

论著·基础研究

腹膜透析滤出液外泌体 miR-200a 在不同腹膜转运特性患者中的表达差异及其生物学功能预测

佟 琰, 方均燕, 邓 海, 宋阿会, 李 璞, 刘英莉

上海交通大学医学院附属第九人民医院肾内科, 上海 200011

[摘要] **目的**·提取和鉴定腹膜透析滤出液(peritoneal dialysis effluent, PDE)外泌体,比较不同腹膜转运特性患者PDE外泌体miR-200a的表达水平,预测其潜在靶基因及参与的生物学过程。**方法**·将20例腹膜透析(peritoneal dialysis, PD)患者按照腹膜平衡实验(peritoneal equilibrium test, PET)值分为H组(高转运/高平均转运)和L组(低转运/低平均转运)。每位患者收集500 mL留腹过夜PDE,浓缩后超速离心,透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)、纳米粒子跟踪分析(nanoparticle tracking analysis, NTA)和Western blotting鉴定外泌体。提取外泌体miRNA,实时荧光定量PCR检测2组患者PDE外泌体miR-200a的表达水平,分析其与PET值和超滤量的相关性。利用Targetscan、miRmap和miRWalk数据库预测miR-200a的靶基因,用DAVID数据库进行基因功能(gene ontology, GO)富集分析。**结果**·浓缩的PDE超速离心后提取到的外泌体,TEM下呈双层膜包裹的圆形囊泡,NTA显示其直径大多在50~150 nm,表面具有外泌体标志蛋白CD9和CD63。L组中PDE外泌体miR-200a的相对表达量显著高于H组,并且与PET值呈负相关($r=-0.871$, $P=0.000$),与4 h超滤量呈正相关($r=0.448$, $P=0.048$),但与24 h超滤量无相关性($r=0.355$, $P=0.125$)。生物信息学分析发现共有679种基因可由3个数据库共同预测到;GO分析显示这些靶基因不仅参与正向调控间充质细胞增殖,也在金属离子结合方面有一定富集。**结论**·PDE中存在外泌体,腹膜转运特性较低的患者PDE外泌体miR-200a相对表达量较高,其与PET值呈负相关,与4 h超滤量呈正相关。miR-200a的潜在靶基因众多,可能通过不同生物学过程影响腹膜转运特性。

[关键词] 腹膜透析滤出液;外泌体;miR-200a;腹膜转运特性;生物信息学

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.01.007 **[中图分类号]** R459.5 **[文献标志码]** A

Different expression levels of exosomal miR-200a in peritoneal dialysis effluent from patients with different peritoneal transport characteristics and prediction of its biological function

TONG Yan, FANG Jun-yan, DENG Hai, SONG A-hui, LI Pu, LIU Ying-li

Department of Nephrology, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China

[Abstract] **Objective**·To extract and identify the exosomes in peritoneal dialysis effluent (PDE), compare the different expression levels of PDE exosomal miR-200a in patients with different peritoneal transport characteristics, predict the potential target genes of miR-200a and analyze the related biological processes. **Methods**·Twenty stable peritoneal dialysis (PD) patients were divided into two groups, *i.e.*, H group (high/high average) and L group (low/low average) according to the values of peritoneal equilibration test (PET). Overnight PDE 500 mL from each patient was collected, concentrated, and ultracentrifuged to obtain exosomes. Transmission electron microscope (TEM), nanoparticle tracking analysis (NTA) and Western blotting were used to identify and characterize the exosomes. Exosomal miRNAs were extracted and the expression levels of PDE exosomal miR-200a in the two groups were determined by real-time quantitative PCR. The relations between exosomal miR-200a levels and PET values or ultrafiltration volume (UF) were analyzed. The target genes of miR-200a were predicted by Targetscan, miRmap and miRWalk, and DAVID was used to perform gene ontology (GO) enrichment analysis. **Results**·The exosomes extracted from concentrated PDE by ultracentrifugation exhibited a round and bilayer membrane-enveloped vesicle structure under TEM with the diameters ranging from 50–150 nm. The exosomes also expressed the particular molecular marker CD9 and CD63. The relative expression level of PDE exosomal miR-200a in L group was higher than that of H group. The expression levels were negatively correlated with PET values ($r=-0.871$, $P=0.000$) and positively correlated with 4 h UF ($r=0.448$, $P=0.048$). But there was no relationship between miR-200a and 24 h UF ($r=0.355$, $P=0.125$). Bioinformatic results showed that there were 679 target genes of miR-200a that could be predicted by all the three databases. GO analysis suggested that these genes not only participated in positive regulation of mesenchymal cells proliferation, but also focused on ion binding, especially metal cation binding. **Conclusion**·Exosomes indeed exist in PDE. The relative expression level of exosomal miR-200a is higher in the PDE from the patients with low peritoneal dialysis transport characteristics. The relative quantity of miR-200a is negatively correlated with the values of PET and positively correlated with 4 h UF. There are abundant potential target genes of miR-200a, indicating that it may affect the peritoneal transport characteristics by different biological processes.

[Key words] peritoneal dialysis effluent; exosome; miR-200a; peritoneal dialysis characteristics; bioinformatics

[基金项目] 上海交通大学医学院附属第九人民医院临床研究助推计划(JYLJ201811)。

[作者简介] 佟 琰(1993—),女,硕士生;电子邮箱:tysnow15@163.com。

[通信作者] 刘英莉,电子邮箱:18616375719@163.com。

[Funding Information] Clinical Research Program of Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (JYLJ201811)。

[Corresponding Author] LIU Ying-li, E-mail: 18616375719@163.com。

腹膜透析 (peritoneal dialysis, PD) 利用人体自身的腹膜作为透析膜, 清除体内的毒素和过多的水分^[1]。溶质通过腹膜的速度, 即腹膜溶质转运率 (peritoneal solute transport rate, PSTR), 是评价腹膜性能的重要指标。临床上常通过腹膜平衡试验 (peritoneal equilibrium test, PET) 对 PSTR 进行评估, 按照 4 h 腹膜透析滤出液/血浆肌酐浓度比值 (4h D/P_{C_r}) 数值分为高转运 (0.82~1.03)、高平均转运 (0.65~0.81)、低平均转运 (0.50~0.64) 和低转运 (0.34~0.49)^[2-3]。腹膜高转运状态的患者容量清除较差, 更容易出现水钠潴留、超滤衰竭和腹膜纤维化等 PD 相关并发症^[4-5]。上皮细胞的间充质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT) 是腹膜纤维化形成的重要病理生理过程^[6]。在一项 PD 大鼠动物模型的研究^[7-8]中发现, 腹膜纤维化早期 miR-200a 的表达减少, 并且 miR-200a 可以通过靶向 E 盒结合锌指蛋白 1/2 (zinc finger E-box-binding homeobox 1/2, ZEB1/2) 负向调节转化生长因子 β1 (transforming growth factor β1, TGF-β1) 诱导的 EMT。腹膜高转运状态与腹膜纤维化直接相关, 而 miR-200a 作为与腹膜纤维化显著相关的 miRNA, 其与腹膜高转运状态之间的关系尚未见报道。

外泌体是一类直径为 30~150 nm 的细胞外囊泡, 内含蛋白质、RNA 和脂质等成分, 电子显微镜下观察呈杯状。外泌体可由多种细胞分泌, 也存在于多种体液中, 如血液或尿液。腹膜透析滤出液 (peritoneal dialysis effluent, PDE) 是 PD 患者独特的临床样本, 取材简便, 标本易得。许多研究发现 PDE 中的白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP1) 和基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase 2, MMP2) 等细胞因子^[9-11], 胰脂肪酶^[12] 及一些 miRNA 可能与腹膜高转运状态相关。另有研究^[13-14] 发现直接从 PDE 或 PDE 离心后所得沉淀中提取到的细胞内 miRNA 也与腹膜转运特性相关。本研究不同于既往研究, 所提取的 PDE 外泌体 miRNA 主要为细胞外 miRNA, 外泌体双层磷脂膜结构的包裹使其较游离 miRNA 更稳定, 且可发挥信息传递的作用。

本研究通过提取 PDE 中的外泌体 miRNA, 比较外泌体 miR-200a 在不同腹膜转运特性患者中的表达差异, 探索其是否与腹膜转运特性相关, 是否能成为监测腹膜状态改变的一种新型分子标志物, 并利用生物信息学分析预测 miR-200a 及其靶基因影响腹膜转运特性的相关机制。

1 材料与方法

1.1 实验样本收集

选取于上海交通大学医学院附属第九人民医院行维持性 PD 的患者, 透析方案均为持续性不卧床腹膜透析, 夜间留腹 6~10 h, 日间留腹方案可不同。患者年龄 18~80 岁, 连续 3 次 PET 值提示其转运特性为稳定的高转运/高平均转运或低转运/低平均转运; 据此将患者分为 H 组 (高转运/高平均转运) 和 L 组 (低转运/低平均转运)。近 3 个月内发生过腹膜炎或其他部位感染者、恶性肿瘤患者、有肝炎或结核病史的患者及自身免疫疾病患者均不予纳入研究。最后, 纳入 H 组和 L 组各 10 例患者, 收集这些患者的基本临床资料。本研究于上海交通大学医学院附属第九人民医院科研伦理审查委员会备案 (审批号 SH9H-2020-T23-1)。

1.2 外泌体的提取

收集 PD 患者行 PET 前 1 d 留腹过夜的 PDE 500 mL, 经截留相对分子质量为 10 000 的再生纤维素膜在超滤杯 (Millipore, 美国) 中浓缩至 40 mL; 于 2 500×g 离心 15 min 去除浓缩液中的细胞碎片后, 18 000×g 高速离心 30 min; 0.22 μm 孔径滤器过滤, 去除上清液中的大分子物质; 在超速离心机中 (Beckman, 美国) 120 000×g 离心 2 h, 加入 PBS 再次 120 000 ×g 离心清洗 2 h 后弃去上清液; 用 200 μL PBS 重悬, 得到外泌体。所有离心过程均于 4 °C 下进行。外泌体提取后立即提取 miRNA 或保存于 -80 °C。

1.3 外泌体的鉴定

透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) (FEI, 美国) 用于观察外泌体的形态和大小。纳米粒子跟踪分析 (nanoparticle tracking analysis, NTA) 系统 (PMX, 德国) 用于分析外泌体的粒径和浓度。Western blotting 检测外泌体表面标志蛋白 CD9 和 CD63。

1.4 Western blotting 检测蛋白 CD9 和 CD63

10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后, 将蛋白转移至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上; 5% 牛奶封闭 2 h 后, 抗 CD9 和抗 CD63 (1 : 1 000, SBI, 美国) 抗体 4 °C 孵育过夜; 二抗 (1 : 5 000, proteintech, 美国) 室温孵育 1 h; 滴加 ECL 显影液后在化学发光显影仪下显影。



1.5 外泌体 miRNA 提取

用 miRNeasy (Qiagen, 德国) 提取外泌体 miRNA; 在外泌体中加入 5 倍体积的 TRIzol、3.5 μ L 外参 cel-miR-39, 以及与外泌体等体积氯仿; 4 $^{\circ}$ C 下 12 000 \times g 离心 15 min, 取上清液加入 1.5 倍体积 100% 乙醇; 所得混合液经过 RNeasy spin column 12 000 \times g 反复离心洗涤; 用去 RNA 酶水洗脱膜上的 RNA, 将所得 RNA 进行定量。

1.6 实时荧光定量 PCR 检测外泌体 miR-200a 的表达

采用 miDETECT A TrackTM miRNA 试剂盒(广州锐博, 中国) 将外泌体 miRNA 经过加 polyA 尾反转录为 cDNA, 进行实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测。PCR 扩增条件: 预变性 95 $^{\circ}$ C 10 min; 变性 95 $^{\circ}$ C 2 s, 退火 60 $^{\circ}$ C 20 s, 延伸 70 $^{\circ}$ C 10 s, 重复 40 个循环。以 miR-39 为外参, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算目的基因的相对表达量。

1.7 靶基因预测及功能富集

使用在线数据库 Targetscan、miRmap 和 miRWalk 进行 miRNA 的靶基因预测分析。采用 String 数据库 (<https://string-db.org/>) 预测相关蛋白, 采用 Cytoscape 软件将蛋白间相互作用关系 (protein-protein interaction,

PPI) 进行可视化, 采用 MCODE 插件将其进行模块化。采用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行靶基因功能富集 (gene ontology, GO) 分析, RStudio 软件作图。

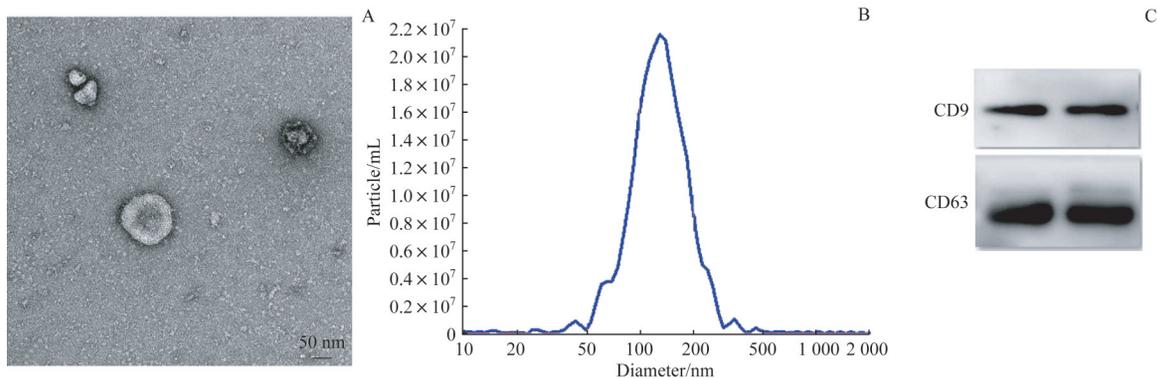
1.8 统计学分析

采用 Graphpad Prism 8.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的定量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验; 非正态分布的数据用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。定性资料组间比较采用 Fisher 确切概率法。相关性分析采用 Spearman 秩相关分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PDE 外泌体的鉴定

通过超速离心法得到的浓缩后 PDE 中的外泌体, 在 TEM 下呈圆形双层膜包裹的囊泡结构 (图 1A); NTA 检测多数囊泡直径介于 50~150 nm (图 1B); Western blotting 结果显示其具有外泌体表面标志物 CD9 和 CD63 (图 1C)。



Note: A. Bilayer vesicle structure of exosomes under TEM. B. The diameters of exosomes were 50~150 nm detected by NTA. C. CD9 and CD63 expression detected by Western blotting.

图 1 PDE 外泌体的鉴定

Fig 1 Identification of PDE exosomes

2.2 miR-200a 在 2 组 PDE 外泌体中的表达差异

20 例患者的基本信息见表 1。H 组和 L 组患者男女比例、年龄、透析龄、估算肾小球滤过率 (estimated glomerular filtration rate, eGFR)、尿素清除指数 (Kt/V) 比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。2 组 PET 值比较, 差异具有统计学意义 ($P = 0.000$)。以 miR-39 为外参, RT-qPCR 结果显示 (图 2): L 组 PDE 外泌体 miR-200a 的表达水平高于 H 组, 差异具有统计学意义 ($P = 0.000$)。

2.3 miR-200a 与 PET 值、4 h 超滤量和 24 h 超滤量的相关性

将 PET 结束时的超滤量作为 4 h 超滤量, 患者行 PET 前 24 h 内的总超滤量作为 24 h 超滤量。对 H 组和 L 组 miR-200a 的相对表达量分别与 PET 值、4 h 和 24 h 超滤量进行相关性分析, 结果 (图 3) 显示: PDE 外泌体 miR-200a/miR-39 与 PET 值呈负相关 ($r = -0.871, P = 0.000$), 与 4 h 超滤量呈正相关 ($r = 0.448, P = 0.048$), 但与其与 24 h 超滤量无相关性 ($r = 0.355, P = 0.125$)。

表 1 PD 患者的临床资料

Tab 1 Clinical characteristics of PD patients

Item	H group (n=10)	L group (n=10)	t/U value	P value
Gender (male/female)/n	4/6	5/5	-	0.999
Age/year	61.90±14.29	61.00±8.72	0.170	0.867
Dialysis time/month	34.60±20.43	50.70±23.39	1.640	0.119
PET value	0.75±0.06	0.59±0.04	6.631	0.000
eGFR/[mL·(min·1.73 m ²) ⁻¹]	2.50 (0, 5.67)	0 (0, 4.54)	44	0.660
Kt/V/(mL·min ⁻¹)	2.41 (1.72, 2.69)	1.79 (1.75, 1.85)	36	0.315

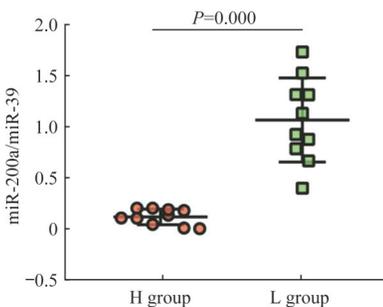


图 2 2 组 PDE 外泌体 miR-200a 表达水平的比较

Fig 2 Comparison of expression of PDE exosomal miR-200a between the two groups

2.4 miR-200a 靶基因预测及分析

通过 Targetscan、miRmap 和 miRWalk 3 种 miRNA 靶基因在线预测数据库共同预测到的 miR-200a 靶基因有

679 种 (图 4A)。选取参与 EMT 相关的 GO 功能——GO 0002053 正向调节间充质细胞增殖的靶基因, 发现有 6 种基因富集在此生物过程中, 分别为矮小同源盒基因 (short stature homeobox 2, *SHOX2*)、WNT 家族 5A (WNT family member 5A, *WNT5A*)、成纤维细胞生长因子受体 1 (fibroblast growth factor receptor 1, *FGFR1*)、转化生长因子 β II 型受体 (transforming growth factor β receptor 2, *TGFBR2*)、肿瘤蛋白 p63 (tumor protein p63, *TP63*)、叉头框蛋白 P1 (forkhead box P1, *FOXP1*); 再利用 String 数据库构建 EMT 相关靶基因表达的蛋白与其他蛋白之间的 PPI; 最后使用 Cytoscape 软件的 MCODE 功能进行模块分析。结果显示, 2 个靶基因聚集在模块中, 参与纤维化过程的发生和进展 (图 4B)。

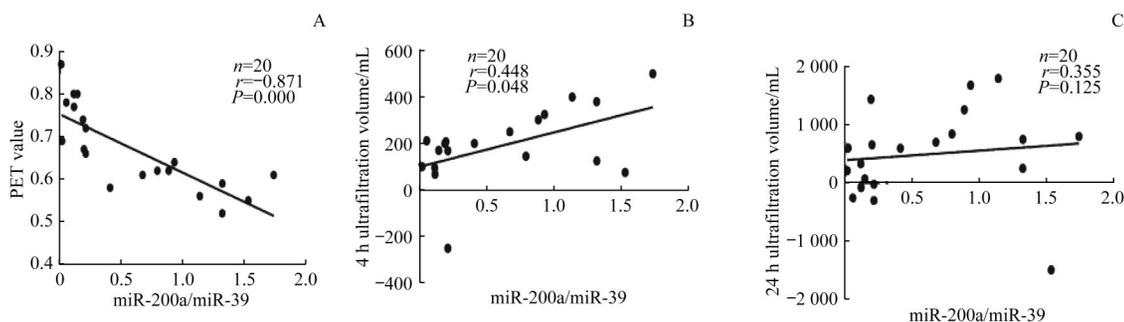
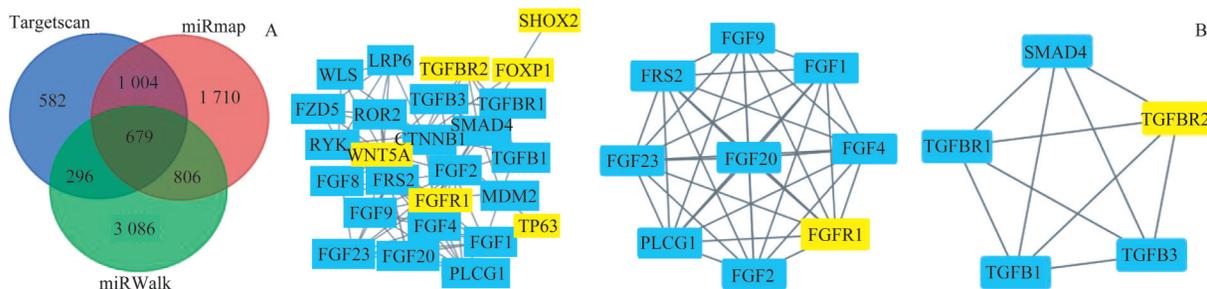


图 3 PDE 外泌体 miR-200a 与 PET 值、4 h 和 24 h 超滤量的相关性分析

Fig 3 Correlation analysis between PDE exosomal miR-200a and PET values, 4 h and 24 h ultrafiltration volume



Note: A. Venn diagram of miR-200a target genes. B. PPI modules of EMT-related target genes expressing proteins. The yellow nodes are the proteins of target genes, and the blue nodes are the proteins interacted with them.

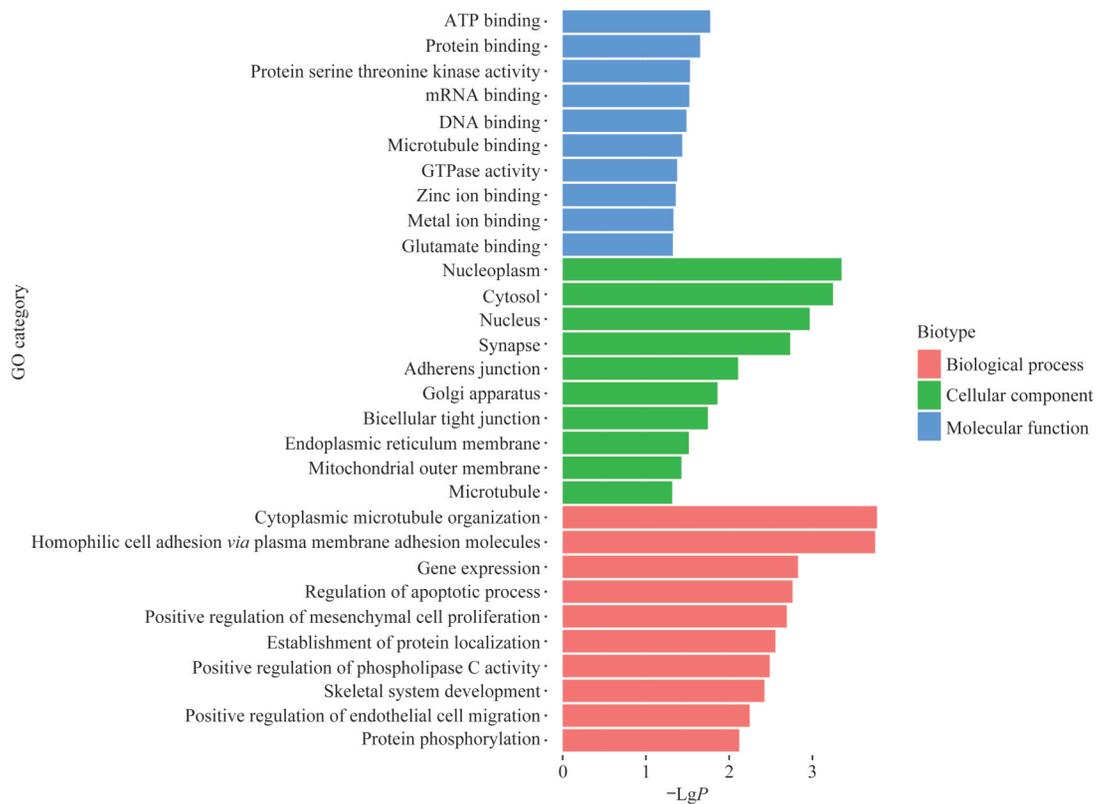
图 4 miR-200a 潜在靶基因预测及 EMT 相关靶基因表达蛋白的 PPI 模块

Fig 4 Prediction of target genes of miR-200a and PPI modules of EMT-related target genes expressing proteins

2.5 miR-200a 靶基因功能分析

为进一步研究 miR-200a 在 PD 中的作用, 将 679 个靶基因输入到 DAVID 数据库中进行 GO 分析 ($P < 0.05$), 包括分子功能 (molecular function, MF)、细胞组分 (cellular component, CC)、生物学过程 (biological process, BP) 3 个部分 (图 5)。结果显示: miR-200a 的靶基因参与了许多重要的细胞组分; 其参与的生物学过程不仅包括正向调控间充质细胞增殖, 同时也能正向调控内皮细胞迁移, 并参与调控凋亡过程和蛋白磷酸化; 分子功能方面显示其可能影响 ATP、DNA 和 mRNA 等的结合过程, 在金属离子结合方面也有一定的富集。值得

注意的是, 溶质载体 (solute carrier, SLC) 家族中有多种蛋白的编码基因均为 miR-200a 的靶基因。SLC 家族为典型的跨膜蛋白, 负责氨基酸、核苷酸、葡萄糖、无机离子和药物等物质的吸收和运输^[15-17], 如 SLC9A5 [也称为钠氢转运体 5 (NHE5)]、SLC10A1 为钠/胆汁酸协同转运蛋白, SLC17A4 为钠/磷酸盐共转运蛋白。此外, 编码钠离子电压门控通道 (sodium voltage-gate channel, SCN) 亚基蛋白也可能为 miR-200a 的靶点。由此推测, miR-200a 除影响 EMT 或细胞凋亡等过程外, 还可能通过调控离子结合、离子转运, 影响各种离子、小分子等溶质转运, 从而参与腹膜高转运状态的发生过程。



Note: The ordinate represents the enriched items, and the abscissa represents the negative logarithm of P values.

图 5 miR-200a 靶基因的 GO 富集分析

Fig 5 GO enrichment analysis of miR-200a target genes

3 讨论

PD 是终末期肾脏病 (end-stage renal disease, ESRD) 患者的主要肾脏替代治疗方法之一, 具有血流动力学稳定、中分子清除效率高、居家治疗安全方便等优点。PD 患者的中期 (至少 5 年) 生存率基本等同于血液透析患者的生存率^[18]。虽然 PD 技术在不断发展和改进, 但是腹膜形态和功能的改变仍会导致患者出现一些并发症, 影响患者的透析质量。腹膜高转运状态与腹膜纤维化、超

滤衰竭和技术失败密切相关^[5], 因此及时有效地获得腹膜转运特性的信息对早期预防和诊断相关并发症具有重要意义。

外泌体是由细胞分泌的特异性囊泡, 参与细胞间通信, 发挥多种功能^[19]。利用来自血液或尿液的外泌体 miRNA 作为诊断疾病的生物标志, 也是“液体活检”的一种新兴方法, 但很少有研究报道 PDE 中的外泌体及其组成。2017 年, Carreras-Planella 等^[20]首次报道了 PDE 中细胞外囊泡的存在并予以分离; 随后相关研究^[21]通过

多种方法, 如差速离心、排阻色谱法以及纳米颗粒跟踪分析等证实这些囊泡大多数为外泌体。本研究将浓缩后的 PDE 进行超速离心, 并利用 TEM、NTA 和 Western blotting 等方法鉴定, 成功提取到了 PDE 来源的外泌体。

研究发现, miR-200a 可能通过调节 SIRT1/Notch1 信号通路^[22] 以及 miR-200a/Smad7/TGF- β 1/EMT/MAPK 轴^[23] 参与抗肝脏纤维化的过程, 也可通过抑制 ZEB1/2 改善腹膜纤维化^[7-8], 但未发现 miR-200a 与腹膜高转运状态相关。本实验将 20 例 PD 患者按照 PET 值分为 H 组和 L 组, 提取 PDE 外泌体 miRNA, 结果发现外泌体 miR-200a 在 L 组的相对表达量较高, 并且其表达量与 PET 值呈一定程度的负相关关系, 与 4 h 超滤量呈正相关关系, 但与 24 h 超滤量并无相关性。

Targetscan 是最常用的 miRNA 靶基因预测数据库之一, 提供多物种信息, 通过与 miRNA 种子区域匹配的保守的 8mer 和 7mer 位点来预测靶基因。miRWalk 记录了基因全长序列上的 miRNA 结合位点, 也将其与已有的 12 个 miRNA 靶标预测程序的预测信息进行结合关联。miRmap 将涵盖 11 种预测特征的 4 种方法集合在一个模型中, 预测能力较强。为避免预测假阳性, 本研究同时使用 3 个数据库, 对其共同预测到的基因交集进行分析。在对预测到的 miR-200a 靶基因进行 GO 分析后, 本研究选取 EMT 相关的 GO 功能组, 对 6 个靶基因表达蛋白进行 PPI 模块分析, 发现 *FGFR1* 和 *TGFBR2* 主要聚集在 2 个模块, 通过参与相关信号通路促进间充质细胞增殖, 从而促进纤维化。此外, 对 miR-200a 的 GO 分析结果也显示, 其靶基因在组成细胞成分、调控凋亡过程以及参与 ATP、DNA、mRNA 和金属离子结合方面有一定富集。

本研究成功提取并鉴定了 PDE 来源外泌体, 探究了

PDE 外泌体 miR-200a 与转运特性的关系, 也对 miR-200a 进行了靶基因预测和 GO 富集分析; 发现其靶基因中有许多 SLC 家族蛋白, 可能在离子结合、离子和溶质转运等方面具有一定的调控功能。本研究为探讨 miRNA 如何影响腹膜转运特性的机制问题提供了新思路。但本研究只选取了 20 例 PD 患者, 样本量较少, 具有一定的局限性。首先, 本研究未观察到 miR-200a 的相对表达量与 24 h 超滤量的相关性; 分析原因可能为影响 24 h 超滤量的因素较多, 如 PD 方案、患者残肾功能和 24 h 尿量。若要证明 PDE 外泌体 miR-200a 可成为判断腹膜转运特性的标志物及其与 24 h 超滤量的关系, 需要多中心、大样本的研究进行验证。其次, 本研究没有确定 PDE 外泌体的来源。腹膜组织主要由间皮细胞组成, 腹膜腔内也有一些免疫细胞, 如巨噬细胞、淋巴细胞等^[24]; 因此, PDE 外泌体可能由多种细胞分泌, 可进一步检测外泌体表面蛋白, 鉴别其具体来源。再次, 我们只选取了 miR-200a 作为目标 miRNA, 还有一些参与多种功能调控的 miRNA, 如 miR-21, 值得在后续实验中进一步讨论。最后, 我们通过生物信息学分析, 认为 miR-200a 可能通过调控 SLC 家族影响离子结合或离子转运, 但未进行实验验证, 相关分子机制和信号通路仍需深入研究。

综上所述, 本研究通过提取 PDE 外泌体, 比较外泌体 miR-200a 在不同腹膜转运特性患者 PDE 中的表达, 发现转运特性较低的患者 PDE 外泌体 miR-200a 的相对表达量较高, 并且 miR-200a 的相对表达量与 PET 值呈负相关, 与 4 h 超滤量呈正相关; 但其与 24 h 超滤量是否相关, 是否影响离子结合及相关作用机制需要更多实验进一步探讨。

参 · 考 · 文 · 献

- [1] Li PK, Chow KM, van de Luitgaarden MW, et al. Changes in the worldwide epidemiology of peritoneal dialysis[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(2): 90-103.
- [2] Asano M, Ishii T, Hirayama A, et al. Differences in peritoneal solute transport rates in peritoneal dialysis[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2019, 23(1): 122-134.
- [3] 林涛, 余戈平, 谢静远, 等. 腹膜透析患者初始高腹膜转运状态危险因素分析[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2017, 37(8): 1090-1093.
- [4] Xiong LP, Fan L, Xu QD, et al. Faster transport status and mortality in anuric patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis[J]. *Blood Purif*, 2015, 40(2): 160-166.
- [5] Hsu HJ, Yang SY, Wu IW, et al. Encapsulating peritoneal sclerosis in long-term peritoneal dialysis patients[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 8250589.
- [6] 邹庚艺, 曹雪莹, 周建辉, 等. 腹膜透析相关腹膜纤维化的防治进展[J]. *中华肾病研究电子杂志*, 2016, 5(1): 42-44.
- [7] Guo RS, Hao GJ, Bao Y, et al. MiR-200a negatively regulates TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition of peritoneal mesothelial cells by targeting ZEB1/2 expression[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 314(6): F1087-F1095.
- [8] Wei X, Bao Y, Zhan XJ, et al. MiR-200a ameliorates peritoneal fibrosis and functional deterioration in a rat model of peritoneal dialysis[J]. *Int Urol Nephrol*, 2019, 51(5): 889-896.
- [9] Zhou LS, Wen F, Chen GC, et al. Cytokine profiles in peritoneal dialysis effluent predicts the peritoneal solute transport rate in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(11): 20424-20433.
- [10] Cho Y, Johnson DW, Vesey DA, et al. Higher dialysate matrix metalloproteinase-2 levels are associated with peritoneal membrane dysfunction[J]. *Perit Dial Int*, 2016, 36(1): 16-25.
- [11] Ding L, Shao XH, Cao LO, et al. Possible role of *IL-6* and *TIE2* gene polymorphisms in predicting the initial high transport status in patients with peritoneal dialysis: an observational study[J]. *BMJ Open*, 2016, 6(10): e012967.

- [12] Idei M, Tabe Y, Hamada C, et al. Pancreatic lipase activity in overnight effluent predicts high transport status in peritoneal dialysis patients[J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 462: 65-70.
- [13] Chen J, Kam-Tao P, Kwan BC, et al. Relation between microRNA expression in peritoneal dialysis effluent and peritoneal transport characteristics[J]. *Dis Markers*, 2012, 33(1): 35-42.
- [14] Szeto CC, Chow KM, Kwan BC, et al. Peritoneal dialysis effluent miR-21 and miR-589 levels correlate with longitudinal change in peritoneal transport characteristics[J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 464: 106-112.
- [15] Wach S, Taubert H, Weigelt K, et al. RNA sequencing of collecting duct renal cell carcinoma suggests an interaction between miRNA and target genes and a predominance of deregulated solute carrier genes[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 12(1): E64.
- [16] Schumann T, König J, Henke C, et al. Solute carrier transporters as potential targets for the treatment of metabolic disease[J]. *Pharmacol Rev*, 2020, 72(1): 343-379.
- [17] Olszowska A, Waniewski J, Stachowska-Pietka J, et al. Long peritoneal dialysis dwells with icodextrin: kinetics of transperitoneal fluid and polyglucose transport[J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 1326.
- [18] Davies SJ. Peritoneal dialysis: current status and future challenges[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2013, 9(7): 399-408.
- [19] Boriachek K, Islam MN, Möller A, et al. Biological functions and current advances in isolation and detection strategies for exosome nanovesicles[J]. *Small*, 2018, 14(6). DOI:10.1002/smll.201702153.
- [20] Carreras-Planella L, Soler-Majoral J, Rubio-Esteve C, et al. Characterization and proteomic profile of extracellular vesicles from peritoneal dialysis efflux[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0176987.
- [21] Pearson LJ, Klaham IY, Thongsawang B, et al. Multiple extracellular vesicle types in peritoneal dialysis effluent are prominent and contain known biomarkers[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0178601.
- [22] Yang JJ, Tao H, Liu LP, et al. MiR-200a controls hepatic stellate cell activation and fibrosis via SIRT1/Notch1 signal pathway[J]. *Inflamm Res*, 2017, 66(4): 341-352.
- [23] El-Wakeel SA, Rahmo RM, El-Abhar HS. Anti-fibrotic impact of Carvedilol in a CCl-4 model of liver fibrosis via serum microRNA-200a/SMAD7 enhancement to bridle TGF- β 1/EMT track[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 14327.
- [24] van Baal JO, van de Vijver KK, Nieuwland R, et al. The histophysiology and pathophysiology of the peritoneum[J]. *Tissue Cell*, 2017, 49(1): 95-105.

[收稿日期] 2020-02-11

[本文编辑] 吴洋

学术快讯

国家口腔医学中心落户上海交通大学医学院附属第九人民医院

2020年12月,国家卫生健康委员会正式批准以上海交通大学医学院附属第九人民医院为主体设置国家口腔医学中心。

根据国家卫生健康委员会印发《关于设置国家口腔医学中心的通知》(国卫医函[2020]482号),决定分别以北京大学口腔医院、四川大学华西口腔医院、上海交通大学医学院附属第九人民医院为主体设置国家口腔医学中心,共同构成国家口腔医学中心。

国家口腔医学中心落户附属第九人民医院对促进上海交通大学口腔医学院各学科高质量快速发展、发挥“国家队”医院示范引领作用具有划时代的意义,同时也充分说明国家对口腔疾病防治的高度重视,以及对口腔微生态与重大慢性疾病(糖尿病、心血管疾病、老年人慢性阻塞性肺炎、癌症、类风湿性关节炎)相关性的多中心、大样本、大数据的临床到基础再到临床验证的转化医学研究的高度重视。上海交通大学口腔医学院将以国内最高、亚洲领先、世界一流为标尺,以全面建立优质、高效、健全的口腔医疗卫生服务体系为目标,对接健康中国战略,坚持以人民为中心的发展思想,依托上海亚洲医学中心建设布局与附属第九人民医院的医、教、研、防,以及管理的整体实力和优势,协同国家口腔医疗服务布局,建设适合国家发展战略需求的系统化、规模化、协同化、集成化的国家级口腔医学中心。