

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2025.11.017

论著 • 基础

LncRNA RMRP 通过靶向调控 miR-580-3p/RhoA 轴抑制脂多糖诱导的肾小管上皮细胞损伤

韩玲芝, 张雪, 卢祥云, 刘堃, 邵春芝

基金项目: 山东省自然科学基金创新发展联合基金项目(ZR2023LZY176)

作者单位: 266300 山东省青岛市胶州中心医院肾病内科(韩玲芝、张雪、卢祥云、刘堃), 感染性疾病科(邵春芝)

通信作者: 邵春芝, E-mail: 8441411086@qq.com



【摘要】目的 探讨长链非编码核糖核酸(LncRNA)线粒体RNA加工核糖核酸内切酶RNA组分(RMRP)是否可通过靶向调控微小核糖核酸(miR)-580-3p/Ras同源基因家族成员A(RhoA)轴抑制脂多糖(LPS)诱导的肾小管上皮细胞损伤。**方法** 于2024年5—10月在青岛市胶州中心医院中心实验室进行实验。将体外正常培养的人肾小管上皮细胞HK-2记为对照(Control)组,使用LPS建立细胞损伤模型,根据不同处理方式分为模型(Model)组、sh-NC组、sh-RMRP组、sh-RMRP+anti-NC组、sh-RMRP+anti-miR-580-3p组。实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测LncRNA RMRP、miR-580-3p、RhoA mRNA表达;双荧光素酶实验检测LncRNA RMRP与miR-580-3p、miR-580-3p与RhoA调控关系;细胞计数试剂盒-8(CCK8)实验检测细胞增殖;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平;流式细胞仪检测细胞凋亡;蛋白免疫印迹(WB)检测RhoA、增殖细胞核抗原(PCNA)、B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)表达。**结果** 与Control组比较,Model组中LncRNA RMRP、RhoA mRNA及蛋白表达、细胞凋亡率、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、Bax蛋白表达升高,miR-580-3p、HK-2细胞存活率、PCNA、Bcl-2蛋白表达降低($P<0.01$);与Model组、sh-NC组比较,sh-RMRP组LncRNA RMRP、RhoA mRNA及蛋白表达、细胞凋亡率、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、Bax表达降低,miR-580-3p、HK-2细胞存活率、PCNA、Bcl-2蛋白表达升高($P<0.01$);与sh-RMRP组、sh-RMRP+anti-NC组比较,sh-RMRP+anti-miR-580-3p组中RhoA mRNA及蛋白表达、细胞凋亡率、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、Bax蛋白表达升高,而miR-580-3p、HK-2细胞存活率、PCNA、Bcl-2表达降低($P<0.01$);双荧光素酶实验显示,与mimic-NC组比较,miR-580-3p mimic组转染WT-RMRP、WT-RhoA的荧光素酶活性降低($P<0.01$)。**结论** 敲低LncRNA RMRP可通过靶向调控miR-580-3p/RhoA轴抑制LPS诱导的HK-2细胞炎症反应及细胞凋亡,从而发挥抑制肾小管上皮细胞损伤的作用。

【关键词】 急性肾损伤; 肾小管上皮细胞; LncRNA RMRP; miR-580-3p/RhoA轴; 脂多糖**【中图分类号】** R692 **【文献标识码】** A

LncRNA RMRP inhibits lipopolysaccharide-induced renal tubular epithelial cell injury by targeting miR-580-3p/RhoA axis Han Lingzhi*, Zhang Xue, Lu Xiangyun, Liu Kun, Shao Chunzhi.* Department of Nephrology, Jiaozhou Central Hospital of Qingdao, Shandong, Qingdao 266300, China

Funding program: Innovation and Development Joint Fund Project of Shandong Natural Science Foundation (ZR2023LZY176)

Corresponding author: Shao Chunzhi, E-mail: 8441411086@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate whether long non-coding RNA (LncRNA) mitochondrial RNA processing RNA endonuclease RNA component (RMRP) can inhibit lipopolysaccharide (LPS)-induced renal tubular epithelial cell injury by targeting the microRNA (miR)-580-3p/Ras homologous gene family member A (RhoA) axis. **Methods** The experiment was conducted in the Central Laboratory of Jiaozhou Central Hospital of Qingdao from May to October 2024. Normally cultured human renal tubular epithelial cells HK-2 were designated as the Control group. A cell injury model was established using LPS, and the cells were divided into the Model group, sh-NC group, sh-RMRP group, sh-RMRP+anti-NC group, and sh-RMRP+anti-miR-580-3p group according to different treatments. The expression levels of LncRNA RMRP, miR-580-3p, and RhoA mRNA were detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). The regulatory relationships between LncRNA RMRP and miR-580-3p, and between miR-580-3p and RhoA were examined by dual-luciferase assay. Cell proliferation was assessed

by Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay. The levels of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Apoptosis was analyzed by flow cytometry. The protein expressions of RhoA, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), and Bcl-2 associated X protein (Bax) were detected by Western blot. **Results** Compared with the Control group, the Model group showed increased expression of LncRNA RMRP, RhoA mRNA and protein, apoptosis rate, IL-1 β , IL-6, TNF- α , and Bax protein expression, while miR-580-3p expression, HK-2 cell survival rate, and PCNA and Bcl-2 protein expression decreased ($P < 0.01$). Compared with the Model group and sh-NC group, the sh-RMRP group exhibited decreased expression of LncRNA RMRP, RhoA mRNA and protein, apoptosis rate, IL-1 β , IL-6, TNF- α , and Bax protein expression, while miR-580-3p expression, HK-2 cell survival rate, and PCNA and Bcl-2 protein expression increased ($P < 0.01$). Compared with the sh-RMRP group and sh-RMRP + anti-NC group, the sh-RMRP + anti-miR-580-3p group showed increased expression of LncRNA RMRP, RhoA mRNA and protein, apoptosis rate, IL-1 β , IL-6, TNF- α , and Bax protein expression, while miR-580-3p expression, HK-2 cell survival rate, and PCNA and Bcl-2 protein expression decreased ($P < 0.01$). The dual-luciferase assay showed that, compared with the mimic-NC group, the luciferase activity in the miR-580-3p mimic group was decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** Knockdown of LncRNA RMRP inhibits the LPS-induced inflammatory response and apoptosis in HK-2 cells by targeting the miR-580-3p/RhoA axis, thereby exerting a protective effect against renal tubular epithelial cell injury.

【Key words】 Acute renal injury; Renal tubular epithelial cell; LncRNA RMRP; miR-580-3p/RhoA axis; Lipopolysaccharide

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是脓毒症常见并发症,以肾功能急剧恶化、尿量减少和血肌酐升高为特征,其发病涉及氧化应激、炎症反应、内皮功能障碍及细胞凋亡等多机制相互作用^[1-5]。因此,探究 AKI 的病理生理机制对治疗 AKI 具有重要意义。长链非编码核糖核酸(long non-coding ribonucleic acid, LncRNA)在细胞增殖、凋亡、炎症反应等生物学过程中发挥重要作用^[6-7]。研究发现,LncRNA 线粒体 RNA 加工核糖核酸内切酶 RNA 组分(mitochondrial RNA processing endonuclease RNA component, RMRP)在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)处理的 HK-2 细胞中表达上调,敲低它可减轻 AKI 小鼠肾损伤^[8]。LncRNA 可与 miRNA 竞争性结合,从而抑制 miRNA 对靶向 mRNA 的沉默作用^[9]。Starbase 数据库显示,LncRNA RMRP 与 miR-580-3p 存在结合位点,miR-580-3p 与 Ras 同源基因家族成员 A(Ras homologous gene family member A, RhoA)的 3'非翻译区域存在互补序列。研究显示,LncRNA RMRP 可靶向负调控 miR-580-3p,且 LncRNA 可通过负调控 miRNA 激活 RhoA,加速肾脏炎症反应进程^[10-11]。miR-580-3p 在高糖诱导的 HK-2 细胞中低表达,而 RhoA 在 LPS 刺激的 HK-2 细胞中表达升高^[12-13]。基于此,本研究旨在探讨 LncRNA RMRP 是否可通过靶向调控 miR-580-3p/RhoA 轴影响 LPS 诱导的 HK-2 细胞损伤,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 细胞:人 HK-2 细胞(美国 ATCC 公司,货号:bio-73050);(2) 试剂:DMEM 培养基(美国

HyClone 公司,货号:SH30285);LPS(美国 Sigma-Aldrich 公司,货号:L5293);双荧光素酶检测试剂盒(美国 Promega 公司,货号:E1980);细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK8)试剂盒、96 孔荧光定量 PCR 板、双荧光素酶试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:C0037、FTUB333、RG027);人白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,货号:ml058059、ml058097、ml077385);膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/碘化丙锭(Annexin V-FITC/PI)细胞凋亡检测试剂盒[翌圣生物科技(上海)股份有限公司,货号:40302ES60];十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶制备试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号:P1200);一抗增殖细胞核抗原(PCNA)、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、RhoA、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)及二抗羊抗兔、羊抗鼠(英国 Abcam 公司,货号:ab18197、ab182858、ab32503、ab187027、ab9485、ab205718、ab205719);(3) 仪器设备:酶标仪(美国 Molecular Devices 公司,型号:SpectraMax M);流式细胞仪(美国 Invitrogen 公司,型号:Attune NxT);凝胶成像系统(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,型号:BioSpectrum 810 Imaging System);实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)仪器(美国 ABI 公司,型号:QuantStudio 5)。

1.2 实验方法 于 2024 年 5—10 月在青岛市胶州中心医院中心实验室进行实验。将 HK-2 细胞复苏,在 DMEM 完全培养基中培养过夜,观察细胞贴壁情况,

并换用新鲜完全培养基继续培养。待细胞生长至 80%~90%汇合度时,进行传代处理。经显微镜观察无纤维化状态的 HK-2 细胞接种在 6 孔板,并进行分组处理:对照(Control) 组(正常培养)、模型(Model) 组(给予含 10 mg/L LPS 培养液培养 12 h^[14])、sh-NC 组(转染 sh-NC 6 h 后更换为含 10 mg/L LPS 培养液培养 12 h)、sh-RMRP 组(转染 sh-RMRP 6 h 后更换为含 10 mg/L LPS 培养液培养 12 h)、sh-RMRP+anti-NC 组(sh-RMRP 和 anti-NC 共转染 6 h 后更换为含 10 mg/L LPS 培养液培养 12 h)、sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组(sh-RMRP 和 anti-miR-580-3p 共转染 6 h 后更换为含 10 mg/L LPS 培养液培养 12 h)。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 qRT-PCR 检测细胞中 LncRNA RMRP、miR-580-3p、RhoA mRNA 表达: 使用胰蛋白酶消化法收集各组细胞,并采用 Trizol 法提取总 RNA,加入适量无 RNase 水溶解 RNA,使用微量分光光度计测定 RNA 浓度和纯度,要求 OD260/OD280 比值为(1.8~2.0) :1, OD260/OD230 比值大于 2.0,以确保 RNA 质量符合后续实验要求。将提取得到的总 RNA,反转录成 cDNA。按照反转录试剂盒说明书进行。在反应体系 20 μ l 中依次加入总 RNA(约 1 μ g) 5 μ l、1 μ l 随机引物或特异性茎环引物(用于 miRNA 反转录)、dNTP Mix 1 μ l、反转录酶 1 μ l、5 $\times$ 反应缓冲液 4 μ l 及无 RNase 水 8 μ l。轻柔混匀后,短暂离心,将反应体系置于 PCR 仪中,按照以下程序进行反转录: 37 $^{\circ}$ C 15 min、85 $^{\circ}$ C 5 s、4 $^{\circ}$ C 保存。完成反转录后,进行 qRT-PCR 扩增。引物序列见表 1,反应体系: 10 μ l 2 $\times$ SYBR Green Master Mix、0.8 μ l 上游引物(10 μ mol)、0.8 μ l 下游引物(10 μ mol)、2 μ l cDNA 模板及 ddH₂O 6.4 μ l。将反应体系充分混匀后,将 96 孔荧光定量 PCR 板置于 qRT-PCR 仪器中进行 qRT-PCR 扩增。反应过程: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min、95 $^{\circ}$ C 变性 30 s、57 $^{\circ}$ C 退火 30 s、72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,共计 40 个循环。以 GAPDH 和 U6 作为内参,使用 2^{- $\Delta\Delta$ C_t} 方法计算 LncRNA RMRP、miR-580-3p、RhoA mRNA 相对表达量。

1.3.2 双荧光素酶实验检测 LncRNA RMRP 与 miR-580-3p、miR-580-3p 与 RhoA 调控关系: 使用 starbase 在线生物信息学网站预测 LncRNA RMRP 与 miR-580-3p、miR-580-3p 与 RhoA 的作用位点。将处于对数生长期的 HK-2 细胞以每孔 1 $\times$ 10⁵ 个细胞的密度接种于 6 孔板中,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养至细胞密度达到 60%~70%融合时,弃去原培养基,用无菌 PBS 轻轻冲洗细胞 2 次,去除残留的血清成分,随后加入含有 LPS

表 1 LncRNA RMRP、miR-580-3p、RhoA 及内参基因引物序列
Tab.1 Primer sequences for qRT-PCR of LncRNA RMRP, miR-580-3p and RhoA mRNA

基因	上游引物	下游引物
LncRNA RMRP	5'-GAGGACTCTGTTCTCCCT-3'	5'-TACGCTTCTTGGCGGACTTT-3'
miR-580-3p	5'-GCGCTTGAGAATGATGAATC-3'	5'-TGGTGTCTGGAGTCG-3'
RhoA mRNA	5'-GAGCCGGTGAAACCTGAAGA-3'	5'-TTCACAGCTCTAGCTTGCAG-3'
U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3'	5'-AACGCTTCACGAATTGCGT-3'
GAPDH	5'-CACCCACTCTCTCCACCTTG-3'	5'-CCACCACCCTGTTGCTGTAG-3'

1 mg/L 的无血清培养基处理细胞 12 h。在细胞接受 LPS 处理期间,构建 LncRNA RMRP、RhoA 的野生型报告基因载体(WT-RMRP、WT-RhoA)、突变型报告基因载体(MUT-RMRP、MUT-RhoA)。利用脂质体转染法 WT-RMRP、WT-RhoA、MUT-RMRP、MUT-RhoA 分别与 mimic-NC 或 miR-580-3p mimic 共转染至细胞。48 h 后,收集细胞,采用双荧光素酶试剂盒测定其荧光素酶活性。以海肾荧光素酶的活性作为内参,校正转染效率和上样量的差异,通过计算萤火虫荧光素酶活性与海肾荧光素酶活性的比值,得到相对荧光素酶活性。

1.3.3 CCK8 实验检测细胞的增殖: HK-2 细胞接种在 96 孔板中(1 $\times$ 10⁴ 个/孔),按照 1.2.1 分组处理后,采用 CCK8 试剂(10 μ l/孔) 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下孵育 2 h,使用酶标仪(450 nm) 测定吸光度。并计算细胞存活率,细胞存活率=(实验组吸光度-空白组吸光度) / (对照组吸光度-空白组吸光度) $\times$ 100%。

1.3.4 细胞中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平检测: 收集各组细胞培养液,4 $^{\circ}$ C 下离心留取上清液。依据 ELISA 试剂盒说明书稀释标准品,将处理好的细胞培养液上清加入酶标板孔中,37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h。洗涤后,加入生物素化检测抗体工作液,37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h。再次洗涤后,加入辣根过氧化物酶标记的亲合素工作液,37 $^{\circ}$ C 孵育 45 min。洗涤后,加入显色底物,室温避光孵育 30 min,加终止液终止显色反应。使用酶标仪检测 450 nm 吸光度,绘制标准曲线,并根据回归方程计算各组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平。

1.3.5 流式细胞仪检测细胞凋亡: 各组细胞用不含 EDTA 的胰蛋白酶(0.25%) 37 $^{\circ}$ C 消化 1~2 min,加入含血清培养基终止消化。离心弃上清收集细胞沉淀。用预冷的 PBS 轻柔重悬细胞,再次离心洗涤

1 次,重复操作确保去除残留培养基。离心弃上清,加入 1×结合缓冲液 100 μl 轻柔重悬细胞,加入 Annexin V-FITC 5 μl,避光室温孵育 15 min,加入 PI 染液 5 μl,避光室温孵育 5 min。加 1×结合缓冲液 400 μl,混匀后立即上流式细胞仪测定细胞凋亡率(染色后 1 h 内完成)。

1.3.6 细胞中 PCNA、Bcl-2、Bax、RhoA 蛋白表达检测:采用蛋白免疫印迹(Western blot, WB)检测, RIPA 裂解液裂解细胞,4℃ 离心留取上清,使用二喹啉甲酸法测定蛋白浓度。蛋白样品加入上样缓冲液,100℃ 煮沸 5 min,立即冰浴 2 min。接着用 SDS-PAGE 分离蛋白,并将蛋白条带采用湿转法转移到 PVDF 膜上。TBST 洗膜 5 min 1 次,使用 5%脱脂奶粉,室温摇床封闭膜 2 h,膜与一抗 PCNA(1:1 000)、Bcl-2(1:1 000)、Bax(1:3 000)、RhoA(1:2 000)、GAPDH(1:2 000)在 4℃ 孵育过夜。一抗孵育后,TBST 洗膜 3 次,10 min/次,与辣根过氧化物酶标记的二抗(1:3 000)室温避光孵育 1 h,TBST 洗膜 4 次,10 min/次,用化学发光试剂显影,凝胶成像系统拍照,保存图像,在 ImageJ 软件中定量分析条带灰度值,以目的蛋白条带灰度值/GAPDH 条带灰度值进行归一化,比较各组蛋白相对表达量。

1.4 统计学方法 采用 GraphPad Prism 6 软件进行数据统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)和 Tukey 多重事后比较。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组细胞 LncRNA RMRP、miR-580-3p、RhoA mRNA 表达比较 与 Control 组比较,Model 组 LncRNA RMRP、RhoA mRNA 表达升高,miR-580-3p 表达降低($q/P = 17.828 / < 0.001, 16.895 / < 0.001, 8.342 / < 0.001$);与 Model 组、sh-NC 组比较,sh-RMRP 组 LncRNA RMRP、RhoA mRNA 表达降低,miR-580-3p 表达升高($q/P = 10.094 / < 0.001, 9.504 / < 0.001, 27.979 / < 0.001, 9.700 / < 0.001, 9.353 / < 0.001, 27.632 / < 0.001$);与 sh-RMRP 组、sh-RMRP+anti-NC 组比较,sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组 LncRNA RMRP 表达差异无统计学意义($P > 0.05$),miR-580-3p 表达降低,RhoA 表达升高($q/P = 14.250 / < 0.001, 4.676 / 0.027, 13.903 / < 0.001, 4.827 / 0.021$),见表 2。

2.2 双荧光素酶实验检测 LncRNA RMRP 与 miR-580-3p、miR-580-3p 与 RhoA 之间的靶向关系 生物信息学分析显示,LncRNA RMRP 与 miR-580-3p 存在

互补的结合位点,见图 1;miR-580-3p 与 RhoA 的 3'非翻译区域存在互补结合位点,见图 2。双荧光素酶实验表明,与 mimic-NC 组比较,miR-580-3p mimic 组转染 MUT-RMRP、MUT-RhoA 的荧光素酶活性差异无统计学意义($P > 0.05$),转染 WT-RMRP、WT-RhoA 的荧光素酶活性降低($P < 0.01$),见表 3。

表 2 各组转染后 HK-2 细胞中 LncRNA RMRP、miR-580-3p、RhoA mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Expression of LncRNA RMRP, miR-580-3p and RhoA mRNA in HK-2 cells after transfection in each group

组 别	<i>n</i>	LncRNA RMRP	miR-580-3p	RhoA
Control 组	6	0.98±0.11	0.99±0.11	1.00±0.08
Model 组	6	2.34±0.24 ^a	0.51±0.05 ^a	2.12±0.20 ^a
sh-NC 组	6	2.31±0.23	0.53±0.06	2.11±0.21
sh-RMRP 组	6	1.57±0.16 ^{bc}	2.12±0.21 ^{bc}	1.49±0.15 ^{bc}
sh-RMRP+anti-NC 组	6	1.58±0.17	2.10±0.20	1.48±0.16
sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组	6	1.55±0.18	1.30±0.13 ^{de}	1.80±0.14 ^{de}
<i>F</i> 值		46.433	157.958	42.341
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Control 组比较,^a*P* < 0.01;与 Model 组比较,^b*P* < 0.01;与 sh-NC 组比较,^c*P* < 0.01;与 sh-RMRP 组比较,^d*P* < 0.05;与 sh-RMRP+anti-NC 组比较,^e*P* < 0.05。



图 1 LncRNA RMRP 与 miR-580-3p 的结合位点
Fig.1 Binding sites of LncRNA RMRP and miR-580-3p



图 2 miR-580-3p 与 RhoA 的结合位点
Fig.2 Binding sites of miR-580-3p and RhoA

2.3 各组 HK-2 细胞增殖比较 与 Control 组比较,Model 组 HK-2 细胞存活率降低($q/P = 21.993 / < 0.001$);与 Model 组、sh-NC 组比较,sh-RMRP 组 HK-2 细胞存活率升高($q/P = 11.625 / < 0.001, 11.203 / < 0.001$);与 sh-RMRP 组、sh-RMRP+anti-NC 组比较,sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组中 HK-2 细胞存活率降低($q/P = 5.561 / 0.006, 4.543 / < 0.034$),见表 4。

表 4 各组 HK-2 细胞增殖比较 ($\bar{x}\pm s, \%$)

Tab.4 Comparison of cell proliferation in each group of HK-2 cells

组 别	<i>n</i>	存活率
Control 组	6	100.00±0.00
Model 组	6	54.16±4.42 ^a
sh-NC 组	6	55.04±5.50
sh-RMRP 组	6	78.39±6.44 ^{bc}
sh-RMRP+anti-NC 组	6	76.27±6.13
sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组	6	66.80±5.25 ^{de}
<i>F</i> 值		67.936
<i>P</i> 值		<0.001

注: 与 Control 组比较, ^a*P*<0.01; 与 Model 组比较, ^b*P*<0.01; 与 sh-NC 组比较, ^c*P*<0.01; 与 sh-RMRP 组比较, ^d*P*<0.01; 与 sh-RMRP+anti-NC 组比较, ^e*P*<0.05。

2.4 各组 HK-2 细胞中 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平比较
与 Control 组比较, Model 组 IL-1β、IL-6、TNF-α 表达升高($q/P=27.988/<0.001, 20.490/<0.001, 23.456/<0.001$); 与 Model 组、sh-NC 组比较, sh-RMRP 组中 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平降低($q/P=14.073/<0.001, 12.574/<0.001, 11.399/<0.001, 13.833/<0.001, 11.913/<0.001, 11.694/<0.001$); 与 sh-RMRP 组、sh-RMRP+anti-NC 组比较, sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组中 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平升高($q/P=7.424/<0.001, 6.009/0.002, 6.038/0.002, 6.944/<0.001, 5.841/0.003, 6.286/0.001$), 见表 5。

2.5 各组 HK-2 细胞凋亡比较 与 Control 组比较, Model 组中细胞凋亡率升高($q/P=34.634/<0.001$); 与

Model 组、sh-NC 组比较, sh-RMRP 组细胞凋亡率降低($q/P=17.747/<0.001, 20.621/<0.001$); 与 sh-RMRP 组、sh-RMRP+anti-NC 组比较, sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组细胞凋亡率升高($q/P=9.135/<0.001, 9.496/<0.001$), 见表 6、图 3。

表 6 各组 HK-2 细胞凋亡比较 ($\bar{x}\pm s, \%$)

Tab.6 Comparison of apoptosis in each group of HK-2 cells

组 别	<i>n</i>	凋亡率
Control 组	6	2.51±0.30
Model 组	6	30.34±2.56 ^a
sh-NC 组	6	32.65±3.22
sh-RMRP 组	6	16.08±1.61 ^{bc}
sh-RMRP+anti-NC 组	6	15.79±1.24
sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组	6	23.42±1.45 ^{de}
<i>F</i> 值		191.280
<i>P</i> 值		<0.001

注: 与 Control 组比较, ^a*P*<0.01; 与 Model 组比较, ^b*P*<0.01; 与 sh-NC 组比较, ^c*P*<0.01; 与 sh-RMRP 组比较, ^d*P*<0.01; 与 sh-RMRP+anti-NC 组比较, ^e*P*<0.01。

2.6 各组 PCNA、Bcl-2、Bax、RhoA 蛋白表达比较 与 Control 组比较, Model 组中 RhoA、Bax 蛋白表达升高, 而 PCNA、Bcl-2 蛋白表达降低($q/P=15.021/<0.001, 17.394/<0.001, 21.452/<0.001, 17.668/<0.001$); 与 Model 组、sh-NC 组比较, sh-RMRP 组 RhoA、Bax 蛋白表达降低, 而 PCNA、Bcl-2 蛋白表达升高($q/P=8.088/<0.001, 8.495/<0.001, 10.726/<0.001, 9.319/<0.001$,

表 3 miR-580-3p 对 LncRNA RMRP、RhoA 荧光素酶活性的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Effects of miR-580-3p on LncRNA RMRP and RhoA luciferase activities

组 别	<i>n</i>	WT-RMRP	MUT-RMRP	WT-RhoA	MUT-RhoA
mimic-NC 组	6	1.02±0.11	1.00±0.09	1.01±0.10	0.99±0.10
miR-580-3p mimic 组	6	0.50±0.06	1.02±0.12	0.47±0.05	0.97±0.12
<i>t</i> 值		10.166	0.327	11.831	0.314
<i>P</i> 值		<0.001	0.751	<0.001	0.760

表 5 各组 HK-2 细胞中 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平比较 ($\bar{x}\pm s, \text{ng/L}$)

Tab.5 Comparison of the levels of IL-1β, IL-6, and TNF-α in each group of HK-2 cells

组 别	<i>n</i>	IL-1β	IL-6	TNF-α
Control 组	6	44.75±4.38	60.42±5.06	81.42±6.15
Model 组	6	147.21±11.73 ^a	135.98±12.60 ^a	195.87±15.29 ^a
sh-NC 组	6	146.33±10.86	133.54±11.87	197.31±16.02
sh-RMRP 组	6	95.69±7.57 ^{bc}	89.61±6.96 ^{bc}	140.25±10.12 ^{bc}
sh-RMRP+anti-NC 组	6	97.45±8.09	90.23±8.02	138.99±9.89
sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组	6	122.87±9.22 ^{de}	111.77±7.18 ^{de}	169.66±11.34 ^{de}
<i>F</i> 值		111.691	62.512	80.280
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与 Control 组比较, ^a*P*<0.01; 与 Model 组比较, ^b*P*<0.01; 与 sh-NC 组比较, ^c*P*<0.01; 与 sh-RMRP 组比较, ^d*P*<0.01; 与 sh-RMRP+anti-NC 组比较, ^e*P*<0.01。

7.832/<0.001、8.697/<0.001、10.465/<0.001、9.902/<0.001)；与 sh-RMRP 组、sh-RMRP + anti-NC 组比较，sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组 RhoA、Bax 蛋白表达升高，而 PCNA、Bcl-2 蛋白表达降低 ($q/P = 5.521/0.006$ 、 $4.854/0.020$ 、 $5.755/0.004$ 、 $5.048/0.014$ 、 $5.264/0.010$ 、 $5.259/0.010$ 、 $4.971/0.016$ 、 $5.436/0.007$)，见表 7、图 4。

3 讨论

脓毒症是一种由失控的炎症反应导致的威胁生命

的器官功能障碍，其引起的 AKI 是最常见的脓毒症并发症之一，导致患者住院时间延长和预后不良^[15-16]。脓毒症诱发的 AKI 最显著的病理变化是肾小管上皮细胞的凋亡和肾间质剧烈炎症反应，多项研究已使用 LPS 诱导建立模型，以研究脓毒症 AKI 的机制及其潜在的治疗靶点^[17-20]。研究显示，炎症反应风暴和细胞凋亡是脓毒症 AKI 发生发展的关键病理机制。LPS 是革兰阴性菌细胞壁的主要成分，可通过激活机体免疫系统引发级联反应。当机体受到 LPS 刺激后，肾组织

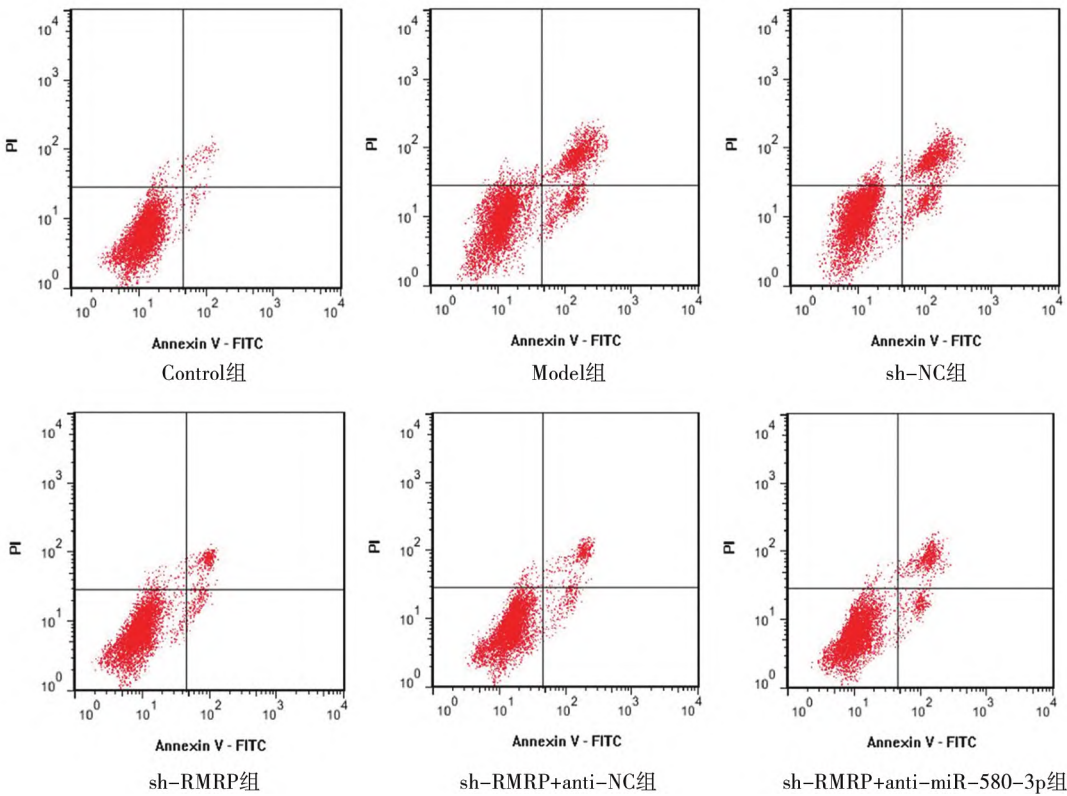
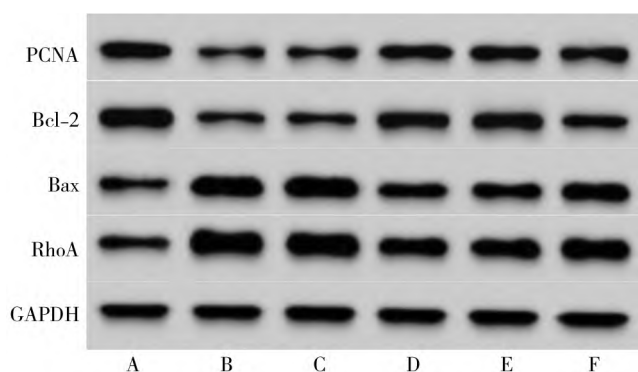


图 3 流式细胞仪检测各组 HK-2 细胞凋亡情况
Fig.3 Apoptosis of HK-2 cells was detected by flow cytometry

表 7 各组 HK-2 细胞中 PCNA、Bcl-2、Bax、RhoA 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)
Tab.7 Comparison of protein expressions of PCNA, Bcl-2, Bax and RhoA in each group of HK-2 cells

组 别	<i>n</i>	PCNA	Bcl-2	Bax	RhoA
Control 组	6	1.41±0.14	1.75±0.18	0.66±0.07	1.04±0.13
Model 组	6	0.59±0.06 ^a	0.84±0.08 ^a	1.52±0.15 ^a	2.21±0.25 ^a
sh-NC 组	6	0.60±0.07	0.81±0.09	1.53±0.16	2.19±0.22
sh-RMRP 组	6	1.00±0.10 ^{bc}	1.32±0.13 ^{bc}	1.10±0.09 ^{bc}	1.58±0.16 ^{bc}
sh-RMRP+anti-NC 组	6	0.97±0.09 ^{bc}	1.34±0.14 ^{bc}	1.08±0.10 ^{bc}	1.60±0.17 ^{bc}
sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组	6	0.78±0.08 ^{de}	1.06±0.11 ^{de}	1.34±0.13 ^{de}	2.01±0.19 ^{de}
<i>F</i> 值		65.030	48.005	44.734	33.807
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与 Control 组比较，^a $P<0.01$ ；与 Model 组比较，^b $P<0.01$ ；与 sh-NC 组比较，^c $P<0.01$ ；与 sh-RMRP 组比较，^d $P<0.05$ ；与 sh-RMRP+anti-NC 组比较，^e $P<0.05$ 。



注: A. Control 组; B. Model 组; C. sh-NC 组; D. sh-RMRP 组; E. sh-RMRP+anti-NC 组; F. sh-RMRP+anti-miR-580-3p 组。

图 4 WB 检测各组 HK-2 细胞中 PCNA、Bcl-2、Bax、RhoA 蛋白表达

Fig.4 The expressions of PCNA, Bcl-2, Bax and RhoA proteins in HK-2 cells were detected by WB

中 TNF- α 、IL-6 等炎症因子的表达升高,这些炎症介质不仅能够激活肾固有细胞内的炎症反应信号通路,导致炎症反应的持续放大和组织损伤,还能通过调节 Bcl-2 家族蛋白等凋亡相关分子的表达,诱导肾小管上皮细胞发生凋亡。值得注意的是,LPS 可直接作用于肾小管上皮细胞,通过内源性或外源性凋亡途径加速细胞死亡,最终导致肾脏结构破坏和功能丧失。而靶向抑制炎症反应和细胞凋亡过程,能够有效阻断 LPS 诱导的 AKI 进程,为改善患者预后提供重要干预策略^[21-23]。因此,在 LPS 诱导的 AKI 模型中,探究如何有效减少炎症因子分泌并抑制细胞凋亡,对治疗 AKI 至关重要。

LncRNA 是一种不具有编码蛋白功能,同时长度大于 200 个碱基的 RNA,研究显示,LncRNA 可调节细胞多种生理代谢过程,参与多种疾病的发生发展,LncRNA RMRP 是第一个被发现由细胞核合成再定向转运至线粒体的 RNA 分子,可通过精细调控线粒体功能影响细胞的凋亡过程;同时与部分 miRNA 相互作用,参与调节免疫功能及相关炎症反应^[24]。Xia 等^[8]证实,LncRNA RMRP 激活前列腺素 E/janus 激酶 2/信号转导与转录激活因子 3 信号通路,靶向 ELAVL1 上调环氧化酶 2 蛋白,促进细胞凋亡、炎症因子分泌和氧化应激,加重 LPS 诱导的 AKI 小鼠 HK-2 细胞损伤。Zhang 等^[25]进一步证明,LncRNA RMRP 在 LPS 诱导的 HK-2 细胞中表达上调,敲低 LncRNA RMRP 可抑制 LPS 诱导的细胞凋亡,减少炎症因子的产生,减轻 AKI。本研究结果显示,经 LPS 处理 HK-2 细胞后,LncRNA RMRP 表达上调,炎症因子 IL-1 β 、IL-6、

TNF- α 水平升高,细胞凋亡增加,细胞增殖受到抑制,与 Zhang 等^[25]研究结果一致,说明 LPS 能够诱导 HK-2 细胞发生凋亡和炎症损伤,且 LncRNA RMRP 的表达增高可能是 LPS 诱导肾小管上皮细胞损伤的重要分子事件;而敲低 LncRNA RMRP 可以抑制由 LPS 诱导产生的上述不良影响,逆转 LPS 诱导的细胞损伤。An 等^[26]报道,在冠状动脉粥样硬化和人血管平滑肌细胞中,LncRNA RMRP 靶向负调控 miR-128-1-5P 上调 Gadd45g 表达,沉默 LncRNA RMRP 抑制了细胞中 IL-6 和 IL-8 的产生,并减弱凋亡相关蛋白的表达。本研究发现,敲低 LncRNA RMRP 可抑制 LPS 诱导的 HK-2 细胞凋亡及细胞炎症反应,进而抑制细胞损伤,减缓 AKI 疾病进展,与该结果类似。提示敲低 LncRNA RMRP 在不同疾病中可能具有相同的保护作用。然而,其能否通过调控 miRNA 发挥作用,需进一步探讨。

生物信息学分析结果显示,miR-580-3p 与 LncRNA RMRP 存在结合位点。miRNA 是一类长度约 22 个核苷酸的内源性非编码 RNA,在基因表达的转录后调控中起着关键作用^[27]。Liu 等^[12]研究表明,Circ-0068087 作为 miR-580-3p 海绵,靶向孕酮和脂联素受体 3。沉默 Circ-0068087 可以改善高糖诱导的 HK-2 细胞凋亡、炎症反应、氧化应激和上皮-间充质转化,但抑制 miR-580-3p 后减弱了沉默 Circ-0068087 的作用。本研究结果显示,LncRNA RMRP 与 miR-580-3p 具有靶向负调控关系,经 LPS 诱导的 HK-2 细胞中 miR-580-3p 表达减少,细胞凋亡及炎症因子增多,而敲低 LncRNA RMRP 可上调 miR-580-3p 表达,改善 LPS 诱导的细胞变化,且抑制 miR-580-3p 可减弱敲低 LncRNA RMRP 对 HK-2 细胞的影响。正如在肿瘤细胞中,LncRNA RMRP 可通过靶向 miR-580-3p 调控 ATP13A3,过表达 miR-580-3p 可减弱过表达 LncRNA RMRP 对癌症进程的促进作用^[10]。

研究表明,miRNA 通过与 mRNA 结合、抑制翻译、促进 mRNA 降解等方式控制疾病的生理和病理过程^[28]。本研究结果显示,RhoA 为 miR-580-3p 的靶向 mRNA,两者在 3'非翻译区域存在互补序列。RhoA 属于 Rho 家族,可参与维持正常的肾脏功能,并在肾小管上皮细胞、系膜细胞和足细胞等多种肾脏细胞中参与炎症反应等相关过程^[13,29-31]。本研究结果显示,经 LPS 诱导细胞损伤后,RhoA 的表达增加,提示 RhoA 可能作为 LPS 诱导肾小管上皮细胞损伤的关键效应分子参与 AKI 的发病过程。Chen 等^[32]证实,降低 RhoA 及其下游因子的表达,可以减轻肺损伤、肺水肿、肺泡灌洗液和肺组织的炎症反应。Chen 等^[11]证明,

NEAT1 可直接结合 miR-31 正向调控 RhoA 的表达, NEAT1 沉默抑制肾脏纤维化和炎症反应, 并抑制 RhoA/Rho 相关的卷曲螺旋激酶 1 信号通路; 而敲低 miR-31 可以逆转上述作用。本研究结果显示, miR-580-3p 可靶向负调控 RhoA; 且敲低 LncRNA RMRP 后, RhoA 表达降低、miR-580-3p 表达升高; 而抑制 miR-580-3p 后 RhoA 的表达上调, 部分逆转了上述反应。提示 LncRNA RMRP 可能通过靶向调节 miR-580-3p/RhoA 轴, 调控 LPS 诱导的 HK-2 细胞损伤^[33-34]。

4 结 论

综上所述, LPS 诱导 HK-2 细胞中 LncRNA RMRP、RhoA 表达上调, miR-580-3p 表达下调。敲低 LncRNA RMRP 可通过靶向调节 miR-580-3p/RhoA 轴, 抑制 LPS 诱导的 HK-2 细胞凋亡及细胞炎症反应, 进而抑制细胞损伤, 减缓疾病进展, 但其作用机制尚不清楚, 也未完全阐明, 期待未来构建动物模型, 进一步深入探讨 LncRNA RMRP 调控肾小管上皮细胞损伤的作用机制。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

韩玲芝: 设计实验方案, 实施实验过程, 论文撰写, 论文修改; 张雪: 可行性分析, 实施实验过程; 卢祥云: 实施实验过程、数据收集与整理; 刘堃: 进行统计学分析; 邵春芝: 提出研究思路, 分析实验数据, 论文审核

参考文献

- [1] Kounatidis D, Tzivaki I, Daskalopoulou S, et al. Sepsis-associated acute kidney injury: What's new regarding its diagnostics and therapeutics [J]. *Diagnostics (Basel)*, 2024, 14(24): 2845. DOI: 10.3390/diagnostics14242845.
- [2] Pais T, Jorge S, Lopes JA. Acute kidney injury in sepsis [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(11): 5924. DOI: 10.3390/ijms25115924.
- [3] Aguilar MG, AlHussen HA, Gandhi PD, et al. Sepsis-associated acute kidney injury: Pathophysiology and treatment modalities [J]. *Cureus*, 2024, 16(12): e75992. DOI: 10.7759/cureus.75992.
- [4] Kounatidis D, Vallianou NG, Psallida S, et al. Sepsis-associated acute kidney injury: Where are we now [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2024, 60(3): 434. DOI: 10.3390/medicina60030434.
- [5] Liu AB, Tan B, Yang P, et al. The role of inflammatory response and metabolic reprogramming in sepsis-associated acute kidney injury: Mechanistic insights and therapeutic potential [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1487576. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1487576.
- [6] Lin S, Ren Z, Li L, et al. LncRNA AP001007 protects human renal tubular epithelial HK-2 cells and kidney organoids from LPS-induced injury [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 28578. DOI: 10.1038/s41598-024-79367-2.
- [7] Li J, Dong Z, Tang L, et al. LncRNA OIP5-AS1/miR-486-5p/NLRP3 axis contributes to sepsis-induced kidney injury through enhancing NLRP3 inflammasome activation [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2025, 39(5): e70305. DOI: 10.1002/jbt.70305.
- [8] Xia H, Shanshan X, Sumeng L, et al. LncRNA RMRP aggravates LPS-induced HK-2 cell injury and AKI mice kidney injury by upregulating COX2 protein via targeting ELAVL1 [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 23(3): 109676. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.109676.
- [9] Yang N, Yan N, Bai Z, et al. FTO attenuates LPS-induced acute kidney injury by inhibiting autophagy via regulating SNHG14/miR-373-3p/ATG7 axis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 128: 111483. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.111483.
- [10] Tan Z, Luan S, Wang X, et al. Mechanism study of LncRNA RMRP regulating esophageal squamous cell carcinoma through miR-580-3p/ATP13A3 axis [J]. *Discov Oncol*, 2024, 15(1): 150. DOI: 10.1007/s12672-024-00990-6.
- [11] Chen Y, Huang C, Duan ZB, et al. LncRNA NEAT1 accelerates renal fibrosis progression via targeting miR-31 and modulating RhoA/ROCK signal pathway [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2023, 324(2): C292-C306. DOI: 10.1152/ajpcell.00382.2021.
- [12] Liu SY, Wang H, Yang B, et al. Circ_0068087 knockdown attenuates high-glucose-induced human tubular epithelial cell injury in a microribonucleic acid/progestin and adiponQ receptor 3-dependent manner in diabetic nephropathy [J]. *J Diabetes Investig*, 2024, 15(2): 159-171. DOI: 10.1111/jdi.14107.
- [13] Qiao J, Tan Y, Liu H, et al. Histone H3K18 and ezrin lactylation promote renal dysfunction in sepsis-associated acute kidney injury [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11(28): e2307216. DOI: 10.1002/advs.202307216.
- [14] 王亚静, 贾宝辉, 韩方方, 等. 人环状 RNA-0114428 对脂多糖诱导的人肾小管上皮 HK-2 细胞损伤的作用及其机制 [J]. *吉林大学学报: 医学版*, 2023, 49(1): 101-109. DOI: 10.13481/j.1671-587X.20230113.
- [15] Shaoqun T, Xi Y, Wei W, et al. Neutrophil extracellular traps-related genes contribute to sepsis-associated acute kidney injury [J]. *BMC Nephrol*, 2025, 26(1): 235. DOI: 10.1186/s12882-025-04126-y.
- [16] Wang T, Huang Y, Zhang X, et al. Advances in metabolic reprogramming of renal tubular epithelial cells in sepsis-associated acute kidney injury [J]. *Front Physiol*, 2024, 15: 1329644. DOI: 10.3389/fphys.2024.1329644.
- [17] Li B, Xia Y, Mei S, et al. Histone H3K27 methyltransferase EZH2 regulates apoptotic and inflammatory responses in sepsis-induced AKI [J]. *Theranostics*, 2023, 13(6): 1860-1875. DOI: 10.7150/thno.83353.
- [18] Lu J, Hou Y, Liu SX, et al. Acetyl-CoA synthetase 2 induces pyroptosis and inflammation of renal epithelial tubular cells in sepsis-induced acute kidney injury by upregulating the KLF5/NF- κ B pathway [J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 187. DOI: 10.1186/s12964-024-01556-3.
- [19] Deng Z, He M, Hu H, et al. Melatonin attenuates sepsis-induced acute kidney injury by promoting mitophagy through SIRT3-mediated TFAM deacetylation [J]. *Autophagy*, 2024, 20(1): 151-165. DOI: 10.1080/15548627.2023.2252265.
- [20] 莫逊, 余姗姗, 贾静, 等. 茯苓酸通过抑制炎症反应和肾小管上

- 皮细胞凋亡减轻脂多糖诱导的急性肾损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2025, 41(5): 995-1005. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2025.05.018.
- [21] Lv W, Liao J, Li C, et al. Aquaporin 1 is renoprotective in septic acute kidney injury by attenuating inflammation, apoptosis and fibrosis through inhibition of P53 expression [J]. Front Immunol, 2024, 15: 1443108. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1443108.
- [22] Gong S, Xiong H, Lei Y, et al. Usp9x contributes to the development of sepsis-induced acute kidney injury by promoting inflammation and apoptosis in renal tubular epithelial cells via activation of the TLR4/nf- κ b pathway [J]. Ren Fail, 2024, 46(2): 2361089. DOI: 10.1080/0886022X.2024.2361089.
- [23] Zhang B, Zeng M, Li B, et al. Arbutin attenuates LPS-induced acute kidney injury by inhibiting inflammation and apoptosis via the PI3K/Akt/Nrf2 pathway [J]. Phytomedicine, 2021, 28(1): 153466. DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153466.
- [24] Hussen BM, Azimi T, Hidayat HJ, et al. Long non-coding RNA RMRP in the pathogenesis of human disorders [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9(4): 676588. DOI: 10.3389/fcell.2021.676588.
- [25] Zhang X, Huang Z, Wang Y, et al. Long non-coding RNA RMRP contributes to sepsis-induced acute kidney injury [J]. Yonsei Med J, 2021, 62(3): 262-273. DOI: 10.3349/ymj.2021.62.3.262.
- [26] An JH, Chen ZY, Ma QL, et al. Liraglutide improves atherosclerosis by regulating long non-coding RNA RMRP/miR-128-1-5P/Gadd45g axis [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(5): 2725-2737. DOI: 10.26355/eurrev_202003_20545.
- [27] Liu Z, Fu Y, Yan M, et al. microRNAs in kidney diseases: Regulation, therapeutics, and biomarker potential [J]. Pharmacol Ther, 2024, 46(10): 108709. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2024.108709.
- [28] Guo J, Fu R, Zhao B, et al. LncRNA TMC3-AS1 silence alleviates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by suppressing Wnt5a-mediated autophagy and pyroptosis pathway [J]. Mol Cell Probes, 2025, 79: 102006. DOI: 10.1016/j.mcp.2024.102006.
- [29] Steichen C, Hervé C, Hauet T, et al. Rho GTPases in kidney physiology and diseases [J]. Small GTPases, 2022, 13(1): 141-161. DOI: 10.1080/21541248.2021.1932402.
- [30] Zhou L, Yang Y, Fu X, et al. The protective effect and molecular mechanism of glycyrrhizic acid glycosides against Tripterygium glycosides induced nephrotoxicity based on the RhoA/ROCK1 signalling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 1): 117100. DOI: 10.1016/j.jep.2023.117100.
- [31] 甘源, 范小光, 王丽姣, 等. 大黄素抑制 RhoA、ROCK 表达减轻脂多糖诱导的足细胞损伤[J]. 广州中医药大学学报, 2025, 42(4): 962-968. DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2025.04.024.
- [32] Chen B, Gong S, Li M, et al. Protective effect of oxyberberine against acute lung injury in mice via inhibiting RhoA/ROCK signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 40(8): 113307. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113307.
- [33] 闫娅婷, 谭睿敏, 付优, 等. 脓毒症相关急性肾损伤发病机制的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2024, 23(8): 1006-1010. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.08.022.
- [34] 黎金国, 何书典, 邢柏. 脓毒症患者血浆晚期糖基化终末产物和可溶性糖基化终末产物受体水平变化及其与并发急性肾损伤的相关性[J]. 中国医药, 2023, 18(3): 395-399. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2023.03.016.

(收稿日期: 2025-06-04)

作者 • 编者 • 读者

《疑难病杂志》对形态学图片的质量和制作要求

作者提供的形态学图片既应用于论文的出版,也应用于论文的评审和编辑,除图片要足够的大小外,图像要能真实反映形态的原貌和特征。图片要清晰,对比度好,色彩正常。基本要求如下:

1. 图片必须是原始图像或由原始图像加工成的照片,图像要能显示出形态特征,必要时需加提示或特指符号(如箭头等)。
2. 数码照片的图像分辨率调整为 300 dpi 或以上,总像素至少要在 150 万~200 万像素或以上,图像文件用 tif 格式。
3. 图像要有简明扼要、规范的形态描述,但不能简单到只写“电子显微镜形态改变”之类。
4. 大体标本图片上应有标尺,显微镜图片应注明染色方法和图像的真正放大倍数,数码照片的放大率最好用比例尺来标注。
5. 插入到文本文件中的图片,在调整其大小时要保持原图像的宽/高比例(即先按下计算机的 Shift 键,再进行缩放操作)。