

的炎症反应等^[15]。研究显示：①在血管内皮细胞中，KLF4 过表达具有抗炎和抗血栓形成的功能^[16]；KLF4 过表达能增加抗炎因子和抗血栓因子表达，激活内皮型一氧化氮合酶和血栓调节蛋白，从而起到相应的抗炎作用；②沉默 KLF4 表达能增强 TNF- α 诱导的血管细胞间黏附分子-1 (VCAM-1) 及相关因子表达，从而导致相应的炎症反应^[17-18]；③ KLF4 过表达能对动脉粥样硬化起到相应的保护作用^[19]；④ KLF4 参与了多种血管性疾病的发生发展过程，在血管内皮炎症中起到关键的调节作用^[18]。本研究显示，LPS 诱导脓毒症相关性肾损伤时 KLF4 的 mRNA 和蛋白表达明显降低。因此我们认为，在 LPS 诱导脓毒症时，由于 KLF4 基因及其编码蛋白表达降低，导致肾组织及肾细胞本身所具有的抗炎和抗血栓形成功能下降，肾组织及肾细胞受到严重的炎性介质作用，从而导致病情进一步发展；其次，在 LPS 诱导 AKI 发生时，由于 KLF4 基因及其编码蛋白表达降低，肾血管内皮炎症反应增加及相应的肾血管保护作用减弱，肾血流灌注减少，肾脏发生缺血及坏死等。表明 KLF4 在脓毒症相关性肾损伤中具有保护性作用，其在脓毒症相关性肾损伤发生发展过程中可能扮演着重要角色，但具体作用机制仍需进一步实验证实。

综上，miR-34a 通过调控 KLF4 参与了 LPS 诱导的脓毒症相关性肾损伤，其可能成为治疗脓毒症相关性肾损伤的新靶点。

参考文献

[1] 刘以梅, 居旻杰, 潘思梦, 等. 血乳酸水平与糖尿病脓毒症患者预后的关系 [J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29 (8): 689-693. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.08.004.
Liu YM, Ju MJ, Pan SM, et al. Relationship between blood lactate level and the prognosis of patients with diabetic sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2017, 29 (8): 689-693. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.08.004.

[2] Stroo I, Zeerleder S, Ding C, et al. 凝血因子 XI 独立激活凝血因子 VII 提高肺炎所致脓毒症小鼠的宿主免疫力 [J]. 喻文, 罗红敏, 译. 中华危重病急救医学, 2017, 29 (8): 730. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.08.017.
Stroo I, Zeerleder S, Ding C, et al. Coagulation factor XI independent activation of coagulation factor VII improve pneumonia induced sepsis in mice host immunity [J]. Yu W, Luo HM, trans. Chin Crit Care Med, 2017, 29 (8): 730. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.08.017.

[3] 周瑞祥, 翁方中, 戴伟, 等. 严重脓毒症早期应用连续性血液净化的时机及其器官保护作用: 一项随机双盲对照研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28 (3): 241-245. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.03.010.
Zhou RX, Weng FZ, Dai W, et al. The organ protective effects and timing of continuous blood purification in the treatment of severe sepsis: a double-blind randomized controlled trial [J]. Chin Crit Care Med, 2016, 28 (3): 241-245. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.03.010.

[4] 王丽锋, 张逸尘, 何双军, 等. 急诊科脓毒症相关性肺损伤和肾损伤的发病情况及预后分析 [J]. 临床内科杂志, 2017, 34 (9): 600-602. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9057.2017.09.006.
Wang LF, Zhang YC, He SJ, et al. Incidence and prognosis of sepsis-associated acute lung injury and acute kidney injury in

emergency department [J]. J Clin Intern Med, 2017, 34 (9): 600-602. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9057.2017.09.006.

[5] 刘雪峰, 李文放, 赵良, 等. 血必净注射液对重症监护病房严重脓毒症患者器官功能保护作用的临床研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2010, 17 (1): 20-23. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.01.007.
Liu XF, Li WF, Zhao L, et al. Clinical study of Xuebijing injection on protection of organ function of patients with severe sepsis in intensive care unit [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2010, 17 (1): 20-23. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.01.007.

[6] 曾文美, 毛璞, 黄勇波, 等. 脓毒症预后影响因素分析及预后价值评估 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (2): 118-123. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.02.003.
Zeng WM, Mao P, Huang YB, et al. Analyses of factors affecting prognosis of patients with sepsis and evaluation of their predicting values [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2015, 22 (2): 118-123. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.02.003.

[7] Song L, Zhou F, Cheng L, et al. MicroRNA-34a suppresses autophagy in alveolar type II epithelial cells in acute lung injury by inhibiting FoxO3 expression [J]. Inflammation, 2017, 40 (3): 927-936. DOI: 10.1007/s10753-017-0537-1.

[8] 包燕兰, 杨晓, 陈兆军. 微小 RNA-223 对经输尿管镜碎石术后并发脓毒症的早期诊断价值 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2017, 24 (5): 465-468. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.05.005.
Bao YL, Yang X, Chen ZJ. The early diagnostic value of microRNA-223 for patients with complication of sepsis after ureteroscopic lithotripsy [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2017, 24 (5): 465-468. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.05.005.

[9] 谢丽莉. MicroRNA 在糖尿病并发症中的研究进展 [J]. 实用检验医师杂志, 2015, 7 (1): 44-46. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.01.013.
Xie LL. Research progress of microRNA in diabetic complications [J]. Chin J Clin Pathol, 2015, 7 (1): 44-46. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.01.013.

[10] 李世朋, 邢雨, 田庆, 等. 微小 RNA 与器官移植研究进展 [J/CD]. 实用器官移植电子杂志, 2013, 1 (6): 363-367. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2013.06.010.
Li SP, Xing Y, Tian Q, et al. Progress in the research of microRNA and organ transplantation [J/CD]. Prac J Organ Transplant (Electronic Version), 2013, 1 (6): 363-367. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2013.06.010.

[11] Roderburg C, Luedde M, Vargas Cardenas D, et al. Circulating microRNA-150 serum levels predict survival in patients with critical illness and sepsis [J]. PLoS One, 2013, 8 (1): e54612. DOI: 10.1371/journal.pone.0054612.

[12] Li XY, Zhang K, Jiang ZY, et al. MiR-204/miR-211 downregulation contributes to candidemia-induced kidney injuries via derepression of Hmx1 expression [J]. Life Sci, 2014, 102 (2): 139-144. DOI: 10.1016/j.lfs.2014.03.010.

[13] Wang S, Zhang Z, Wang J, et al. MiR-107 induces TNF- α secretion in endothelial cells causing tubular cell injury in patients with septic acute kidney injury [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 483 (1): 45-51. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.01.013.

[14] 尹琼丽, 王一娜, 李梅, 等. 糖尿病肾病患者肾小管上皮细胞 DcR2, p16 表达变化及其与肾组织损伤程度和肾功能的相关性分析 [J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16 (17): 1696-1700. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2017.17.010.
Yin QL, Wang YN, Li M, et al. Analysis of expression of DcR2 and p16 and its correlation with renal injury and renal function in renal tubular epithelial cells in diabetic nephropathy [J]. J Clin Exp Med, 2017, 16 (17): 1696-1700. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2017.17.010.

[15] Xu M, Horrell J, Snitow M, et al. WNT10A mutation causes ectodermal dysplasia by impairing progenitor cell proliferation and KLF4-mediated differentiation [J]. Nat Commun, 2017, 8: 15397. DOI: 10.1038/ncomms15397.

[16] Shatat MA, Tian H, Zhang R, et al. Endothelial Kruppel-like factor 4 modulates pulmonary arterial hypertension [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 50 (3): 647-653. DOI: 10.1165/rncmb.2013-0135OC.

[17] Adams GN, Stavrou EX, Fang C, et al. Prolylcarboxypeptidase promotes angiogenesis and vascular repair [J]. Blood, 2013, 122 (8): 1522-1531. DOI: 10.1182/blood-2012-10-460360.

[18] Yoshida T, Yamashita M, Iwai M, et al. Endothelial Kruppel-like factor 4 mediates the protective effect of statins against ischemic AKI [J]. J Am Soc Nephrol, 2016, 27 (5): 1379-1388. DOI: 10.1681/ASN.2015040460.

[19] Li Z, Martin M, Zhang J, et al. Kruppel-like factor 4 regulation of cholesterol-25-hydroxylase and liver X receptor mitigates atherosclerosis susceptibility [J]. Circulation, 2017, 136 (14): 1315-1330. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027462.

(收稿日期: 2018-01-30)